

Diagnóstico molecular de *Hepatozoon canis* en perros: signos clínicos y resultados hematológicos

Molecular diagnosis of *Hepatozoon canis* in dogs: clinical signs and hematological results

Guendulain, Corina; Tamiozzo, Pablo; Caffaratti, Marina; Giménez, Fernanda

 **Corina Guendulain**

cguendulain@ayv.unrc.edu.ar

Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

 **Pablo Tamiozzo**

Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

 **Marina Caffaratti**

Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

 **Fernanda Giménez**

Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

Ab intus FAV-UNRC

Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

ISSN-e: 2618-2734

Periodicidad: Semestral

vol. 2, núm. 12, 2023

abintus@ayv.unrc.edu.ar

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/820/8204548001/>

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.8407431>

Financiamiento

Fuente: Secretaría de Ciencia y Técnica - UNRC

Autor de correspondencia: cguendulain@ayv.unrc.edu.ar

Resumen: La hepatozoonosis canina es una enfermedad parasitaria adquirida por la ingestión de garrapatas infectadas con protozoarios del género *Hepatozoon* (H); *H. canis* y *H. americanum* son las dos especies que pueden infectar al perro, siendo la primera, la única reportada en nuestro país hasta el momento. La signología clínica y los aspectos hematológicos en esta infección dependen de la especie implicada y de factores tales como el estado inmunitario del animal y de la carga parasitaria. El objetivo del estudio fue confirmar la presencia y determinar la especie de *Hepatozoon* mediante PCR en sangre de perros diagnosticados a través de la visualización microscópica de gamontes de *Hepatozoon* spp. y describir la presentación clínica y los resultados hematológicos. Se realizó la técnica de PCR a 64 muestras de sangre de perros atendidos en el Hospital Escuela de la FAV en las que se habían detectado gamontes de *Hepatozoon* spp. en neutrófilos y monocitos a la observación microscópica del frotis. El 96,9% de las muestras de sangre resultó positiva a la presencia de *Hepatozoon* y la especie encontrada en todos los casos fue *H. canis*. Los signos clínicos y los resultados hematológicos característicos fueron aumento de temperatura, mucosas pálidas, adenomegalia, secreción ocular, anemia normocítica normocrómica y valores de leucocitos dentro del rango de referencia. La importancia de este estudio radica en que no se ha comunicado en nuestra provincia la especie causante de la hepatozoonosis canina.

Palabras clave: perro, *Hepatozoon*, PCR, signos clínicos, laboratorio.

Abstract: Canine hepatozoonosis is a parasitic disease acquired by ingesting ticks infected with protozoa of the genus *Hepatozoon* (H); *H. canis* and *H. americanum* are the two species that can infect dogs, the first being the only one reported in our country so far. The clinical signs and hematological aspects of this infection depend on the species involved and factors such as the immunological status of the animal and the parasite load. The objective of the study was to confirm the presence and determine the species of *Hepatozoon* by PCR in the blood of dogs diagnosed through the microscopic visualization of gamontes of *Hepatozoon* spp. and describe the clinical presentation and hematological results. The PCR technique was performed on 64 blood samples from dogs treated at the FAV School Hospital in

which gamontes of *Hepatozoon* spp. in neutrophils and monocytes were found to the microscopic observation of the smear. A 96.9% of the blood samples were positive for the presence of *Hepatozoon* and the species found in all cases was *H. canis*. Clinical signs and characteristic hematological findings were increased temperature, pale mucous membranes, lymph node enlargement, ocular discharge, normochromic normocytic anemia and leukocyte values within the reference range. The importance of this study lies in the fact that the species causing canine hepatozoonosis has not been reported in our province.

Keywords: dog, *Hepatozoon*, PCR, clinical signs, laboratory.

INTRODUCCIÓN

H. canis y *H. americanum* son las dos especies del género *Hepatozoon* (H) que pueden ser transmitidas al perro a través de sus garrapatas vectoras, *Rhipicephalus sanguineus* y *Amblyomma maculatum* respectivamente. El perro se parasita al ingerir una garrapata con esporozoitos, los que atraviesan la pared del intestino y colonizan distintos órganos; el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos en el caso de infección con *H. canis*, y el músculo cardíaco y esquelético en el caso de infección con *H. americanum* (Vincent-Johnson *et al.*, 1997; Baneth *et al.*, 2007).

Muchas de las infecciones con *H. canis* son subclínicas, pero cuando hay signología, la presentación clínica es muy variable y depende, en general, del grado de parasitemia. Los signos, en la mayoría de los pacientes, son leves o moderados, aunque en algunas ocasiones pueden ser severos, especialmente en cachorros o en animales inmunosuprimidos o con enfermedades concurrentes. Los signos clínicos que se observan con mayor frecuencia son mucosas pálidas, caquexia, letargia y fiebre intermitente y, en algunos casos, puede haber hiperestesia muscular y debilidad de miembros posteriores (Baneth y Weigler, 1997; Mundim *et al.*, 2008; Guendulain *et al.*, 2020). Los exámenes hematológicos revelan una ligera anemia no regenerativa y leucocitosis neutrofílica con desvío a la izquierda, sin embargo, en infecciones con niveles bajos de parasitemias, el leucograma puede no presentar alteraciones (Baneth *et al.*, 2007; Scodellaro, 2015; Rossi *et al.*, 2018; Guendulain *et al.*, 2020). A diferencia de *H. canis* que produce signos clínicos leves o, que incluso puede ser diagnosticado de manera incidental en animales asintomáticos, *H. americanum* causa una enfermedad crónica, debilitante y severa, que con frecuencia lleva a la muerte (Vincent-Johnson *et al.*, 1997). Los signos clínicos característicos son aumento de temperatura, pérdida de peso, caquexia, depresión, atrofia y debilidad muscular, dolor generalizado, descarga ocular y renuencia al movimiento. Puede haber alteraciones en la marcha, desde rigidez, paresia y ataxia de miembros posteriores, hasta recumbencia (Vincent-Johnson *et al.*, 1997; Panciera *et al.*, 2000; Ewing y Panciera, 2003). A diferencia de la infección por *H. canis*, *H. americanum* produce una leucocitosis marcada (Vincent-Johnson *et al.*, 1997).

El diagnóstico de *H. canis* se realiza mediante la observación de los gamontes en los leucocitos (neutrófilos y monocitos) en frotis de sangre coloreados. En la hepatozoonosis americana la parasitemia en general no supera el 0,1% de los leucocitos circulantes, por lo que raramente se encuentran gamontes en

los extendidos de sangre, y el diagnóstico se realiza fundamentalmente por la identificación del parásito en el músculo esquelético mediante histopatología (Ewing y Panciera, 2003). Si bien la PCR es otra de las técnicas de utilidad para realizar el diagnóstico, esta se emplea casi exclusivamente en instituciones académicas cuando se pretende determinar la especie, ya que tiene un mayor costo de realización y porque, ante la sospecha de *H. canis*, es muy fácil obtener el diagnóstico a través de la observación de los gamontes en sangre (Inokuma *et al.*, 2002).

En el año 1999 se comunicó el primer caso de hepatozoonosis diagnosticado en Argentina (Silva *et al.*, 1999), y en el año 2007 se reportó la primera caracterización molecular mediante la amplificación y secuenciación de un fragmento de 650 pares de bases del gen *18S rRNA*, que mostró fragmentos 99% idénticos a *Hepatozoon canis* (Eiras *et al.*, 2007). Seguidamente se fueron comunicando hallazgos en diferentes zonas del país, en la mayoría de los casos a través de la observación de gamontes en frotis sanguíneos mediante microscopía óptica (Pérez Tort *et al.*, 2007; Esarte *et al.*, 2010; Aubert *et al.*, 2011; Linares, 2011; Adagio *et al.*, 2014.; Guendulain *et al.*, 2015; Aráoz *et al.*, 2016; Fader *et al.*, 2018; Rossi *et al.*, 2018). En el año 2002, en el laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, se realizó por primera vez el diagnóstico microscópico de *Hepatozoon* spp., pero el hallazgo no fue publicado.

En la provincia de Córdoba no se ha comunicado la determinación de las especies encontradas mediante técnicas moleculares, con la excepción de dos reportes realizados en los años 2018 y 2019 por los autores de este trabajo en reuniones científicas (Guendulain *et al.*, 2018; Debeljuh *et al.*, 2019). En un estudio realizado en el año 2017 donde se analizaron por PCR muestras de sangre de perros de diferentes regiones del país, incluida Córdoba, en búsqueda de *H. canis*, no se hallaron positivos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue confirmar la presencia y determinar la especie de *Hepatozoon* mediante PCR en sangre de perros diagnosticados a través de la visualización microscópica de gamontes de *Hepatozoon* spp. y describir los signos clínicos y resultados de laboratorio encontrados en esta región del país.

MATERIALES y MÉTODOS

Se realizó un estudio dirigido en el cual se incluyeron 64 caninos que asistieron al Hospital Escuela de la FAV por diferentes motivos y signología clínica, y que resultaron positivos en el frotis de sangre a la presencia de estructuras compatibles con *Hepatozoon* spp. A todos estos perros se les extrajo 5 ml de sangre de la vena cefálica antebraquial, que fue colectada en tubos con anticoagulante (EDTA), con la que se realizó hemograma y a una alícuota, se le extrajo el ADN utilizando un kit comercial (ADN puriprep S kit, Inbiohighway, Argentina) para su posterior análisis por PCR. Para la amplificación parcial del gen *ARN 18S* se usaron cebadores género específicos: sentido HEP-1= CGCGCAAATTACCCAATT; contrasentido HEP4= TAAGGTGCTGAAGGAGTCGTTTAT, para producir fragmentos de 666 pb (Inokuma *et al.*, 2002). Los productos de las PCR fueron purificados, cuantificados y secuenciados (INTA Castelar). Las secuencias obtenidas fueron

editadas mediante el software BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999), alineadas con el programa Clustal W (Larkin *et al.*, 2007) y comparadas con secuencias depositadas en GenBank.

Este trabajo fue realizado de acuerdo con las normas internacionales del Consejo Internacional de Organizaciones de las Ciencias Médicas (CIOMS).

RESULTADOS

El 96,9% (62/64) de las muestras resultaron positivas en la PCR específica de género y el alineamiento de las secuencias obtenidas mostró una similitud del 99 al 100% con secuencias pertenecientes a *H. canis*.

La mayoría de los perros (55,6%) que resultaron positivos a la presencia de gamontes de *Hepatozoon* spp. presentaban signos clínicos, pero en otros (44,4%) el diagnóstico se hizo en forma accidental. Los signos clínicos fueron muy variados, destacándose el aumento de temperatura, mucosas pálidas, adenomegalia y secreción ocular. Otros signos encontrados menos frecuentemente fueron diarrea, debilidad de miembros posteriores, debilidad generalizada, postración, rigidez muscular, dolor abdominal y dolor articular digital (Figura 1).

En cuanto a los resultados hematológicos, el 70,3% (45/64) de los perros tuvo anemia, siendo más frecuente la anemia normocítica normocrómica. En el 36% (23/64) de los casos hubo leucocitosis, en el 59,3% (38/64) el valor de leucocitos se encontró dentro del rango de referencia y en el 4,7% (3/64) hubo leucopenia. El 23,4% (15/64) de los perros tuvo eosinofilia, 23,4% (15/64) eosinopenia y en 51,6% (33/64) los eosinófilos tuvieron recuento normal. Del total de perros parasitados el 48,4% (31/64) tenían garrapatas.

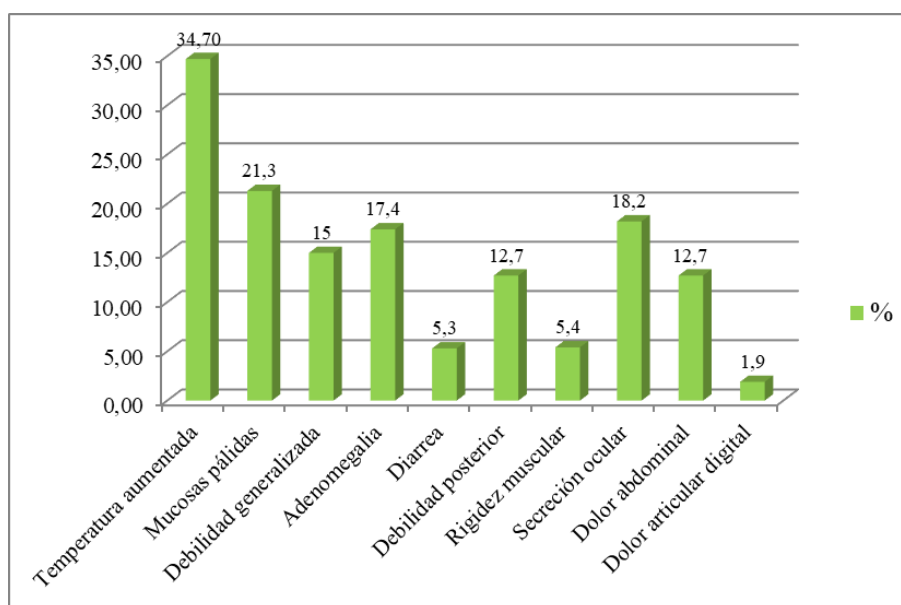


Figura 1

Signos clínicos presentes en los perros infectados con *Hepatozoon* spp.

DISCUSIÓN

Debido a que la garrapata que actúa como vector de *H. americanum* no ha sido encontrada hasta el momento en nuestro país, y que en los diferentes lugares del mismo donde se ha realizado el diagnóstico molecular, la especie encontrada ha sido *H. canis*, era de esperar que *H. americanum* no fuera la que habitara en nuestra región. Sin embargo, en muchos de los casos reportados en este trabajo se han observado signos clínicos semejantes a los producidos por *H. americanum*, como la hiperestesia muscular, paraparesia y paraplejía que, si bien han sido descritos en casos de infección por *H. canis*, son más frecuentes en infecciones por *H. americanum* (Murata *et al.*, 1991; Gondim *et al.*, 1998; Gavazza *et al.*, 2003; Mundim *et al.*, 2008). Los signos clínicos que se presentaron con mayor frecuencia, como el aumento de temperatura, mucosas pálidas, adenomegalia y secreción ocular, fueron coincidentes con la bibliografía (Gavazza *et al.*, 2003; Paludo *et al.*, 2003). Otros signos encontrados menos frecuentemente como la diarrea, ataxia, debilidad de miembros posteriores, postración, rigidez muscular, dolor abdominal y dolor articular digital también fueron comunicados por distintos autores (Mundim *et al.*, 2008; Bitton *et al.*, 2012; Iveli *et al.*, 2015). No se encontraron en este estudio otros signos reportados en la bibliografía tales como rinitis, vómitos, poliuria, polidipsia, ictericia ni alteraciones respiratorias y pulmonares (Gondim *et al.*, 1998; Mundim *et al.*, 2008).

En la infección con *H. canis*, la bibliografía reporta un cuadro clínico más leve que el producido por la infección con *H. americanum*. En esta última, al ser afectados el músculo esquelético y cardíaco por los quistes merogónicos, y al producirse lesiones proliferativas periósticas, suele haber dolor generalizado, atrofia muscular, debilidad, postración, recumbencia con imposibilidad de caminar y fiebre (Potter y Macintire, 2010). En el caso de *H. canis*, a pesar de que afecta al tejido hemolinfático y no al muscular, en Brasil se reportaron unos pocos casos con afección muscular, en los cuales en el estudio histopatológico de las biopsias se encontraron alteraciones similares a las provocadas por *H. americanum*, pero no se observaron estructuras quísticas producidas típicamente por esta especie. En India, Japón, Italia e Israel se comunicaron casos aislados de infección con *H. canis* con reacción perióstica y dolor óseo, similar a lo que ocurre con *H. americanum* (Murata *et al.*, 1991; Priya *et al.*, 2004; Marchetti *et al.*, 2009). En Argentina se reportó un caso con claudicación y dolor a la palpación de un miembro como signos clínicos principales, con una lesión osteolítica que comprometía la zona cortical en proximal del húmero y zonas de reacción perióstica en el radio (Esarte *et al.*, 2010); y otro con poliartritis con el hallazgo de merontes en la cápsula articular (Iveli *et al.*, 2015). Probablemente, como lo sugiere Paludo *et al.* (2003), una misma especie o distintas cepas de una misma especie puedan producir diferentes presentaciones clínicas.

En cuanto a la hematología, la anemia normocítica normocrómica fue la presentación más frecuente en coincidencia con la bibliografía (Gavazza *et al.*, 2003; Mundim *et al.*, 2008; Scodellaro, 2015), a diferencia de un estudio previo presentado por los autores de este trabajo, en el cual la anemia macrocítica normocrómica fue la predominante (Guendulain *et al.*, 2020). Martin *et al.*, (2022) sin embargo, tuvieron este hallazgo solo en el 20% de los caninos muestreados. En la mayoría de los casos los leucocitos totales se

mantuvieron dentro de los valores de referencia, tal como ocurre en los casos de baja parasitemia según la bibliografía (Gondim *et al.*, 1998; O'Dwyer *et al.*, 2006; Mundim *et al.*, 2008; Scodellaro, 2015), Palomeque (2019), en cambio, encontraron leucocitosis en más de la mitad de los casos. Hubo diferencia de lo reportado por Martin *et al.* (2022), quienes encontraron eosinofilia en un 80% de los casos, mientras que en este trabajo solo en un 23%.

El 48,4% de los perros tenían garrapatas, por lo que, la hepatozoonosis debe ser considerada en el diagnóstico diferencial, aún en ausencia de estos ectoparásitos. En el 44,4% de los casos la parasitosis fue un hallazgo fortuito, y el diagnóstico se hizo en forma accidental en el control prequirúrgico o durante el seguimiento de algún tratamiento, lo cual coincide con lo comunicado por otros autores, quienes afirman que la infección puede ser asintomática y el parásito encontrarse en animales sanos o que padecen otra enfermedad (Baneth y Weigler, 1997; Baneth *et al.*, 2007).

El resultado de la PCR y la secuenciación genética confirmaron la presencia exclusiva en los perros de este trabajo de *H. canis*. En Argentina, Eiras *et al.* (2007) comunicaron que sus hallazgos fueron similares en un 99% a las secuencias de *H. canis* disponibles en el GenBank, mientras que Aráoz *et al.* (2016) refieren que las secuencias obtenidas permitieron determinar su hallazgo como *H. canis*, pero no mencionan el porcentaje de identidad. Por otra parte, la secuencia del fragmento de ARNr 18S de *H. canis* encontrada por Cicuttin y De Salvo (2017) fue idéntica a secuencias de distintas regiones del mundo, y similar a otras de países sudamericanos como Venezuela y Brasil.

CONCLUSIÓN

En este trabajo el resultado de la PCR y la secuenciación genética confirmaron la presencia exclusiva de *H. canis* en los perros estudiados. Los signos clínicos más frecuentemente encontrados fueron aumento de temperatura, mucosas pálidas, adenomegalia y secreción ocular, y en cuanto a los resultados hematológicos, la anemia normocítica normocrómica fue la presentación más frecuente y en la mayoría de los casos los leucocitos totales se mantuvieron dentro de los valores de referencia.

Agradecimientos

Este estudio recibió financiamiento de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNRC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adagio L, Miguel M, Meder A, Rio F, Giménez M, Hierro J, Vaquero P, Lattanzi D, Mengelle P, Petteta L, Mariani E, Pallezza J, Bertoldi G, Wheeler J. (2014). Hepatozoonosis canina. Primeros 4 casos documentados en la Ciudad de General Pico - Provincia de La Pampa - Argentina. *Revista Ciencias Veterinarias*, 16(2):1-22. ISSN 1515-1883.

- Aráoz V, Baneth G, Cáceres JP, Giannitti F. (2016). Infección por *Hepatozoon canis* en una perra con tumor venéreo transmisible en Bahía Blanca, Argentina. *Revista Veterinaria Argentina*, 23(341) 34: 350.
- Aubert S, Crosa P, Serrano D, Rossanigo C. (2011). Canine hepatozoonosis: a case in San Luis (Argentina). Proceedings 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Pág. 221.
- Baneth G, Samish M, Shkap V. (2007). Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). *Journal of Parasitology*, (93):283-299.
- Baneth G. y Weigler B. (1997). Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, (11):365-370.
- Bitton E, Bibring U, Bruchim Y, Baneth G. (2012). Hepatozoonosis in a dog with skeletal and joint involvement: a case report and review of the literature. *Israel Journal Veterinary Medicine*, 67(2):120-6.
- Cicuttin GL y De Salvo MN. (2017). Detección molecular y análisis filogenético de *Hepatozoon canis* (Eucoccidiorida: Haemogregarinidae) en perros clínicamente sanos de Bahía Blanca (Buenos Aires). *Revista FAVE - Sección Ciencias Veterinarias*, 16:46-49; doi: <https://doi.org/10.14409/favecv.v16i1.665>.
- Debeljuh T, Guendulain C, Caffaratti M, Bernardes G, Babini S, Tamiozzo P. (2019). Detección molecular de *Hepatozoon canis* en la provincia de Córdoba. VII Jornada de las Ciencias Agropecuarias. FAV-UNRC.
- Eiras DF, Basabe J, Scodellaro CF, Banach DB, Matos ML, Krimer A, Baneth G. (2007). First molecular characterization of canine hepatozoonosis in Argentina: evaluation of asymptomatic *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires. *Veterinary Parasitology*, (149):275-279.
- Esarte MS, Negro VB, Oribe G, González A, Pérez M. (2010). Lesión osteolítica asociada a *Hepatozoon canis* en un perro. *Memorias X Congreso Nacional de AVEACA - Congreso del Bicentenario*.
- Ewing SA y Panciera RJ. (2003). American canine hepatozoonosis. *Clinical Microbiology Review*, 16 (4):688-697.
- Fader OW, Anselmi A, Lamberti M, Menicheti G, Lalomia G. (2018). Relevamiento de hepatozoonosis canina en la región centro de la provincia de Córdoba. Repositorio Biblioteca Central "Vicerrector Ricardo A. Podestá", UNVM.
- Gavazza A, Bizzeti M, Papini R. (2003). Observations on dogs found naturally infected with *Hepatozoon canis* in Italy. *Revue de Medecine Veterinaire*, 154(8-9):565-571.
- Gondim LFP, Kohayagawa A, Alencar NX, Biondo AW, Takahira RK, Franco SRV. (1998). Canine hepatozoonosis in Brazil: description of eight naturally occurring cases. *Veterinary Parasitology*, 74:319-323.
- Guendulain C, González G, Babini S, Caffaratti M, González P, Benzoni A, Soler E, Bessone A, Motta C, Richardet M. (2015). Estudio retrospectivo de casos de hepatozoonosis canina en la ciudad de Río Cuarto. XV Congreso Nacional de AVEACA.
- Guendulain C, Tamiozzo P, González G, Caffaratti M, González P, Bessone A. (2018). Determinación de especies de *Hepatozoon* en perros mediante PCR. XVIII Congreso Nacional de AVEACA.
- Guendulain C, Caffaratti M, González G, Babini S, Bessone A, González P. (2020). Signos clínicos y resultados hematológicos en un estudio retrospectivo de casos de hepatozoonosis canina. *Revista Ab Intus*, 5(2):41-50. ISSN 2618-2734.

- Hall TA. (1999). BioEdit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95-98.
- Inokuma H, Okuda M, Ohno K, Shimoda K, Onishi T. (2002). Analysis of the 18S rRNA gene sequence of a *Hepatozoon* detected in two Japanese dogs. *Veterinary Parasitology*, (106):265-271.
- Iveli S, Casas L, Machuca M, Eiras D, Del Amo A. (2015). Descripción de caso. Poliartritis asociada a hepatozoonosis canina: descripción de un caso. *Revista Analecta Veterinaria*, 3(2):25-29. Impresa ISSN 0365514-8, electrónica ISSN 1514-2590.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, Mcgettigan PA, Mcwilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. (2007). Clustal W and Clustal X Version 2.0. *Bioinformatics*, 23:2947-2948.
- Linares MC. (2011). Hepatozoonosis Canina en la Provincia de Mendoza, Argentina. Hallazgos clínicos y de laboratorio. Tesis. Universidad Juan Agustín Maza, Fac. Cs. Veterinarias y Ambientales.
- Marchetti V, Lubas G, Baneth G, Modenato M, Mancianti F. (2009). Hepatozoonosis in a dog with skeletal involvement and meningoencephalomyelitis. Case report. *Veterinary Clinic Pathology*, 38(1):121-125.
- Martin PL, Pintos ME, Aquino S, Vidal DA, Arauz MS. (2022). Hepatozoonosis en caninos domésticos del Gran Buenos Aires. *Revista Veterinaria*, 33 (2):246-252. DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/vet.3326191>.
- Mundim AV, De Morais IA, Tavares M, Cury MC, Santos Mundim MJ. (2008). Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and with other hematozoa: A retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 153:3-8
- Murata T, Shiramizu K, Hara Y, Inoue M, Shimoda K, Nakama S. (1991). First case of *Hepatozoon canis* infection of a dog in Japan. *Journal of Veterinary Science*, 53(6):1097-1099.
- O'Dwyer LH, Saito ME, Hasegawa MY, Kohayagawa A. (2006). Prevalence, hematology and serum biochemistry in stray dogs naturally infected by *Hepatozoon canis* in São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(4):688-690.
- Palomeque SM. (2019). Hepatozoonosis canina: hallazgos hematológicos y bioquímicos en perros de la ciudad de Córdoba, Argentina. Trabajo final Especialización en diagnóstico veterinario de laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Pp 33.
- Paludo GR, Dell'porto A, De Castro E Trindade AR, Mcmanus C, Friedman H. (2003). *Hepatozoon* spp.: report of some cases in dogs in Brasília, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 118(3-4):243-248.
- Pancieri RJ, Mathew JS, Ewing SA, Cummings CA, Drost WT, Kocan AA. (2000). Skeletal lesions of canine hepatozoonosis caused by *Hepatozoon americanum*. *Veterinary Pathology*, (37):225-230.
- Pérez Tort G, Petetta L, Favre M, Mas J, Robles A. (2007). Primera descripción de un brote de hepatozoonosis en un refugio de perros y su tratamiento mediante una formulación de toltrazuril especialmente preparada para caninos. *Veterinaria Argentina*, 24:388-398.
- Potter TM y Macintire DK. (2010). *Hepatozoon americanum*: An emerging disease in the south-central/southeastern United States. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(1):70-76. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2009.00508.x.

- Priya P, Mathew B, Vijayakumar K, Saseendranath MR. (2004). A case report of canine hepatozoonosis. *Indian Veterinary Journal*, 81:200-201.
- Rossi S, Casanovas G, Casanovas F, Fiorimanti M, Maffrand C. (2018). Variaciones hematológicas y bioquímicas en perros con hepatozoonosis. XXII Reunión Científico Técnica de la AAVLD, 2018. Resumen PC2, p. 166, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Scodellaro CF. (2015). Estudio retrospectivo de caracterización de la hepatozoonosis canina en Buenos Aires. Trabajo final Especialización en Diagnóstico de Laboratorio Veterinario. Repositorio institucional Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 18 pág.
- Silva MC, Rodriguez MS, Rosa A, Pereira ME, Marquez AG. (1999). *Hepatozoon canis*: primer caso en Buenos Aires, Argentina, 1999. *Revista Medicina Veterinaria*, 6: 489-492.
- Vincent-Johnson NA, Macintire DK, Lindsay DS, Lenz SD, Baneth G, Shkap V, Blagburn BL. (1997). A new *Hepatozoon* species from dogs: description of the causative agent of canine hepatozoonosis in North America. *Journal of Parasitology*, (83):1165-1172.

Notas de autor

cguendulain@ayv.unrc.edu.ar