

Rickettsias y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos de clínicas veterinarias de cuatro estados de Venezuela - Canine rickettsias and parasites hemotropic in patients of veterinary clinics in four provinces of Venezuela

Quijada Jessica: Universidad Central de Venezuela (UCV), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Cátedra de Parasitología. Maracay 2101, Estado Aragua, Venezuela. E-mail: jessiquijadaucv@gmail.com. Nick: [jessiquijada](#) | **García Maria:** UCV, FCV, Cátedra de Parasitología | **Sánchez Gilberto:** Agrobiotek C.A. | **Bethencourt Angélica:** UCV, FCV, Cátedra de Parasitología | **Medina Omaira:** UCV, FCV, Cátedra de Parasitología | **Isis Vivas:** UCV, FCV, Cátedra de Bioestadística | **Pérez Arlett:** UCV, FCV, Cátedra de Parasitología | **García Herakles:** UCV, FCV, Cátedra de Parasitología

Dirección: Prolongación Av. 19 de Abril, *campus* de la UCV, Maracay 2101. Apartado Postal 4563. E-mail: jessiquijadaucv@gmail.com Cel: +58-414-4518831, fax: +58-243-2466325

Resumen

Con el objetivo de determinar la frecuencia de infecciones por microorganismos hemotrópicos caninos, se evaluaron pacientes de ocho centros de atención veterinaria, de cuatro estados de Venezuela. Se analizaron 92 muestras de sangre y suero, de caninos (ambos sexos; raza pura y mestizos; signos compatibles con hemotrópicos). Las muestras se procesaron mediante: técnica de Woo, frotis de capa blanca y kit antigénico comercial (Snap® 3Dx). La prevalencia general de hemotrópicos fue 39,13%; la mayor se observó para el rickettsial *Ehrlichia canis* (34,78%) seguido de *Anaplasma platys* (11,96%) y el protozooario *Hepatozoon canis* (2,17%). La frecuencia de infección por estado: Aragua (*E. canis* 38,89%; *A. platys* 11,11%), Carabobo (*E. canis* 10%, *A. platys* 20%), Distrito Capital (*E. canis* 57,14%), Miranda (*E. canis* 28,57%; *A. platys* 14,29%; *H. canis* 9,52%). No se encontraron diferencias entre la prevalencia y la edad, sexo o raza de los animales ($p > 0,05$). Los Snap®3Dx mostraron una especificidad y sensibilidad de 100%, ($p < 0,05$) con respecto a los frotis para el diagnóstico de *E. canis*, único antígeno que comparte con el kit. No se observaron infecciones con *Dirofilaria immitis*, aún cuando la zona

geográfica es endémica. La atención veterinaria frecuente y el uso rutinario de endectocidas, así como la baja carga del verme pueden explicar ese resultado. Los altos valores de prevalencia de hemotrópicos, aún en caninos bajo atención veterinaria, enfatiza la importancia en el control adecuado de sus vectores, tanto por el impacto en la salud de los caninos, como por el carácter zoonótico de estas infecciones.

Palabras clave: *Anaplasma platys* | *Ehrlichia canis* | *Hepatozoon canis* | Frotis de capa blanca | Snap® 3Dx

Abstract

In order to determine canine rickettsias and parasites hemotropic frequencies of infection in dog, was carried out a study in eight veterinary clinics located in four provinces of Venezuela. Were analyzed 92 blood and sera samples in dogs (both sexes, pure breed and mixed-breed, assisting to veterinary clinics with hemoparasites infection clinical signs). Samples were processed using: Woo technique, white cells buffy coat smears, and antigenic ELISA kit (Snap™3Dx). Hemoparasites infection prevalence was 39.13%. Most frequent hemotropic was rickettsial *Ehrlichia canis* (34.78%), followed by *Anaplasma platys* (11.96%) and protozoan *Hepatozoon canis* (2.17%). Frequencies of infection values by provinces were ($p < 0.05$): Aragua (*E. canis* 38.89%; *A. platys* 11.11%), Carabobo (*E. canis* 10%, *A. platys* 20%), Distrito Capital (*E. canis* 57.14%), Miranda (*E. canis* 28.57%; *A. platys* 14.29%; *H. canis* 9.52%). Differences were not observed between canine sex, age nor breed ($p > 0.05$). Snap™ 3Dx kits shown specificity and sensibility values of 100% ($p < 0.05$) comparing with frotis for *E. canis* diagnose, unique antigen sharing with ELISA kit. Infection by *Dirofilaria immitis*, was not observed regardless the studied provinces are endemic. Veterinary attention and endectocide use like anthelmintic and microfilaricide, and low parasitic burden could explain this result. The high values of hemoparasites frequency observed, emphasizing the relevance of these infections and its vectors control, also both the impact on canines healthiness and zoonotic aspects of these infections.

Key words: *Anaplasma platys* | *Ehrlichia canis* | *Hepatozoon canis* | Buffy coat smear | Snap™ 3Dx

Introducción:

Los hemoparásitos (protozoarios, nematodos) y bacterias rickettsiales transmitidos por garrapatas y mosquitos (Diptera: Culicidae) a los perros domésticos, además de ser patógenos para esta especie de hospedador, tienen importancia en salud pública (Unver *et al.*, 2001; Theis, 2005; Spolidorio *et al.*, 2010).

Por lo menos cinco especies de bacterias patógenas de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* (*Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *Anaplasma platys* y *A. phagocytophilum*) han sido reportadas en perros domésticos (Inokuma, Ohno y Yamamoto, 1999; Ndip *et al.*, 2005; Abarca *et al.*, 2007; Labruna *et al.*, 2007; Ganguly y Mukhopadhyay, 2008; Hidalgo *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2010). La ehrlichiosis monocítica canina es causada tanto por *E. canis*, como por *E. chaffeensis* (Hidalgo *et al.*, 2009); *E. canis* está distribuido mundialmente y se considera el patógeno más común en perros domésticos (Solano-Gallego *et al.*, 2006; Vinasco *et al.*, 2007; Yabsley *et al.*, 2008). Aunque no se considera a esta enfermedad como zoonosis en algunos países, la infección humana con *E. canis* o especies intimamente relacionadas con ella si han sido reportadas en Venezuela (Arraga-Alvarado *et al.*, 1996; Pérez *et al.*, 1996, 2006; Arraga-Alvarado *et al.*, 1999; Unver *et al.*, 2001). El principal vector de *E. canis* es la "garrapata parda del perro", la especie *Rhipicephalus sanguineus* (Lewis *et al.*, 1997; Unver *et al.*, 2001).

La ehrlichiosis granulocítica canina, es causada tanto por *E. ewingii* como por *A. phagocytophilum*, la cual ha sido reportada mundialmente en varios hospedadores vertebrados (caninos, humanos, venados, roedores, felinos, etc.) y es transmitida por especies de garrapatas del género *Ixodes*; sin embargo, *R. sanguineus* ha sido también señalada como posible vector (Ndip *et al.*, 2005; Yabsley *et al.*, 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2006).

Anaplasma platys, otro hemotrópico canino presente en numerosos países, infecta las plaquetas y causa la trombocitopenia cíclica canina, y aunque se considera a *R. sanguineus* como su vector, experimentalmente no se ha confirmado (Simpson *et al.*, 1991; Abarca *et al.*, 2007; Gal *et al.*, 2008; Yabsley *et al.*, 2008).

La babesiosis, otra importante hemoparasitosis de los caninos, es causada por protozoarios del género *Babesia*, principalmente por *B. gibsoni* y *B. canis* la cual esta subdividida en tres subgéneros: *B. c. canis*, *B. c. vogeli* y *B. c. rossi* (Criado-Fornelio *et al.*, 2003; Passos *et*

al., 2005; Otranto *et al.*, 2010). Estas subespecies se diferencian molecularmente y difieren en su biología y virulencia en los perros, así: *B. c. rossi* es transmitida por *Haemaphysalis* spp.; *B. c. canis* es transmitida por especies de *Dermacentor* y *B. c. vogeli* es transmitida por *R. sanguineus*, y se considera que ésta última produce los cuadros clínicos menos severos (Friche *et al.*, 2005; Kelly y Lucas, 2009).

Se han descrito dos especies de *Hepatozoon* que afectan al canino: *H. americanum*, que se considera la especie más patógena y endémica de Norteamérica; es transmitida por *Amblyomma maculatum*. La otra especie es *H. canis*, considerada menos patógena, transmitida por *R. sanguineus* y de distribución mundial (Ewing y Panciera, 2003; Little *et al.*, 2009). Sin embargo, Forlano *et al.* (2005), al inocular caninos negativos a *H. canis* con teleoginas provenientes de caninos positivos a este protozoario, solo lograron observar infecciones cuando se utilizaron teleoginas de *Amblyomma ovale*; no observaron infección al utilizar *R. sanguineus*, *A. aureolatum* ni *A. cajennense*. Esta información resulta de interés en virtud de que dicha especie de garrapata ya ha sido descrita para Venezuela (Forlano *et al.*, 2008), y pudiera estar actuando como transmisor de *H. canis* en zonas periurbanas del país.

La dirofilariosis canina, es una enfermedad parasitaria distribuida mundialmente en zonas tropicales, subtropicales y templadas; es transmitida por las hembras de mosquitos (Diptera: *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*). Es una patología producida por especies de helmintos nematodos: *Dirofilaria immitis*, *Dipetalonema reconditum*; mientras que *Dipetalonema grassi* y *Dirofilaria repens* se consideran apatógenas (Urquhart *et al.*, 1996; Cringoli *et al.*, 2001), en latinoamérica se ha descrito como agente causal a *D. immitis* (Rosa *et al.*, 2002; Reifur *et al.*, 2004; Duran-Struuck *et al.*, 2005; Bolio-González *et al.*, 2007). Los adultos de estos parásitos habitan en las arterias pulmonares y ventrículo derecho del corazón; pudiendo encontrarse erráticamente en otros órganos (Traldi, 1998). Los parásitos adultos liberan a la circulación sanguínea las microfilarias. Tanto adultos como microfilarias circulantes provocan cuadros clínicos caracterizados por: hipertrofia cardíaca, engrosamiento de las arterias lobares y pulmonares y enfermedad perivascular y parenquimatosa pulmonar; afectando también otros órganos vitales como: bazo, hígado y riñones (Reifur *et al.*, 2003; Vale-Echeto *et al.*, 2005; Bolio-González *et al.*, 2007; Niwetpathomwat *et al.*, 2007).

Debido a la gravedad de las infecciones que provocan estos agentes etiológicos, así como la presencia de sus vectores artrópodos (tanto garrapatas como mosquitos) en Venezuela, donde las condiciones

climáticas favorecen los ciclos biológicos de éstos a lo largo de todo el año, el objetivo de la presente investigación fue conocer la frecuencia de las infecciones por hemotrópicos en caninos que asisten a clínicas veterinarias, con cuadros clínicos compatibles con una infección por hemoparásitos y/o rickettsias.

Materiales y Métodos:

Área de estudio:

Las ocho clínicas que participaron en el estudio, se ubican en los estados centro norte costeros de Venezuela: Distrito Capital, Miranda, Aragua y Carabobo (Figura 1). Los cuatro estados, presentan condiciones propicias para el desarrollo tanto de *R. sanguineus* como de *Amblyomma* spp así como de Dípteros Culicidae implicados en la transmisión de rickettsias, hematozoarios y *Dirofilaria* spp. respectivamente, ello sumado a la presencia de casos a lo largo de todo el año en las historias clínicas de los establecimientos que participaron en el estudio, sugieren que la zona geográfica es endémica para los organismos hemotrópicos a evaluar (Manzanilla *et al.*, 2002; García *et al.*, 2007; Quijada *et al.*, 2007; Forlano *et al.*, 2008).



Figura 1: Mapa geopolítico de Venezuela, se señalan los cuatro estados (Carabobo, Aragua, Distrito Capital y Miranda) objeto de estudio

Muestreo:

Durante los meses de agosto y septiembre de 2007 (meses del período lluvioso en Venezuela), se muestrearon un total de 92 caninos (de raza pura o mestiza; mayores de un año de edad; de ambos sexos) que

mostraron algún signo clínico compatible con alguna infección por hemotrópicos (membranas mucosas pálidas, debilidad, emaciación, anorexia, presencia de garrapatas). La muestra se obtuvo de sangre periférica, a través de la vena cefálica. Se colectaron muestras de sangre y para suero. La venopunción se realizó con el sistema Vacutainer®.

Las muestras fueron refrigeradas y transportadas al Laboratorio de Investigación de la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, ubicada en la ciudad de Maracay, Estado Aragua. El procesamiento de las muestras se realizó máximo 24 horas después de obtenida.

Procesamiento de las muestras:

A cada muestra, se le realizó:

- 1.- Técnica de Woo, la cual además de suministrar el valor de hematocrito, permite la visualización de microfilarias (Camus, 1983)
- 2.- Frotis de capa blanca
- 3.- Test comercial ELISA de Antígeno (Snap®3Dx), para el diagnóstico de *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* y *Dirofilaria immitis*.

Análisis de los datos:

Los datos no mostraron una distribución normal, así que se analizaron con pruebas no paramétricas. Los valores de prevalencia por especie de patógeno, y su correlación con la edad, sexo y raza de los caninos, se analizaron con la Prueba χ^2 y Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis con un nivel de $\alpha = 0,05$.

Resultados y Discusión:

La prevalencia general de hemotrópicos fue 39,13%; en la Figura 2, se muestran los valores de prevalencia por agente. La mayor prevalencia se observó para el rickettsial *Ehrlichia canis* (34,78%) seguido de *Anaplasma platys* (11,96%) y el protozoario *Hepatozoon canis* (2,17%).

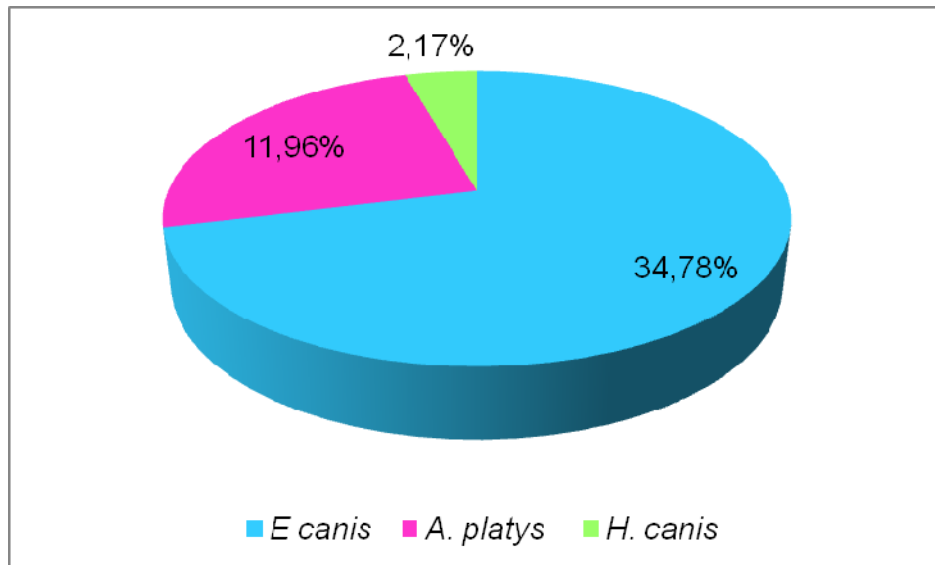


Figura 2: Valores de prevalencia general de hematozoarios en los caninos evaluados

Los valores de prevalencia por estado, se muestran en la Figura 3:

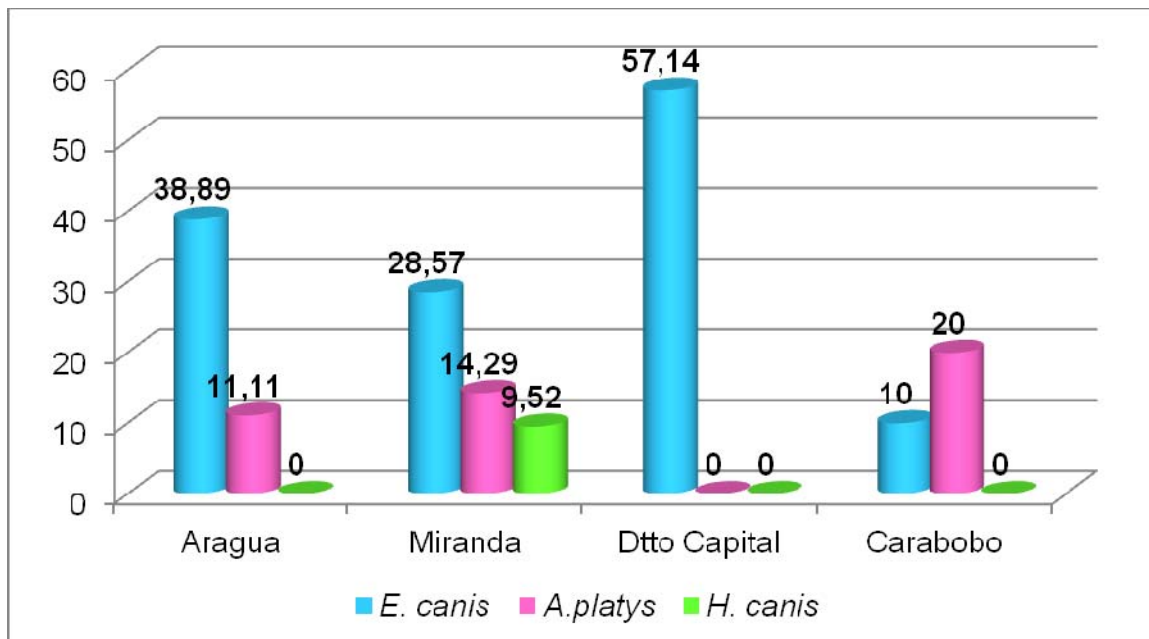


Figura 3: Valores de prevalencia de hemotrópicos en los caninos evaluados, en cada uno de los estados considerados

Se encontraron diferencias entre estado con relación a los valores de prevalencia de *E. canis* ($p < 0,05$); fue el único agente observado en los cuatro estados evaluados. *A. platys* se observó en los estados Aragua,

Carabobo y Miranda, mostrando diferencias con respecto a su prevalencia del Distrito Capital, en donde no se observó este rickettsial ($p < 0,05$). *H. canis*, solo fue observado en caninos del estado Miranda, mostrando diferencias con respecto a los otros 3 estados ($p < 0,05$). La mayoría de las infecciones estaban conformadas por un solo agente etiológico. Sólo se observaron 4 caninos con infecciones mixtas; 2 en Aragua (*A. platys* + *E. canis* en ambos casos), y 2 en Miranda (1 *A. platys* + *E. canis* + *H. canis* y 1 *H. canis* + *E. canis*). Otros autores señalan prevalencias mixtas hasta de 20% (Cardoso *et al.*, 2010), pero incluyendo principalmente a protozoarios del género *Babesia*, que no fueron observados en el presente estudio (Otranto *et al.*, 2010). Mylonakis *et al.* (2005), reportaron que 65,2% de los caninos positivos a *E. canis*, lo eran también para *H. canis*; y Gal *et al.* (2008) señalan el hallazgo común de la coinfección de *E. canis* con *A. platys*.

El rickettsial *E. canis*, resultó ser el más prevalente en esta evaluación, la amplia distribución de su vector *R. sanguineus* en Venezuela, explica su alta prevalencia (García *et al.*, 2007; Ramírez-Barrios *et al.*, 2008), ya que fue posible observarlo en los cuatro estados. La mayoría de los diagnósticos se hicieron gracias al Snap®3Dx, confirmando lo señalado por Vinasco *et al.* (2007) y Kelly y Lucas (2009), que hallaron un 100% de sensibilidad para este kit comercial, que detecta antígenos específicos, cuando lo compararon con PCR en tiempo real, para el diagnóstico de *E. canis*. La prevalencia observada de 34,78% para *E. canis* resulta mayor a la señalada por Solano-Gallego *et al.* (2006) de 16,7%; Trapp *et al.* (2006) 23%; Saito *et al.* (2008) 4,8%; Menn, Lorentz y Naucke (2010) 10,1%; Rhaman *et al.* (2010) 5%; en esas investigaciones, se usaron técnicas serológicas, inmunofluorescencia indirecta principalmente.

La alta prevalencia de *E. canis* observada en este trabajo, enfatiza la importancia de promover la educación sanitaria a nivel de las clínicas veterinarias con respecto a este hematópico en particular, debido al interés zoonótico que reviste (Arraga-Alvarado *et al.*, 1996, 1999; Unver *et al.*, 2001; Spolidorio *et al.*, 2010) y la correlación que existe entre la tenencia de caninos como mascotas, el contacto con ellos y la presencia de garrapatas en los hogares (Dantas-Torres, 2010), con la aparición de cuadros febriles asociados a ehrlichiosis en personas, tal como demostraron Unver *et al.* (2001).

El segundo hematópico más prevalente, fue *A. platys*, el cual no se observó en el Distrito Capital. La prevalencia global para este rickettsial fue de 11,96%, siendo más prevalente en el estado Carabobo (20%). La prevalencia de *A. platys*, siempre es inferior a *E. canis* y otros

hematrópicos, lo que puede estar relacionado con su verdadero vector, el cual aún no se ha precisado (Abarca *et al.*, 2007). Asimismo, los estudios enfocados en este rickettsial son menos abundantes en virtud de los cuadros clínicos menos severos que provoca en los caninos, si bien en las coinfecciones con *E. canis*, las alteraciones hematológicas son más severas que cuando se presenta *E. canis* exclusivamente (Gaunt *et al.*, 2010); se han desarrollado pruebas moleculares específicas para este agente (Martin *et al.*, 2005), cuyo uso pudiera revelar mayores valores de prevalencia en las poblaciones caninas; por ejemplo, con PCR Yabsley *et al.* (2008) observaron una prevalencia de 19,2% para *A. platys*.

A. platys también ha sido involucrado en infecciones humanas (Arraga-Alvarado *et al.*, 1996, 1999).

La prevalencia de *H. canis* observada en la presente evaluación de 2,17% corresponde al único estado (Miranda) en el cual se observó, en donde conformó el 9,52% de los hemotrópicos reportados. Los valores de prevalencia obtenidos por otros autores, también es baja, así Inokuma *et al.* (1999), señalan un valor de 4,2%; Mylonakis *et al.* (2005) 2,9%; Cardoso *et al.* (2010) 2%; esto pudiera atribuirse al uso de técnicas directas (frotis de capa blanca, como en el caso del presente estudio), sin embargo, O'Dwyer *et al.* (2001) observaron una prevalencia con esta técnica de 39,2% para *H. canis*; asimismo Otranto *et al.* (2011), encontraron con esta técnica una prevalencia de 43,9% para este protozooario, pero al aplicar técnicas moleculares (PCR) esa prevalencia aumentó a 51,2%; estos autores concluyen que si bien en el PCR de la capa de blancos es la mejor técnica para detectar a *H. canis*, el frotis de capa blanca resulta la mejor prueba cuando las técnicas moleculares no están disponibles, de tal manera que su sensibilidad es alta. En todo caso en Brasil, Paludo *et al.* (2003) aunque encontraron con frotis de capa blanca una prevalencia para *H. canis* de 73,33% en caninos con signos de emaciación, anemia y anorexia; advierten que se estima que la presencia de gametocitos en frotis es de alrededor del 1%, por lo que la hepatozoonosis canina, puede ser de hecho una hemoparasitosis desatendida en nuestro medio.

Cabe señalar, que las clínicas evaluadas en el estado Miranda, sirven a una población satélite de la ciudad de Caracas; corresponde a zonas periurbanas, en donde abundan las áreas verdes y montañosas; en ese caso, tal vez garrapatas distintas a *R. sanguineus*, pudieran estar jugando un papel importante en la transmisión de este protozooario en esas zonas, tal como señalan O'Dwyer *et al.* (2001), donde encontraron una alta correlación entre la prevalencia de *H. canis* y el ixodido

Amblyomma cajennense ($p < 0,05$). Ya en Venezuela, se han descrito especies de *Amblyomma* parasitando a caninos (Manzanilla *et al.*, 2002; Forlano *et al.*, 2008), y Forlano *et al.* (2005), demostraron el papel de *A. ovale* en la transmisión de este *H. canis* en caninos de Brasil; esta especie de garrapata, está presente en Venezuela (Forlano *et al.*, 2008). No se encontraron diferencias de la prevalencia de acuerdo a la edad, sexo o raza de los animales ($p > 0,05$). Diversos autores, reportan hallazgos distintos con respecto a estas variables y la presencia de parásitos sanguíneos: Otranto *et al.* (2011), encontraron mayores prevalencias de *H. canis* en caninos menores a 18 meses de edad; Solano-Gallego *et al.* (2006) indican diferencias para el sexo del hospedador con relación a la prevalencia de *E. canis*, así como Rahman *et al.* (2010), quienes además observaron diferencias para las variables edad y raza. Mundim *et al.* (2008), también encontraron mayor prevalencia de *H. canis* y *Ehrlichia* spp. en caninos menores de 1 año de edad. Martins *et al.* (2007), señalan a la edad y raza como factores de riesgo para la ehrlichiosis canina. Asimismo, algunas razas se han definido como especialmente sensibles para los hemotrópicos, algunas de ellas son: Beagle, Golden Retriever, Pointer, Akita, entre otras (Inokuma *et al.*, 1999; Sakuma *et al.*, 2009; Otranto *et al.*, 2011).

Los Snap®3Dx mostraron una especificidad y sensibilidad de 100%, ($p < 0,05$) con respecto a los frotis para el diagnóstico de *E. canis*, único antígeno que comparte con el kit, Kelly y Lucas (2009), compararon la especificidad de este kit para el diagnóstico de hemotrópicos, con respecto al PCR y confirmaron un 100% de sensibilidad y especificidad para el Snap®3Dx. Solano-Gallegos *et al.* (2006). Vinasco *et al.* (2007) y Lim *et al.* (2010) también indican la alta sensibilidad y especificidad de esta prueba.

En el presente estudio, no se observaron infecciones con *D. immitis*, aún cuando la zona geográfica es endémica, Quijada *et al.* (2007), reportaron para una de las clínicas evaluadas en este estudio, haber observado 32 casos de Dirofilariosis canina en un lapso de 2 años. Cabe señalar que se usó además de la técnica de Woo (para observar microfilarias en plasma), la prueba antigénica de Snap®3Dx, de la cual se indica que es altamente efectiva y precisa en el diagnóstico de hemotrópicos (Kelly y Lucas, 2009) sin embargo, Vezzani *et al.* (2008), al evaluar estos kits en el diagnóstico de *D. immitis*, observaron que más de 20% de los perros microfilarémicos, fueron negativos en las pruebas antigénicas; lo cual atribuyeron a una baja carga parasitaria en la zona estudiada. Por otro lado, el uso de endectocidas y/o acaricidas (con adicional efecto insecticida) en el control de las garrapatas, puede tener un impacto positivo en el control de las infecciones por *D. immitis*

(Genchi *et al.*, 2002; Otranto *et al.*, 2008; Venco *et al.*, 2008) al bajar la microfilaremia por un lado y las poblaciones de vectores por otro.

Agradecimiento:

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV), a través del PI-11-00-5919-2005.

Asimismo, los autores agradecemos a Agrobiotek C.A., quien suministró los kits comerciales (Snap®3Dx, Idexx Laboratories) aplicados en el procesamiento de las muestras.

Referencias Bibliográficas:

- Abarca, K.; López, J.; Perret, C.; Guerrero, J.; Godoy, P.; Veloz, A.; Valiente-Echeverría, F.; León, U.; Gutjahr, C and T. Azócar. *Anaplasma platys* in Dogs, Chile. *Emerg. Infect. Dis.* 2007. 13(9):1392-5
- Arraga-Alvarado, C.; Montero-Ojeda, M.; Bernardoni, A.; Anderson, B.; Parra, O. Human ehrlichiosis: report of the 1st case in Venezuela. *Invest. clin.* 1996. 37: 35-49
- Arraga-Alvarado, C.; Palmar, M.; Parra, O.; Salas, P. Fine structural characterisation of a *Rickettsia*-like organism in human platelets from patients with symptoms of ehrlichiosis. *J. Med. Microbiol.* 1999. 48: 991-7
- Bolio-González, M.E.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Sauri-Arceo, C.H.; Gutiérrez-Blanco, E.; Ortega-Pacheco, A.; Colin-Flores, R.F. Prevalence of the *Dirofilaria immitis* in dogs from Merida, Yucatán, México. *Vet. parasitol.* 2007. 148:166-169
- Camus, E. Diagnostic de la tripanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hematocrito. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 1983. 2 (3): 751-769.
- Cardoso, L.; Yisaschar-Mekuzas, Y.; Rodrigues, F.; Costa, A.; Machado, J.; Diz-Lopes, D. and Gad Baneth. Canine babesiosis in northern Portugal and molecular characterization of vector-borne co-infections. *Parasites Vectors.* 2010, 3:27
- Criado-Fornelio, A.; Martínez-Marcos, A.; Buling-Sarana, A.; Barba-Carretero, J.C. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria*, and *Hepatozoon* in southern Europe. Part I. Epizootiological aspects. *Vet. parasitol.* 2003. 113:189-201.
- Cringoli, G.; Rinaldi, L.; Veneziano, V; Capelli, G. A prevalence survey and risk analysis of filariosis in dogs from the Mt. Vesuvius area of southern Italy. *Vet. parasitol.* 2001. 102: 243-252

- Dantas-Torres, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasites Vectors. 2010. 3:26
- Duran-Struuck, R.; Jost, C.; Hernandez, A. *Dirofilaria immitis* prevalence in a canine population in the Samana Peninsula (Dominican Republic) – June 2001. Vet. parasitol. 2005. 133: 323–327
- Ewing, S.A.; Panciera, R.J. American canine hepatozoonosis. Clin. Microbiol. Rev. 2003. 16: 688-697
- Forlano, M.; Scofield, A.; Elisei, C.; Fernandes, K.R.; Ewing, S.A.; Massard, C.L. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. Vet. parasitol. 2005. 134(1): 1-7
- Forlano, M.; Mujica, F.; Coronado, A.; Meléndez, R.; Linardi, P.; Botelho, J.; Bellosta, P.; Barrios, N. Especies de *Amblyomma* (acari: ixodidae) parasitando perros (*Canis familiaris*) en Áreas Rurales de los Estados Lara, Yaracuy, Carabobo y Falcón, Venezuela. Rev. Cien FCV LUZ. 2008. 18(6): 662 - 666
- Friche, L.; Geigerb, S.; Ribeiroc, M.; Pfisterb, K.; Zahler-Rinde, M. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. Vet. parasitol. 2005. 127: 81–85
- Gal, A.; Loeb, E.; Yisaschar-Mekuzas, Y.; Baneth, G. Detection of *Ehrlichia canis* by PCR in different tissues obtained during necropsy from dogs surveyed for naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. Veterinary J. 2008. 175: 212–217
- Gangulya, S. & S.K. Mukhopadhyay. Tick-borne ehrlichiosis infection in human beings. J. Vector Borne Dis. 2008. 45; 273–280
- García, M.; Moissant, E.; Pérez, A.; Quijada, J.; Simoes, D.; García, H. Comportamiento Natural de las Fases No Parasíticas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) en un Bioterio Canino de Venezuela. Rev. Cient. FCV LUZ. 2007. 17(6): 566 - 571
- Gaunt, S.D.; Beall, M.J.; Stillman, B.; Lorentzen, L.; Diniz, P.; Chandrashekar, S. and E. Breitschwerdt. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. Parasites Vectors. 2010. 3:33.
- Genchi, C.; Rossi, L.; Cardini, G.; Kramer, L.; Venco, L.; Casiraghi, M.; Genchi, M.; Agostini, A. Full season efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Vet. Parasitol. 2002. 110: 85–91
- Hidalgo, M.; Vesga, J.; Lizarazo, D. and G. Valbuena. A Survey of Antibodies against *Rickettsia rickettsii* and *Ehrlichia chafeensis* in Domestic Animals from a Rural Area of Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2009. 80(6): 1029-1030

- Inokuma, H.; Ohno, K. and S. Yamamoto. Serosurvey of *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* Infection in Dogs in Yamaguchi Prefecture, Japan. J. Vet. Med. Sci. 1999. 61(10): 1153–1155
- Kelly, P.; Lucas, H. Failure to demonstrate *Babesia*, *Anaplasma* or *Ehrlichia* in thrombocytopenic dogs from St Kitts. J. Infect. Dev. Ctries. 2009. 3(7): 561-3
- Labruna, M.; McBride, J; Camargo, L.; Aguiar, D; Yabsley, M.; Davidson, W.; Stromdahl, E.; Williamson, P.; Stich, R.; Long, W.; Camargo, E.; Walker, D. A preliminary investigation of *Ehrlichia* species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil. Vet. Parasitol. 2007. 143, 189–195
- Lewis, G.E.; Ristic, M.; Smith, R.D.; Lincoln, T.; Stephenson, E.H. The Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* and the dog as experimental hosts of *Ehrlichia canis*. Am. J. Vet. Res. 1997. 38:1953-1955
- Lim, S.; Peter, I; Lee, S.; Oh, M.; Ahn, K.; Myung, B. and S. Shin. Comparison of selected canine vector-borne diseases between urban animal shelter and rural hunting dogs in Korea. Parasites Vectors. 2010. 3:32
- Little, S.; Allen, K.; Johnson, E.; Panciera, R.; Reichard, M. and S. Ewing. New developments in canine hepatozoonosis in North America: a review. Parasites Vectors. 2009. 2(Suppl 1):S5
- Manzanilla, J.; García, M.; Moissant, E.; García, F.; Tortolero, E. Dos especies de garrapatas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) en perros del estado Aragua, Venezuela. Entomotropica. 2002. 17(2): 177-180
- Martin, A.; Brown, G.; Dunstan, H.; Roberts, T. *Anaplasma platys*: an improved PCR for its detection in dogs. Exp. Parasitol. 2005. 109: 176–180
- Martins, L.; Rembeck, K.; Barbosa, M.; Beelitz, P.; Pfister, K.; Friche, L. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. Vet. J. 2007. 174: 673–676
- Menn, B.; Lorentz, S.; Naucke, T. Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. Parasites Vectors. 2010. 3:34
- Mylonakis, M.; Leontides, L.; Gonen, L.; Billinis, C.; Koutinas, A.; Baneth, G. Anti-Hepatozoon canis serum antibodies and gamonts in naturally-occurring canine monocytic ehrlichiosis. Vet. Parasitol. 2005. 129: 229–233
- Mundim, A.; Morais, L.; Tavares, M.; Cury, M.; Mundim, M. Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and with other hematozoa: A retrospective study in Uberlandia, Minas Gerais, Brazil. Vet. Parasitol. 2008. 153: 3–8

- Ndip, L.; Ndip, R.; Esemu, S.; Dickmu, V; Fokam, E.; Walker, D.; McBride, J. Ehrlichial infection in Cameroonian canines by *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia ewingii*. Vet. Microbiol. 2005. 111:59–66
- Ndip, L.; Ndip, R.; Esemu, S.; Walker, D.; McBride, J. Predominance of *Ehrlichia chaffeensis* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from kennel-confined dogs in Limbe, Cameroon. Exp. Appl. Acarol. 2010. 50:163–168
- Niwetpathomwat, A.; Kaewthamasorn, M.; Tiawsirisup, S.; Techangamsuwan, S.; Suvarnvibhaja, S. A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariasis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand. Res. Vet. Sci. 2007. 82: 364–369
- O'Dwyer, L.; Massard, C.; De Souza, J. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. Vet. Parasitol. 2001. 94: 143–150
- Otranto, D.; Paradies, P.; Testini, G.; Latrofa, M.; Weigl, S.; Cantacessi, C.; Mencke, N.; Decaprariis, D.; Parisi, A.; Capelli, G.; Stanneck, D. Application of 10% imidacloprid/50% permethrin to prevent *Ehrlichia canis* exposure in dogs under natural conditions. Vet. Parasitol. 2008. 153: 320–328
- Otranto, D.; Testini, G.; Dantas-Torres, F.; Latrofa, M.; Diniz, P.; Decaprariis, D.; Lia, R.; Mencke, N.; Stanneck, D.; Capelli, G.; Breitschwerdt, E. Diagnosis of Canine Vector-Borne Diseases in Young Dogs: a Longitudinal Study. J. Clin. Microbiol. 2010. 48(9): 3316–3324
- Otranto, D.; Dantas-Torres, F.; Weigl, S.; Latrofa, M.; Stanneck, D.; Decaprariis, D.; Capelli, G.; Baneth, G. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. Parasites Vectors. 2011. 4:55
- Paludo, G.; Dell'Porto, A.; Castro, R.; McManusa, T.; Friedman, H. *Hepatozoon* spp.: report of some cases in dogs in Brasília, Brazil. Vet. Parasitol. 2003. 118: 243–248
- Passos, L.M.; Geiger, S.M.; Ribeiro, M.F.; Pfister, K.; Zahler-Rinder, M. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brasil. Vet. Parasitol. 2005. 127:81–85
- Pérez, M.; Rikihisa, Y.; Wen, B. *Ehrlichia canis*-like agent isolated from a man in Venezuela antigenic and genetic characterization. J. Clin. Microbiol. 1996. 34:2133–2139
- Pérez, M.; Bodor, M.; Zhang, C.; Xiong, Q.; Rikihisa, Y. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006. 1078: 110–117.
- Quijada, J.; Ramos, E.; Rebolledo, M.; Sánchez, J.; Bethencourt, A.; Pérez, A.; Lecuna, J.; Enrríquez, R. Prevalencia de Dirofilariosis Canina en pacientes del Hospital Dr. Daniel Cabello de la FCV-UCV. Datos Preliminares. En: Memorias de la LVII Convención Anual de la

- Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (AsoVAC). 2007. p 215.
- Rahman, W.; Ning, C. & P. Chandrawathani. Prevalence of canine ehrlichiosis in Perak State, peninsular Malaysia. *Tropical Biomedicine*. 2010. 27(1): 13-18
- Ramírez-Barrios, R.; Chacín, E.; Barboza, G.; Fernández, G.; Valera, Z.; Villalobos, A.; Angulo-Cubillán, F. Garrapatas (Acari: Ixodidae) Recolectadas de Caninos bajo Asistencia Veterinaria en Maracaibo, Venezuela. *Rev. Cient. FCV LUZ (Venezuela)*. 2008. 18(3): 267 - 270
- Reifur, L.; Thomaz-Soccol, V.; Montiani-Ferreira, F. 2004. Epidemiological aspects of filariasis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: with emphasis on *Dirofilaria immitis*. *Vet. Parasitol.* 2004. 122: 273-286
- Rosa, A.; Ribicich, M.; Betti, A.; Kistermann, J.; Cardillo, N.; Basso, N.; Hallu, R. 2002. Prevalence of canine dirofilariosis in the City of Buenos Aires and its outskirts (Argentina). *Vet. Parasitol.* 2002. 109: 261-264
- Saito, T.; Cunha-Filho, N.; Pacheco, R.; Ferreira, F.; Pappen, F.; Farias, N.; Larsson, C.; Labruna, M. Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in Southern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2008. 79(1): 102-108
- Sakuma, M.; Nakahara, Y.; Suzuki, H.; Uchimura, M.; Sekiya, Z.; Setoguchi, A.; Endo, Y. A Case Report: a Dog with Acute Onset of *Hepatozoon canis* Infection. *J. Vet. Med. Sci.* 2009. 71(6): 835-838
- Simpson, R.M.; Gaunt, S.D.; Hair, J.A.; Kocan, K.M.; Henk, W.G.; Casey, H.W. Evaluation of Rhipicephalus sanguineus as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *Am. J. Vet. Res.* 1991. 52:1537-1541
- Solano-Gallegos, L.; Llullb, J.; Ossoc, M.; Hegartya, B.; Breitschwerdt, E. A Serological Study Of Exposure To Arthropod-Borne pathogens in dogs from northeastern Spain. *Vet. Res.* 37. 2006. 231-244
- Spolidorio, M.; Labruna, M.; Machado, R.; Moraes-Filho, J.; Zago, A.; Donatele, D.; Pinheiro, S.; Silveira, C.; Caliari, K.; Yoshinari, N. Survey for Tick-Borne Zoonoses in the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010. 83(1): 201-206
- Theis, J. Public health aspects of dirofilariosis in the United States. *Vet. Parasitol.* 2005. 133: 157-180
- Traldi, G. Etiología e ciclo biológico del parassita. In: Scivac, A.A. (Ed.), La Filariosi Cardiopulmonare del Cane e del Gatto. 1998. 1 pp.
- Trapp, S.; Dagnone, A.; Vidotto, O.; Freire, R.; Amude, A.; Autran, H. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Vet. Parasitol.* 2006. 140: 223-230
- Unver, A.; Perez, M.; Orellana, N.; Huang, H.; Rikihisa, Y. Molecular and Antigenic Comparison of *Ehrlichia canis* Isolates from Dogs, Ticks, and a Human in Venezuela. *J. Clin. Microbiol.* 2001. 39(8): 2788-2793

- Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J.; Dunn, A.; Jennings, F. Veterinary Parasitology. 1996. 2nd Ed. Blackwell Science. Reino Unido. 307 pp.
- Vale-Echeto, O.; Simoes, D.; Vale, O.; Vale, M. Dirofilariosis en caninos: Estudio anatomopatológico de 15 casos. Rev. Cien. FCV LUZ. 2005. 15(5):406-411
- Venco, L.; Mortarino, M.; Carro, C.; Genchi, M.; Pampurini, F.; Genchi, C. Field efficacy and safety of a combination of moxidectin and imidacloprid for the prevention of feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. Vet. Parasitol. 2008. 154: 67-70
- Vezzani, D.; Fontanarrosa, M.; Eiras, D. Are antigen test kits efficient for detecting heartworm-infected dogs at the southern distribution limit of the parasite in South America? Preliminary results. Res. Vet. Sci. 2008. 85(1): 113-115
- Vinasco, J.; Li, O.; Alvarado, A.; Diaz, D.; Hoyos, L.; Tabachi, L.; Sirigireddy, K.; Ferguson, C.; Moro, M. Molecular Evidence of a New Strain of *Ehrlichia canis* from South America. J. Clin. Microbiol. 2007. 45(8): 2716-2719
- Yabsley, M.; Davidson, W.R.; Stallknecht, D.E.; Varela, A.S.; Swift, P.K.; De Vos, J.C.; Dubay, S.A. Evidence of tick-borne organisms in mule deer (*Odocoileus menionus*) from western United States. Vector Borne Zoonotic Dis. 2005. 5: 351-362.
- Yabsley, M.; McKibben, J.; Macpherson, C.; Cattán, P.; Cherry, N.; Hegarty, B.; Breitschwerdt, E.; O'Connor, T.; Chandrashekar, R.; Paterson, T.; Lanza P., M.; Ball, G.; Friesen, S.; Goedde, J.; Henderson, B.; Sylvester, W. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. Vet. Parasitol. 2008. 151(2-4): 279-285

REDVET: 2012, Vol. 13 N° 8

Recibido 22.12.2011 / Ref. prov. DIC1123B_RED VET / Aceptado 15.06.2012
Ref. def. 081201_RED VET / Publicado: 01.08.2012

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080812.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080812/081201.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>