

**DIAGNÓSTICO DE *HEPATOZOON* SPP. EN PERROS (*Canis familiaris*)  
Y SUS VECTORES EN ÁREAS RURALES DE LOS ESTADOS LARA  
Y YARACUY-VENEZUELA**

***Diagnosis of Hepatozoon spp. in dogs (Canis familiaris) and its Vectors  
from Rural areas of Lara and Yaracuy States, Venezuela***

María D. Forlano<sup>\*,1</sup> y Roy D. Meléndez<sup>\*</sup>

*\* Área de Parasitología Veterinaria, Unidad de Investigación en Parasitología Veterinaria,  
Decanato de Ciencias Veterinarias (DCV). Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado (UCLA).  
Cabudare. Venezuela*

**Correo-E: dalilaforlano@gmail.com**

Recibido: 06/05/13 - Aprobado: 27/11/13

**RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue diagnosticar *Hepatozoon* spp. en perros de áreas rurales en algunos municipios de los estados Lara y Yaracuy, así como su relación con los potenciales artrópodos vectores involucrados en su transmisión. *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis* y en menor frecuencia *Hepatozoon canis* son los agentes parasitarios más importantes en caninos teniendo todos ellos como vector a *Rhipicephalus sanguineus*. Estos hemotrópicos infectan frecuentemente a los animales sin causarles sintomatología clínica y en otros casos les causan enfermedad de gravedad variable. La asociación de estos agentes es muy común, lo que favorece la gravedad de los síntomas clínicos. Además de *R. sanguineus*, otros géneros de garrapatas pueden ser encontradas parasitando perros, como *Amblyomma* e *Ixodes*. Durante el estudio se realizaron frotis sanguíneos de sangre periférica de la oreja de 300 perros y se colectaron 604 garrapatas por medio de extracción manual. Estos ixódidos fueron identificados taxonómicamente en el Laboratorio de Parasitología con la ayuda de claves dicotómicas y luego fueron sometidas a disección en busca de fases

**ABSTRACT**

The purpose of this research was to diagnose *Hepatozoon* spp. in dogs from rural areas in some municipalities of the States of *Lara* and *Yaracuy*, Venezuela, and its relationship with potential arthropods vectors involved in its transmission. *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis*, and less frequently, *Hepatozoon canis*, are the most important hemoparasites of dogs, all having as a common vector *Rhipicephalus sanguineus*. These hemoparasites frequently infest both domestic and rural animals without overt clinical symptoms; in other cases, they cause diseases of varied severity. Coinfections by hemoparasites are very common, which favors the severity of clinical symptoms. Besides *R. sanguineus*, other tick genera like *Amblyomma* and *Ixodes*, can be found infesting dogs. To carry out this study, thin blood smears from peripheral ear veins of 300 dogs were performed; and 604 ticks were collected by manual extraction. These ixodids were taxonomically identified at the Parasitology Laboratory, with the help of dichotomous taxonomic keys. Then, they were subjected to dissections looking for evolutionary stages of *Hepatozoon* spp. Results obtained were

<sup>1</sup> A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

evolutivas de *Hepatozoon* spp. Los resultados fueron analizados a través de estadísticas no paramétricas indicando la presencia o ausencia de *Hepatozoon* spp. y la identificación de los vectores involucrados. Se observó *Hepatozoon* spp. en las muestras de sangre periférica de 11 de los perros estudiados, correspondiendo a tres perros del estado Lara y ocho al estado Yaracuy. En relación a los vectores, se identificaron en el estado Lara, 557 *Rhipicephalus sanguineus*, 11 *Amblyomma ovale* y 10 *Ixodes* spp. y en el estado Yaracuy solamente se diagnosticaron 26 especímenes de *Amblyomma ovale*. Es importante destacar la presencia de *Hepatozoon* spp. en áreas rurales donde no se identificó *R. sanguineus*.

analyzed through non-parametric statistics, showing the presence or absence of *Hepatozoon* spp. and the identification of the involved vectors. *Hepatozoon* spp. was found in samples of peripheral blood in 11 of the dogs studied, three from the State of Lara and eight from the State of Yaracuy. Regarding vectors, 557 *Rhipicephalus sanguineus*, 11 *Amblyomma ovale* and 10 *Ixodes* spp. were identified in Lara, whereas only 26 specimens of *Amblyomma ovale* were identified in Yaracuy. It is important to underscore the presence of *Hepatozoon* spp. in rural areas where *R. sanguineus* was not identified.

**(Palabras clave:** *Hepatozoon*, *Amblyomma ovale*, *Ixodes*, *Rhipicephalus sanguineus*, perro, zonas rurales, factores ambientales, Yaracuy, Lara)

**(Key words:** *Hepatozoon*, *Amblyomma ovale*, *Ixodes*, *Rhipicephalus sanguineus*, dogs, rural areas, ambient conditions, Yaracuy, Lara)

## INTRODUCCIÓN

La población rural canina de Venezuela está pobremente asistida respecto a programas de salud y control de enfermedades, los perros en esas áreas son considerados no solamente como mascotas, conviviendo en contacto con sus dueños, sino también como animales de trabajo, actuando como guardianes y muchas veces ayudando en el pastoreo. Debido al contacto cercano entre los humanos con los perros, tanto en áreas urbanas como rurales, la salud de estos animales debe ser evaluada para que no actúen como reservorios de enfermedades ni de ectoparásitos que puedan transmitir enfermedades a las personas. Por esto, es importante el estudio de las hemoparasitosis en perros y su relación con sus vectores.

Los perros son afectados por una gama de hemotrópicos y las especies más comúnmente diagnosticadas son: *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* (O'Dwyer *et al.*, 1997; Criado-Fornelio *et al.*, 2003). Además de la existencia de una amplia variedad de especies vectoriales como las garrapatas, aumentar la posibilidad de transmisión de agentes patógenos al humano (Guglielmine *et al.*, 1991).

La Hepatozoonosis es una enfermedad causada por el *Hepatozoon canis* (James, 1905), un

protozoario transmitido principalmente por *Rhipicephalus sanguineus* (Christophers, 1907), posteriormente otros autores han involucrado otros géneros de ixódidos en la transmisión de este coccidio (Wenyon, 1931; Forlano *et al.*, 2005,). En Venezuela, *H. canis* fue reportado por primera vez en Barquisimeto, estado Lara, como hallazgo histopatológico, cuando se observaron esquizontes en bazo (Bracho, 1984). En el estado Zulia, se reportó una parasitemia que oscilaba entre 1 y 35% en los 17 animales examinados, con alteraciones en la química sanguínea de caninos positivos a *Hepatozoonosis* (Parra y Arraga, 1996); y en el estado Aragua se reporta por primera vez la presencia de *Hepatozoon canis* con otros hemotrópicos en un paciente que asistió a una consulta veterinaria (Camacaro *et al.*, 1997). A pesar de diversos estudios sobre este parásito todavía existen divergencias en cuanto a su patogenia (Criado-Fornelio *et al.*, 2003). En los Estados Unidos, la enfermedad clínica es más grave que en otros países; investigadores de ese país (Vicent-Johnson *et al.*, 1997) reportaron el hallazgo de una nueva especie de *Hepatozoon*, denominada *Hepatozoon americanum*, parásito que ocasiona cuadros clínicos graves con predominio de alteraciones musculares y óseas. La infección por este agente ya se ha diagnosticado en muchos países de América

del Sur como Argentina, Brasil, Colombia, y ha sido caracterizado molecularmente como *H. canis* (Ardila *et al.*, 2007; Eiras *et al.*, 2007; Forlano *et al.*, 2007).

El diagnóstico convencional de Hepatozoonosis en Venezuela es mediante la observación directa del parásito dentro de los neutrófilos o monocitos. Adicionalmente, existen métodos de biología molecular, como por ejemplo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que son considerablemente más sensibles para detectar infecciones causadas por *H. canis*, en las que la parasitemia es tan baja que no es visualizada mediante extendidos sanguíneos, como la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Inokuma *et al.*, 2002, Criado-Fornelio *et al.*, 2003, Forlano *et al.*, 2007, Rey-Valeiron *et al.*, 2012). En el estado Falcón, se caracterizó molecularmente este patógeno y se señala que el *Hepatozoon canis* es la especie que está presente en esa región (Criado-Fornelio *et al.*, 2007, Rey-Valeiron *et al.*, 2012).

Las enfermedades transmitidas por las garrapatas son una causa importante de morbilidad y mortalidad en perros en todo el mundo, siendo la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, un vector de varios agentes patógenos, incluyendo *A. platys*, *B. canis vogeli*, *B. gibsoni*, *E. canis*, fiebre maculosa grupo (SFG) *Rickettsia* spp. y *H. canis* (Groves *et al.*, 1975; O'Dwyer, 2011; Solano y Baneth, 2011). Estudios realizados en el Caribe han demostrado que la mayoría de los perros que se infectan comúnmente con patógenos transmitidos por garrapatas, no manifiestan signos clínicos o anomalías de laboratorio. Del mismo modo, los animales con evidencia de infecciones específicamente con *A. platys* y *H. canis* son en gran parte aparentemente sanos con sólo alteraciones analíticas ocasionales (Kelly *et al.*, 2013).

En Venezuela, *R. sanguineus* se presenta con mayor frecuencia en perros de zonas urbanas, mientras que la especie *A. ovale*, se ha observado en mayor intensidad en perros de zonas rurales (Forlano *et al.*, 2008), sugiriendo que estas especies pueden ser potenciales vectores de hepatozoonosis, ya que esta garrapata ha sido involucrada como vector en Brasil (Forlano *et al.*, 2005). Otra forma de transmisión de este coccidio es vía transplacentaria (Murata *et al.*, 1993, Criado-Fornelio *et al.*, 2003). En Brasil, Forlano *et al.*, (2007) diagnosticaron por primera vez infección transplacentaria en perros nacidos de padres experimentalmente infectados.

El conocimiento de la fauna ixodológica de perros en una determinada región es importante para adoptar medidas de control, tanto de las infestaciones como de las enfermedades transmitidas por ellas (Guglielmono *et al.*, 2004; Debárbora *et al.*, 2011). En Venezuela, varias especies de garrapatas se han encontrado parasitando animales silvestres y domésticos (Jones *et al.*, 1972; Guerrero, 1996). La especie más asociada a los perros domésticos, principalmente en áreas urbanas y peri-urbanas, es la garrapata *R. sanguineus* (Flechtmann, 1990); mientras que perros criados en áreas rurales presentan preponderadamente las especies de *Amblyomma*, así como infestaciones mixtas (Manzanilla *et al.*, 2002; Moissant *et al.*, 2002; Forlano *et al.*, 2005; 2008; Debárbora *et al.*, 2011). Las garrapatas del género *Amblyomma* pueden transmitir diversos agentes patógenos a perros y seres humanos. El objetivo del presente trabajo fue diagnosticar la presencia de *Hepatozoon* spp. en sangre periférica de perros y en sus vectores colectados en las áreas rurales estudiadas de los estados Lara y Yaracuy, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de Estudio

Se seleccionaron varios municipios con características urbanas y rurales como: Palavecino LN 10° 1'59", LW 69° 15'48"; Iribarren LN 10° 01.329, LW 69° 15.733, Andrés Eloy Blanco LN 9° 44'49", LW 69° 39'27", del estado Lara; y el municipio de Nirgua LN 10° 9'6.24", LW 68° 33'58.92", del estado Yaracuy. Regiones donde se presentan precipitaciones promedio anuales de 450 mm a 800 mm, humedad relativa que varía en promedio de 65% a 80% y temperatura media anual que fluctúa entre 19 y 29°C con variaciones mínimas durante el año. En estas localidades se realizaron visitas mensuales y se realizó un muestreo aleatorio de la población canina de cada región.

### Toma de muestras de sangre

Se seleccionó una muestra aleatoria, (Tashakkori y Teddlie, 1998), la cual estuvo constituida por 300 perros, de los cuales 230 eran del estado Lara y 70 del estado Yaracuy. La mayoría fueron perros adultos, mestizos de ambos sexos. De cada animal seleccionado se realizó la extracción de sangre periférica de un pequeño vaso capilar del pabellón

auricular, con la finalidad de confeccionar frotis de capa fina. Estos frotis se secaron al aire y fueron fijados en metanol por 3 min, para ser transportados al Laboratorio de Parasitología Veterinaria del Decanato de Ciencias Veterinarias, ubicado en la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), estado Lara Venezuela, donde se realizó la coloración de cada frotis y posterior diagnóstico de cada uno de ellos con la ayuda de microscopio óptico (Olympus 31X) y con objetivo de 100X. En este estudio no se consideró la raza ni sexo de los animales debido a que estas variables no son relevantes en la presentación de la enfermedad (O'Dwyer *et al.*, 2011).

### **Colecta e Identificación de Garrapatas**

A todos los perros se les realizó un examen clínico y palpación en todo su cuerpo con especial atención en la región de las orejas, el cuello y las patas, para la detección de garrapatas, ya que son las zonas de preferencia de estos vectores. Las especies encontradas fueron extraídas y colocadas en envases plásticos debidamente identificadas con el nombre de cada animal, llevadas al laboratorio donde se lavaron y se secaron. Posteriormente, los especímenes colectados fueron clasificadas según las claves taxonómicas (Aragão y Fonseca, 1961; Guerrero, 1996), esta identificación se realizó con la ayuda de la lupa estereoscópica para la observación de características morfológicas de cada ejemplar.

### **Procesamiento de Muestras**

Los frotis sanguíneos fueron coloreados con Hemacolor® que es una coloración rápida. Posteriormente, cada lámina fue examinada al microscopio óptico utilizando objetivo de inmersión (100x), principalmente en la región de la franja del frotis, área donde se concentran las células parasitadas.

Las garrapatas colectadas durante el estudio se identificaron taxonómicamente y posteriormente se les realizó la disección con la ayuda de un microscopio estereoscópico, utilizando tijera oftálmica curva de punta fina y pinzas entomológicas. Después de la disección, cada garrapata fue colocada en una lámina con solución salina a 0,75% y la incisión inicial se realizó en el surco marginal, contornando totalmente el idiosoma. El tegumento dorsal fue separado exponiendo la cavidad general del ixodido, la cual

fue hidratada con solución fisiológica fría ( $\pm 6^\circ\text{C}$ ), con la finalidad de aumentar la consistencia de los órganos y facilitar la búsqueda de ooquistes, que son las formas evolutivas de *Hepatozoon canis* que están presentes en la cavidad celomática. Posterior a la disección, cada ejemplar se examinó al microscopio de contraste de fase, para la identificación de posibles formas evolutivas de este coccidio.

### **Análisis de los Datos**

El análisis de los resultados de la observación directa con microscopía óptica (MO) de los hemoparásitos encontrados fue mediante una estadística descriptiva no paramétrica (Petrie y Watson, 2006).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

De los 300 perros examinados por frotis sanguíneos se observaron gamontes de *Hepatozoon* spp. en células polimorfonucleares en 3,67% de las muestras analizadas (11/300), de los cuales tres fueron diagnosticados en perros en el estado Lara y ocho en el estado Yaracuy, observándose que es bajo la presencia de este coccidio en estas áreas, situación que puede estar influenciada por el método diagnóstico utilizado, el cual es poco sensible; como lo observado en otros estados de Venezuela donde se han reportado datos similares que oscilan de 4,84 a 5,92% (Rey-Valeirón, 2008, Rey-Valeirón *et al.*, 2012.). En Brasil, en el estado de Río de Janeiro y Sao Paulo se han reportado porcentajes similares a los reportados en este estudio en áreas rurales (O'Dwyer *et al.*, 2001, Forlano *et al.*, 2005; De Sa *et al.*, 2007).

En este estudio se observó en el área rural del estado Yaracuy, la ausencia del principal vector de *Hepatozoon*, la garrapata marrón del perro (*R. sanguineus*) y el mayor porcentaje de perros positivos a este coccidio (11,4%). En el estado Lara, se encontró 1,30% de prevalencia de *Hepatozoon* spp. en perros que presentaban una infestación mixta de garrapatas (*R. sanguineus* y *A. ovale*). Algunos estudios coinciden con estos resultados, en los cuales han reportado la presencia de este parásito en otros géneros de ixódidos como por ejemplo: *A. ovale* y *R. (Boophilus) microplus* (Forlano *et al.*, 2005, Lima *et al.*, 2011), lo que permite inferir que en estas

áreas rurales donde no se observa *R. sanguineus*, el vector que puede estar involucrado en la transmisión pudiera ser otro género, como ya se ha reportado en otros países (Forlano *et al.*, 2005).

En relación a los vectores encontrados que parasitan naturalmente a los caninos muestreados en el estado Lara, se diagnosticaron 557 *Rhipicephalus sanguineus*, 11 *Amblyomma ovale*, y 10 ejemplares de *Ixodes sp.* En el estado Yaracuy se encontraron únicamente, 26 especímenes de *A. ovale*, lo que representa un total de 604 garrapatas identificadas, distribuidas de la siguiente forma: *R. sanguineus* 92,21%; *A. ovale* 6,13% y del género *Ixodes* de 1,66%, demostrando que no sólo *R. sanguineus* es la garrapata que infesta naturalmente los perros domésticos en las áreas estudiadas (Tabla 1).

Se observó un mayor porcentaje de la garrapata marrón del perro (*R. sanguineus*), en los municipios del estado Lara, en localidades con características semi-urbanas ideales para su desarrollo. Esta garrapata presenta el hábito de desarrollar su ciclo de vida en viviendas o edificios habitados por perros, lo que resulta en una colonización de casi toda la región (Guglielmone *et al.*, 2003). En Venezuela, se ha identificado morfológicamente a la garrapata marrón del perro como *R. sanguineus*; sin embargo, existen diferencias morfológicas y genéticas encontradas entre poblaciones de este especie en Argentina y Brasil, lo que sugiere que en Sudamérica estarían presentes al menos dos especies de *Rhipicephalus* (Moraes-Filho *et al.*, 2011).

Estos resultados demuestran que *A. ovale*, presenta una distribución en zonas geográficas con baja temperatura y un sistema montañoso de selva tropical (Nirgua y Sanare); zonas con características eco-biogeográficas que favorecen el desarrollo

de esta especie de garrapata, ya que necesita de ambiente húmedo y bajas temperaturas. La *A. ovale* fue la segunda especie mas frecuente encontrada parasitando naturalmente los perros en este estudio ,demostrando que su presencia facilita la invasión de este artrópodo al interior de las casas, y se convierte en un potencial vector de algunas zoonosis, una vez que esta especie se ha encontrado parasitando los seres humanos (Guglielmone *et al.*, 2006).

Estos resultados coinciden con los reportados en zonas rurales en Brasil donde en algunas áreas no se encontró *R. sanguineus* parasitando perros sino *A. ovale* y los animales fueron diagnosticados positivos a *Hepatozoon canis* (Forlano *et al.*, 2005). Con este estudio se presume que también en Venezuela, en áreas rurales, donde no se reportó la presencia de *R. sanguineus*, puede estar involucrado un nuevo vector para *Hepatozoon spp.*

En cuanto a la presencia de *Ixodes spp.* en perros domésticos, es el primer reporte de esta especie en Venezuela, lo que demuestra la importancia del estudio de estos Ixodidos, una vez que este género está involucrado en la transmisión de enfermedades rickettsiales (Bermúdez *et al.*, 2009). En estudios anteriores realizados en el país, se ha reportado esta especie parasitando únicamente animales silvestres y aves (Jones *et al.*, 1972; Guerrero, 1996). Estos resultados se asemejan a los reportados en Argentina, donde se encontró en perros de áreas rurales la mayor frecuencia de *R. sanguineus* y en menor grado *A. ovale*, confirmando que son potenciales vectores de microorganismos patógenos para los perros y humanos, debido a la alta prevalencia registrada. Con esto, se evidencia la relevancia de aplicar métodos efectivos para su control (Debárbora *et al.*, 2011).

En este estudio se demuestra que los perros

**Tabla 1.** Especies de garrapatas encontradas infestando naturalmente a caninos y su distribución geográfica

Localidad (municipio)	<i>R. sanguineus</i>	<i>A. ovale</i>	<i>Ixodes</i>	Total
Terepaima (Palavecinos)	172	0	0	172
Sarare (Andrés Eloy Blanco)	78	11	0	89
Rio Claro (Iribarren)	307	0	10	317
Nirgua (Nirgua)	0	26	0	26
Total	557	37	10	604

domésticos de las áreas rurales en Venezuela están infestados naturalmente con más de una especie de ixódidos, situación que genera una alerta epidemiológica por el papel de estos artrópodos en la transmisión de enfermedades zoonótica.

Los ixódidos colectados que parasitan a los perros fueron ejemplares adultos machos y hembras, localizados a nivel de: cabeza, orejas y dorso. Estos resultados coincide con lo señalado en otros estudios donde la distribución en el hospedador es básicamente en las mismas regiones del cuerpo (Manzanilla *et al.*, 2002; Moissant *et al.*, 2002; Forlano *et al.*, 2008), situación que se debe tomar en cuenta al momento de aplicar baños garrapaticidas, es decir, hacer énfasis en estas zonas para el control de estos ectoparásitos en las mascotas.

En relación al diagnóstico de *Hepatozoon* spp. en los vectores, no se observaron formas evolutivas de este coccidio.

## CONCLUSIONES

Se diagnosticó la presencia de *Hepatozoon* spp. en 3,66 % de los perros de áreas rurales. En relación a los vectores se identificaron *R. sanguineus*, *A. ovale* e *Ixodes* spp. en los estados Lara y Yaracuy y se identificó garrapatas adultas de *A. ovale*. En este estudio se reporta el primer hallazgo de *Ixodes* spp. infestando naturalmente perros domésticos de áreas rurales en Venezuela.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA) por el apoyo financiero para el desarrollo de esta investigación, según proyecto N° 009-VE-2007.

## REFERENCIAS

Aragão, H.; Fonseca, F. 1961. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Mem. Inst. O. Cruz.*, 59:115-130.

Ardila, A., Cala, F.; Vargas, G.; Arcila, V.; Castellanos, V. 2007. Reporte de casos clínicos con *Hepatozoon canis* en el Centro Médico Quirúrgico Veterinario de la Universidad Cooperativa de Colombia. *Rev.*

*Elect. Vet.*, 8:1-12.

Bermudez, S.; Eremeeva, M.; Karpathy, S.; Samudio, F.; Zambrano, M.; Zaldivar, Y.; Motta, J.; Dasch, G. 2009. Detection and Identification of Rickettsial Agents in Ticks From Domestic Mammals in Eastern Panama. *J. Med. Entomol.*, 46:856-861

Bracho, G. 1984. Reporte de un caso de *Hepatozoonosis* en canino. *II Jornadas Científicas Veterinarias de la Región Centro Occidental*.1-4.

Camacaro, I.; Pérez, J; Hernández R. 1997. *Hepatozoonosis* y Ehrlichiosis en perro. Informe de un caso. *Vet. Trop.*, 22:77-81.

Christophers, S. 1907. The sexual life cycle of *Leucocytozoon canis* in the tick. Scientific Memoirs Officers of the Medical Sanitary Departments Government of India, 28:1-14.

Criado-Fornelio, A.; Martinez, A.; Buling, A.; Barba, J. 2003. Molecular studies on Babesia, Theileria and *Hepatozoon* in Southern Europe. Part. I. Epizootiological aspects. *Vet. Parasitol.*, 11:189-201.

Debárbora, V.; Oscherov, E.; Guglielmone, A.; Nava, S. 2011. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. *Instituto Veterinaria In Vet.*, 13: 45-51.

De As, A.; Cerqueira, A.; O'Dwyer, L.; Abreu, F.; Ferreira, R.; Pereira, A.; Velho, P.; Rubini, A.; Almosny, N. 2007. Detection of *Hepatozoon* spp in Naturally Infected Brazilian Dogs by Polymerase Chain Reaction. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 5:49-51.

Eiras, D.; Basabe, J.; Scodellaro, C.; Banach, D.; matos, M.; Kimer, A.; Baneth, G. 2007. First molecular characterization of canine *Hepatozoonosis* in Argentina: evaluation of asymptomatic *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires. *Vet. Parasitol.*, 149:275-279.

Flechtmann, C. 1990. Ácaros de importância Médico-Veterinária. 3erd. São Paulo: Nobel 192 p.

Forlano, M.D.; Scofield, A.; Elisei, C.; Fernandes, K.R.; Ewing, S.; Massard, C.L. 2005. Diagnosis of *Hepatozoon* spp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 134:1-7.

Forlano, M.; Teixeira, K.; Scofield, A.; Elisei, C.; Yoto, K.; Fernandes, K.; Linhares, G.; Ewing, S.; Massard, C. 2007. Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. from Brazilian dogs and its phylogenetic relationship with other *Hepatozoon* spp. *Vet. Parasitol.*, 145:21-30.

Forlano, M.D.; Mujica, F.F.; Coronado, A.; Meléndez, R.D.; Linardi, P.M.; Botelho, J.R.; Bellosta, P;

- Barrios, N. 2008. Especies de *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) Parasitando Perros (*Canis familiaris*) en Áreas Rurales de los Estados Lara, Yaracuy, Carabobo y Falcón, Venezuela. *Rev. Científ. FCV-LUZ.*, 18:662-666.
- Groves M, Dennis G, Amyx H, Huxsoll D. 1975. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *Am. J. Vet. Res.*, 36:937-940.
- Harrus S, Waner T. 2011. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. *Vet. J.*, 187:292-296.
- Guerrero, R. 1996. Las Garrapatas de Venezuela (Acarina: Ixodidae). Listado de especies y claves para su identificación. *Bol. Dir. Malariolog. Saneamiento Amb.*, 36:1-24.
- Guglielmone, A.; Mangold, A.; Viñabal, A. 1991. Ticks (Ixodidae) Parasitizing humans in four provinces of Northwestern Argentina. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 85:539-542.
- Guglielmone A.; Estrada-Peña, A.; Keirans, J.; R. Robbins. 2003. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. Special publication of the International Consortium on Ticks and Tick-Borne Diseases. Atalanta, Houten. The Netherlands, 173 pp.
- Guglielmone, A.; Estrada, P.; Keirans, J.; Robbins, R. 2004. *Ixodidae: Amblyomminae, Amblyomma*. Las Garrapatas (Acari: Ixodida) de la Región Zoogeográfica Neotropical. Buenos Aires: Ediciones INTA. 142 p.
- Guglielmone, A.; Beati, L.; Barros-Battesti, D.; Labruna, M.; Nava, S.; Venzal, J.; Mangold, A.; Szaba, M.; Martins, J.; Gonzalez-Acuña, D.; Estrada-Peña, A. 2006. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp. Applied Acarology*, 40:83-100.
- 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. *Vet. Parasitol.*, 106:265-271.
- James, S. 1905. A new Leucocytozoon of dogs. *British. Med. J.*, 1:1361.
- Jones, E.; Clifford, C.; Keirans, J.; Kohls, G. 1972. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. Brigham Young Univ. *Sci. Bull. Biol. Ser.*, 17:1-40.
- Kelly, P.; Xu, Ch., Lucas, H.; Loftis, A.; Abete, J.; Zeoli, F.; Stevens, A.; Jaegersen, K.; Ackerson, k.; Gessner, A.; Kaltenboeck, B.; Wang, Ch. 2013. Ehrlichiosis, Babesiosis, Anaplasmosis and Hepatozoonosis in Dogs from St. Kitts, West. *Indies. Plos. One.*, 8:1-10.
- Lima, R.; Ribeiro, J.; Olegário, M.; Beletti, M.; Mundim, A.; O'Dwyer, L.; Eyal, O.; Talmi-Frank, D.; Cury, M.; Baneth, G. 2011. Oocysts of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from a naturally infected dog. *Vet. Parasitol.*, 177:392-396.
- Manzanilla, J.; Garcia, M.; Moissant, E.; Garcia, F.; Tortolero, J. 2002. Dos especies de garrapatas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) en perros del estado Aragua, Venezuela. *Entomotropica.*, 17:177-180.
- Moissant, E.; Klober, R.; Manzanilla, J. 2002. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) en los estados Aragua y Cojedes, Venezuela. *Rev. Científ. FCV-LUZ.*, 12:94-96.
- Moraes-Filho, J.; Marcili, A.; Nieri-Bastos, F.; Richtzenhain, L.; Labruna, M. 2011. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Trop.*, 117:51-55.
- Murata, T.; Inoue, M.; Tateyama, S.; Taura, Y.; Nakama, S. 1993. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 55:867-868.
- O'Dwyer, L.; Guimarães, L.; Massard, C. 1997. Ocorrência de infecção múltipla por *Babesia canis*, *Hepatozoon canis* e *Haemobartonella canis* em um cão esplenectomizado. *Rev. Bras. Cs. Vet.*, 4:83-84.
- O'Dwyer, L.; Massard, C.; Pereira De Souza, J. 2001. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural áreas of Rio de Janeiro State, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 94:143-150.
- O'Dwyer, L. 2011. Brazilian canine Hepatozoonosis. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 20:181-193.
- Parra, O.; Arraga, C. 1996. Hepatozoonosis canina en Venezuela. Hallazgo clínico y de laboratorio. *Rev. Científ. FCV-LUZ*, 6:125-133.
- Petrie, A.; Watson, P. 2006. *Stadistic for Veterinary and animal Science*. Editorial Blackwell Iowa USA. 2<sup>da</sup> Edición pp.158-180
- Rey-Valeiron, C. 2008. Aspectos parasitológicos y moleculares de *Babesia canis* y *Hepatozoon canis* de caninos en Santa Ana de Coro, Venezuela. Universidad Francisco de Miranda. Trabajo de Ascenso. 70 p.
- Rey-Valeiron, C.; Trujillo-Silva, L.; Martínez, A.C.; Ortíz, G.; Sambrano, G. 2012. Determinación de *Hepatozoon canis* mediante PCR en caninos domésticos de La Vela de Coro, Estado Falcón, Venezuela. *Rev. Científ. FCV-LUZ*, 12:524-529.
- Solano, L.; Baneth G. 2011. Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. *Vet. Parasitol.*, 181:48-60.

- Tashakkori, A.; Teddlie C. 1998. Sampling, Measurement, and Quality of Inferences. En: *Mixed Methodology. Combining Qualitative and Quantitative Approaches*. 1<sup>ra</sup> Ed. Thousand Oaks, CA: Sage Publications. pp. 61-95.
- Vicent-Johnson N.; Macintire D.; Lindsay D.; Lenz S.; Baneth G.; Shkap V.; Blagburn B. 1997. A new *Hepatozoon* species from dog: description of de causative agent of canine *Hepatozoonosis* in North America. *J. Parasitol.*, 83:1165-1172.
- Wenyon, C. 1931. Experimental infection of dog with *Hepatozoon canis*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hygiene.*, 25, 6.