



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Hepatozoon* spp EN PERROS
DOMÉSTICOS DE VILLAHERMOSA TABASCO**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PRESENTA:

FAUMERY GERDIELA CARDIEL BAÑOS

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. OSWALDO MARGARITO TORRES CHABLÉ

EN CODIRECCIÓN DE:

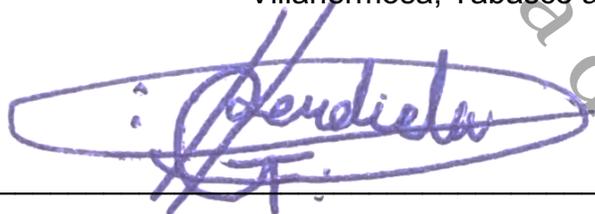
DRA. CLAUDIA VIRGINIA ZARAGOZA VERA

VILLAHERMOSA, TABASCO, JULIO DE 2025

Declaración de Autoría y Originalidad.

En la ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día 1 de julio del año 2025, la que suscribe Faumery Gerdiela Cardiel Baños alumna del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia con número de matrícula 192C24136 adscrita a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis titulada: Identificación molecular de *Hepatozoon* spp en perros domésticos de Villahermosa Tabasco, la cual fue presentada para la obtención del título de Licenciada en Medicina Veterinaria y Zootecnia, bajo la dirección del Dr. Oswaldo Margarito Torres Chablé y la Dra. Claudia Virginia Zaragoza Vera, DECLARO QUE: La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita. Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 1 de julio del 2025.



C. Faumery Gerdiela Cardiel Baños



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



División
Académica de
Ciencias
Agropecuarias



2025
AÑO DE LA
Mujer
Indígena

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES

Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.
Fecha: 27 de junio de 2025.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), le informo que, con base en el artículo 113 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** a la **C. Faumery Gerdiela Cardiel Baños**, con matrícula **192C24136**, egresado(a) de la Licenciatura de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, la impresión de su Trabajo **Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, titulado: **IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE Hepatozoon spp EN PERROS DÓMESTICOS DE VILLAHERMOSA TABASCO.**

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

M.V.Z. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

C.c.p.- Archivo

Carretera Villahermosa – Teapa Km. 25
R/A La Huasteca 2da Sección
Villahermosa, Tabasco. México. C.P. 86298
Tel. (+52 993) 3581500 ext. 6614
Correo electrónico: terminales.daca@uiat.mx

Carta de Cesión de Derechos.

Villahermosa, Tabasco a 1 de julio del 2025. Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada Identificación molecular de *Hepatozoon* spp en perros domésticos de Villahermosa Tabasco. Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES

Egresado. Faumery Gerdiela Cardiel Baños.

Director. Dr. Oswaldo Margarito Torres Chablé.

Codirectora. Dra. Claudia Virginia Zaragoza Vera.

TESTIGOS



Guadalupe Arjona Jiménez



Maritza Zaragoza Vera

Dedicatorias.

Esta tesis va dedicada con todo mi corazón a mis padres German Cardiel Márquez y Joaquina Baños Baños que son mis motivos de vida, a mis hermanas Faura y Faudia que han estado conmigo cuidándome y apoyándome incondicionalmente.

A mis amigos y compañeros que me apoyaron y con quienes compartí grandes momentos inolvidables durante esta etapa de mi vida.

México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Agradecimientos.

Le agradezco a Dios por permitirme estudiar la carrera de Medicina Veterinaria y poder llegar a este momento de mi vida en donde no solo crecí académicamente sino también como persona y tener la oportunidad de agradecerle un logro más que no solo es para mí sino para todas las personas que estuvieron involucradas.

A mis padres por todo su apoyo incondicional sobre todo en este transcurso de la elaboración de la tesis.

Como agradecimiento especial al Dr. Oswaldo M. Torres Chablé, que confió en mí para llevar adelante este trabajo y la Dra. Claudia V. Zaragoza Vera, quienes me han brindado todo su apoyo incondicional y me guiaron durante este proceso de elaboración de mi tesis con mucha paciencia y amor.

A la Médico Veterinario Martha Carolina, quien me brindó su tiempo y paciencia en la elaboración de PCR, la cual fue una pieza clave para sacar este trabajo adelante.

Principios bioéticos.

Cada uno de los tutores de los perros fueron informados debidamente y la colección de muestras se realizó después de obtener el consentimiento de los tutores. Los animales fueron manejados mediante técnicas de sujeción adecuadas, apegándose en todo momento, al trato digno de los animales y de sus tutores, y procurando siempre el bienestar animal durante la realización del presente estudio. Así también, los residuos peligrosos, biológicos, infecciosos (RPBI) generados durante el proceso de colección de la muestra biológica fueron manejados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Durante el presente estudio los tutores de las mascotas recibieron asesoramiento gratuito enfocado al control de los ectoparásitos que infestaban a sus mascotas. Además, los resultados de perros positivos a la infección fueron notificados a cada tutor, brindándole en todo momento el asesoramiento gratuito.

ÍNDICE.

I.- INTRODUCCIÓN.....	13
II.- OBJETIVOS.....	14
III.- JUSTIFICACIÓN.....	15
IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
V.- HIPÓTESIS.....	15
VI.- MARCO TEÓRICO.....	16
6.1.- Historia.....	16
6.2.- Género <i>Hepatozoon</i>	16
6.2.1 Etiología.....	16
6.2.1.1 Especies afectadas por <i>H. canis</i>	17
6.2.1.2.- Vector transmisor de <i>H. canis</i>	17
6.2.1.3.- Patogénesis.....	17
6.3.- Diagnóstico de la infección por <i>Hepatozoon canis</i>	18
6.3.1 Diagnóstico clínico.....	18
6.3.2 Frotis Sanguíneo (Sangre periférica).....	18
6.3.3 Buffy coat (Capa flogística).....	19
6.3.4 PCR (Diagnóstico molecular).....	19
VII.- METODOLOGÍA.....	20
7.1 Área de estudio.....	20
7.2 Tamaño de muestra y diseño del muestreo.....	20
7.3 Determinaciones en los perros.....	20

7.3.1.- Toma de muestra de sangre para la identificación de <i>Hepatozoon</i> spp en perros.....	20
7.3.2.- Determinación de factores asociados a la infección de <i>Hepatozoon</i> spp en perros.....	21
7.3.3.- Extracción de ADN genómico para la identificación de <i>Hepatozoon</i> spp.....	21
7.3.4.- Cebadores y reacción de PCR para identificar <i>Hepatozoon</i> spp en ADN genómico procedente de sangre de perros.....	22
7.3.5.- Determinación de la prevalencia de <i>Hepatozoon</i> spp en los perros muestreados.....	23
7.3.6.- Análisis estadístico para identificar factores a asociados a la infección de <i>Hepatozoon</i> spp en los perros muestreados.....	24
VIII.- RESULTADOS.....	25
IX.- DISCUSIÓN.....	29
X.- CONCLUSIONES.....	32
XI.- REFERENCIAS CITADAS.....	33
XII.- ANEXOS.....	38

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1.- Datos generales de los cebadores y las reacciones de PCR que se emplearon para realizar el diagnóstico de <i>Hepatozoon canis</i> en perros muestreados.	23
Tabla 2. Análisis univariado para la detección de asociaciones entre las diversas variables evaluadas en los perros y la presencia de <i>Hepatozoon americanum</i>	27
Tabla 3.- Regresión logística multivariada para la identificación de factores asociados a la infección de <i>Hepatozoon americanum</i> en perros de la zona Centro del estado de Tabasco.	28

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1.- Muestras positivas amplificando a aproximadamente a 1650 pb empleando los cebadores 2867F y 2868R compatible con <i>Hepatozoon americanum</i>	25
---	----

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Hepatozoon* spp EN PERROS DOMÉSTICOS DE VILLAHERMOSA TABASCO.

RESUMEN.

El objetivo del estudio fue Identificar la presencia de *Hepatozoon* spp en perros de la Subregión Centro del estado de Tabasco, y determinar factores asociados a dichas infecciones. Se recolectaron 297 muestras de sangre de perros y se aplicó una encuesta para recolectar datos como la raza, edad, condición corporal, procedencia, actividad, género, tamaño, color de manto, tipo de pelaje, historial de garrapatas y lugar de dormitorio de los perros. Se realizó extracción de ADN mediante la técnica de Salting-out y se realizó PCR convencional con cebadores para detectar *Hepatozoon* spp, *Hepatozoon canis* y *Hepatozoon americanum*. Se determinó la prevalencia, y las variables colectadas en la encuesta se usaron para construir un modelo de regresión logística binomial, para explicar la presencia o ausencia de perros infectados con un nivel de confianza de 95% usando el software SPSS V22®. El programa calculó los Odds Ratio (OR), y estos se consideraron significativos cuando obtuvieron valores de $P < 0.05$. ADN perteneciente a *Hepatozoon* spp fue encontrado en muestras de 58 perros (19.52%). Las muestras positivas fueron evaluadas empleando cebadores específicos para *H. canis* y *H. americanum*. Sin embargo, todas las muestras amplificaron para *H. americanum* y ninguna amplificó para la especie *H. canis*. La condición corporal (< 3 , OR= 2.93, $P = 0.04$), la procedencia (rural, OR= 23.69, $P = 0.00$), y un historial de repetidas infestaciones por garrapatas (si, OR= 4.73, $P = 0.01$) se encontraron asociadas a la infección. Los resultados demostraron por primera vez la presencia de *H. americanum* en perros de esta región.

PALABRAS CLAVES.

Hepatozoon canis, *Hepatozoon americanum*, *Rhipicephalus sanguineus*, vector.

ABSTRACT.

The objective of the study was to identify the presence of *Hepatozoon* spp. in dogs from the Centro Subregion of the state of Tabasco and to determine factors associated with these infections. A total of 297 blood samples from dogs were collected, and a survey was administered to gather data such as breed, age, body condition, origin, activity, gender, size, coat color, coat type, tick history, and sleeping location of the dogs. DNA extraction was performed using the Salting-out technique, and conventional PCR was carried out with primers to detect *Hepatozoon* spp, *Hepatozoon canis*, and *Hepatozoon americanum*. Prevalence was determined, and the variables collected in the survey were used to build a binomial logistic regression model to explain the presence or absence of infected dogs with a 95% confidence level, using SPSS V22[®] software. The program calculated Odds Ratios (OR), which were considered significant when P values were <0.05. DNA from *Hepatozoon* spp was found in samples from 58 dogs (19.52%). The positive samples were evaluated using specific primers for *H. canis* and *H. americanum*. However, all samples amplified for *H. americanum*, and none amplified for the *H. canis* species. Body condition (<3, OR= 2.93, P= 0.04), origin (rural, OR= 23.69, P= 0.00), and a history of repeated tick infestations (yes, OR= 4.73, P= 0.01) were found to be associated with the infection. The results demonstrated, for the first time, the presence of *H. americanum* in dogs from this region.

KEYWORDS.

Hepatozoon canis, *Hepatozoon americanum*, *Rhipicephalus sanguineus*, vector.

I.- INTRODUCCIÓN.

La hepatozoonosis es una enfermedad causada por el protozooario *Hepatozoon canis* (*H. canis*), el cual es transmitido por la ingestión total o parcial de garrapatas del género *Rhipicephalus sanguineus* que contienen ooquistes de dicho parásito (Baneth *et al.*, 2001).

El género *Hepatozoon* está compuesto por más de 300 especies (Sumrandee *et al.*, 2015). Particularmente, *H. canis* parasita a perros, gatos, chacales y hienas (Soulsby, 1987). El género *Hepatozoon* comprende alrededor de 340 especies que infectan y causan enfermedades de importancia veterinaria en una amplia gama de huéspedes vertebrados, como mamíferos, reptiles, aves, peces y ranas (Chisu *et al.*, 2023). Los signos clínicos en caninos incluyen anemia, fiebre, letargia, caquexia, vómitos, conjuntivitis y pérdida progresiva de peso. Otras lesiones asociadas a la hepatozoonosis son uveítis, glaucoma, osteopatía hipertrófica, poliartritis y linfadenitis. Eventualmente, la infección puede cursar de manera subclínica (Acevedo *et al.*, 2009; Iveli *et al.*, 2015; Cala-Delgado *et al.*, 2018).

Hepatozoon spp están ampliamente distribuidas a nivel mundial (Sumrandee *et al.*, 2015). Sin embargo, se ha reportado con mayor frecuencia en Asia, África, Europa y Sudamérica (Maia *et al.*, 2012). En el continente americano se han encontrado en México (Carvajal *et al.*, 2012), Colombia (Thomas *et al.*, 2020), Brasil (Ramos *et al.*, 2015) y Argentina (Guevara & Oviedo, 2020). En México, la infección de perros ha sido reportada en el estado de Tamaulipas y no existe otra evidencia de la afección de este protozooario en perros domésticos de México. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue identificar la presencia de *Hepatozoon canis* en sangre de perros mediante la técnica de PCR convencional y determinar factores asociados a la infección.

II.- OBJETIVOS.

Objetivo general:

- Identificar molecularmente la presencia de *Hepatozoon* spp en perros de la Subregión Centro del estado de Tabasco, y determinar factores asociados a las infecciones encontradas.

Objetivos específicos:

- Identificar la presencia de *Hepatozoon* spp en sangre de perros domésticos de la subregión Centro del estado de Tabasco.
- Identificar la presencia de *Hepatozoon canis* en sangre de perros domésticos de la subregión Centro del estado de Tabasco.
- Identificar la presencia de *Hepatozoon americanum* en sangre de perros domésticos del estado de Tabasco.
- Conocer los factores asociados a las infecciones de *Hepatozoon* spp encontradas en perros domésticos de la Subregión Centro del estado de Tabasco.

III.- JUSTIFICACIÓN.

La distribución de microorganismos del género *Hepatozoon* es considerada cosmopolita afectando a cánidos y con riesgo potencial de zoonosis con lo cual se tiene impacto en la salud pública. Además, conocer la presencia o ausencia del microorganismo conllevará a tomar las medidas de precaución necesarias para salvaguardar la salud de los perros domésticos y la salud pública de los habitantes de la Subregión Centro del estado de Tabasco.

IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El estado de Tabasco se encuentra ubicado en la zona tropical húmeda de México, la cual se caracteriza por abundante calor, humedad y por la presencia de ectoparásitos como garrapatas, las cuales infestan a perros domésticos ocasionando la transmisión de patógenos que afectan su salud. En esta región del país se desconoce la presencia de protozoarios del género *Hepatozoon* spp por lo que identificar este género puede contribuir a la inclusión de estos en los diagnósticos clínicos en perros con signología de infecciones transmitidas por vectores.

V.- HIPÓTESIS.

Hepatozoon canis estará presente en baja proporción en la población canina de Villahermosa, Tabasco.

VI.- MARCO TEÓRICO.

6.1.- Historia.

De acuerdo con la literatura, el primer caso reportado fue en el año 1905 en la india con el nombre de *Leucocytozoon canis*, pero investigaciones más tarde realizadas en Asia lo designaron *Hepatozoon*. El género *Hepatozoon* se denominó así, debido al desarrollo monogénico que se observó en un tipo de cepa de *Hepatozoon muris*, especie que afecta principalmente el hígado de los roedores (O'Dwyer, 2011).

Se han identificado dos especies parasitando a caninos, *H. canis* con una distribución cosmopolita y *H. americanum* encontrada en Norte américa) (Baneth *et al.*, 2001). Aunque la distribución de *H. canis* es amplia, y contempla países de Europa, Asia, África, Oceanía, Norteamérica, Centroamérica y Sudamérica. A pesar de que la presencia de *H. canis* está registrada en Centroamérica, en México solo un reporte en Tamaulipas y otro en Tabasco han sido publicados hasta la fecha (Carvajal *et al.*, 2012; Jarquín-Díaz *et al.*, 2016).

6.2.- Género *Hepatozoon*.

6.2.1 Etiología.

Hepatozoon canis es un agente etiológico sanguíneo del Phylum *Apicomplexa*, clase *Sporozoea*, Orden *Eucoccidia*, Familia *Haemogregarinidae*, Género *Hepatozoon*, Especie *canis* (Cala-Delgado, 2018). Este parásito coloniza el monocito y el neutrófilo en estadio de gametocito en forma de inclusiones intracitoplasmáticas ovales de color azul hielo, casi transparentes que alcanzan un tamaño de 5 por 10 µm. En Estados Unidos de Norteamérica se reconoce la especie *H. americanum* con la diferenciación clínica de *H. canis* de presentar intensa actividad periosteal (Coy *et al.*, 2022).

6.2.1.1 Especies afectadas por *H. canis*.

H. canis afecta principalmente al perro doméstico. Sin embargo, se ha reportado como un agente capaz de infectar a ciertas especies salvajes como: chacales (*Canis mesomelas*), hienas (*Hyenidae*); al igual que gatos (*Felis silvestris catus*) (Soulsby, 1987).

6.2.1.2.- Vector transmisor de *H. canis*.

Rhipicephalus sanguineus conocida como la garrapata café o marrón del perro ha sido reportada como el vector con mayor eficiencia para la transmisión de *H. canis*. La transmisión de *H. canis* ocurre a través de la ingestión total o parcial de la garrapata infectada por el canino (Rey-Valeirón *et al.*, 2012). También se han detectado ooquistes de *H. canis* en otras especies de garrapatas, incluidas *Rhipicephalus microplus*, *Haemaphysalis longicornis* y *Haemaphysalis flava* (Schäfer *et al.*, 2022).

6.2.1.3.- Patogénesis.

La patogénesis de la infección por *H. canis* se encuentra influenciada por condiciones de deficiencia inmunológica; las patologías que debilitan las respuestas inmunitarias aumentan la susceptibilidad frente a nuevas infecciones con *H. canis* y/o permiten que las infecciones existentes se reactiven. Es común encontrar la hepatozoonosis asociada a otra enfermedad infecciosa como parvovirus, ehrlichiosis, babesiosis, anaplasmosis, dirofilariosis, distemper, leishmaniosis; o en animales inmunosuprimidos ya sea por una enfermedad concomitante o terapias inmunodepresoras (Baneth *et al.*, 2001). De esta manera los signos clínicos se hacen más evidentes, pero son menos específicos y causan la muerte del canino entre las 4 y 8 semanas de iniciada la signología clínica. Su periodo de incubación es de 2 a 4 semanas y suele presentarse de 4 a 6 semanas. la transmisión vertical (de madre infectada a cachorros) ha sido reportada en Europa (Schäfer *et al.*, 2022).

Se cree que *H. canis* se transmite principalmente por la ingestión de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato quienes alojan ooquistes maduros. Después de la ingestión de una garrapata que alberga los ooquistes que contienen esporozoos, los esporozoos infecciosos se liberan en el tracto gastrointestinal del huésped vertebrado y alcanzan la circulación sanguínea y linfática al penetrar la pared intestinal. La merogonia comienza en los tejidos linfoides como la médula ósea y a partir de los 13 días postinfección los merozoos penetran en los neutrófilos y monocitos para convertirse en gamontes (Schäfer *et al.*, 2022). La manifestación clínica aunque variables pueden incluir letargo, fiebre, anorexia, pérdida de peso, linfadenomegalia y anemia (O'Dwyer, 2011).

6.3.- Diagnóstico de la infección por *Hepatozoon canis*.

6.3.1 Diagnóstico clínico.

Está basado en la historia clínica, la exploración física y los signos clínicos, solo puede ser sospechosos de *Hepatozoon canis* cuando el perro presenta una fatiga injustificada, un adelgazamiento progresivo de origen desconocido, fiebres recurrentes resistentes al tratamiento con antibióticos o una reacción perióstica en la radiografía, nos puede hacer pensar en la posibilidad de una hepatozoonosis. Al ser una enfermedad que no presenta signología clínica específica y al estar en la mitad de los casos asociada a otras patologías parasitarias, bacterianas o víricas nos obliga a realizar un diagnóstico diferencial con leishmaniosis, ehrlichiosis, babesiosis, filariosis, parásitos intestinales, etc. (O'Dwyer, 2011).

6.3.2 Frotis Sanguíneo (Sangre periférica).

El diagnóstico más común y primario que se hace para la confirmación de la presencia clínica, subclínica o de huésped portador de *H. canis*, es mediante la visualización del protozoo dentro de los leucocitos en un frotis de extensión fina (sangre periférica o médula ósea), con ayuda de la tinción de tipo Romanowsky (Díaz-Sánchez *et al.*, 2021).

6.3.3 Buffy coat (Capa flogística).

En los casos en los que la sospecha es fuerte, se puede hacer un extendido de la capa leucocitaria o costra flogística, la cual aumenta la oportunidad de encontrar gamontes cuando las parasitemias son bajas. Esta se obtiene a través del microhematocrito debido a la leucoconcentración. Esta técnica tiene más del doble de sensibilidad al extendido o al frotis de sangre entera (Otranto *et al.*, 2011; Díaz-Sánchez *et al.*, 2021).

6.3.4 PCR (Diagnóstico molecular).

Es una prueba específica y de mejor diagnóstico, la cual ayuda a monitorear el progreso de la infección, es la más indicada para la detección de *H. canis*. La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). consiste en la amplificación *in vitro* de un fragmento de ADN específico; por medio de la utilización de una secuencia corta de ADN (cebadores) para la selección de la parte del genoma que se desea amplificar. Los resultados sugieren que la PCR en la capa leucocitaria y la sangre es el mejor ensayo de diagnóstico para detectar la infección por *H. canis* en perros, aunque cuando la PCR no está disponible, se debe preferir la citología en la capa leucocitaria a la evaluación del frotis de sangre (Otranto *et al.*, 2011).

VII.- METODOLOGÍA.

7.1 Área de estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en la Subregión Centro del estado de Tabasco, ubicada a 17° 99' latitud Norte y 92° 95' longitud oeste. En la Subregión Centro se incluye la ciudad de Villahermosa, capital del estado de Tabasco, en el sureste de México. El clima es cálido húmedo; principalmente, con una temperatura media anual de 27°C, y una precipitación anual promedio de 2,550 mm (INEGI, 2025).

7.2 Tamaño de muestra y diseño del muestreo.

Se realizó un muestreo al azar simple por conveniencia, para recolectar un tamaño de muestra de 250 animales, dichas muestras fueron recolectadas de febrero a agosto de 2023.

7.3 Determinaciones en los perros.

7.3.1.- Toma de muestra de sangre para la identificación de *Hepatozoon spp* en perros.

Las muestras sanguíneas de los perros se tomaron de la vena cefálica utilizando jeringas de 3 ml, posteriormente se depositaron en tubos de 4 ml con de EDTA. Las muestras fueron identificadas (rotuladas) utilizando números consecutivos, siendo conservadas en refrigeración durante su transporte al Laboratorio de Investigación de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; siendo almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

Consentimiento informado y manejo de residuos.

Cada uno de los tutores de los perros fueron debidamente informados y la colección de muestras se realizó después de firmar el consentimiento de los tutores. Así

también, los residuos peligrosos, biológicos, infecciosos (RPBI) fueron manejados de acuerdo con la norma Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

7.3.2.- Determinación de factores asociados a la infección de *Hepatozoon spp* en perros.

Durante el muestreo, se aplicó una encuesta a los dueños de los perros para recopilar información relacionada con su mascota y evaluar la probabilidad de asociación de variables con la infección por *Hepatozoon spp*. Las variables se clasificaron de la siguiente manera: **raza** (pura o no pura), **condición corporal** (<3 o >3, que se estimó utilizando la escala de 1 a 5 (Edney & Smith, 1986), donde 1 es emaciado y 5 es obeso), **edad** (<1 o >1), **procedencia** (rural o urbana), **actividad** (caza/pastoreo o mascota -si este solo permanece en casa-), **género** (macho o hembra), **tamaño** (pequeño: <10 kg o <30 cm hasta la cruz; mediano o grande: >10 kg o >30 cm hasta la cruz), **color de manto** (claro: blanco, gris claro, miel, dorado y crema; oscuro: negro, marrón y gris oscuro; cuando un perro presentó 2 o 3 colores de pelaje, se consideró el color dominante), **tipo de pelaje** (corto: <2 cm; largo: >2 cm), **historial de garrapatas** (sí o no; esta variable fue considerada como sí, cuando el dueño mencionó que si había tenido infestaciones a lo largo de su vida a pesar de que en ese momento el perro estuviera libre de infestaciones), **garrapatas** (sí o no; esta variable se consideró “sí” cuando la infestación de garrapatas se encontró al momento del muestreo) y **dormitorio** (afuera o adentro de la casa).

7.3.3.- Extracción de ADN genómico para la identificación de *Hepatozoon spp*.

Para llevar a cabo la extracción, se resuspendieron 100 µl de sangre anti-coagulada en 180 µl de solución de lisis de eritrocitos (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, Triton X - 100 al 1% y sacarosa al 11%), la mezcla se incubó cinco minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla fue centrifugada a 18,000 x g cinco minutos y se decantó el sobrenadante, este paso fue repetido tres veces para lisar por completo células sanguíneas y eliminar la hemoglobina.

Después, 60 µl de solución de lisis de leucocitos (Tris-HCl 10 mM pH 8.0, NaCl 400 mM y EDTA 2 mM), 10 µl de solución de proteinasa K (proteínasa K 1 mg / ml, SDS al 1% y EDTA 2 mM) y 2 µl de SDS al 20% fueron añadidos a la muestra. La mezcla se incubó a 65°C por una hora. Posteriormente, se le adicionaron 30 µl de acetato de potasio e incubados en hielo húmedo durante 30 minutos. Terminada la incubación, la mezcla fue centrifugada a 18,000 x g quince minutos y el sobrenadante fue recuperado y colocado en un nuevo tubo de serología (Eppendorf® de 1.5 ml). Posteriormente, se agregaron 200 µl de isopropanol absoluto y se dejó precipitar el ADN durante toda la noche.

Al día siguiente, la muestra fue centrifugada a 18,000 x g durante 15 minutos y se decantó el isopropanol sobrenadante. Después se adicionaron 200 µl de etanol al 70% y posteriormente, la muestra fue centrifugada a 18,000 x g y el etanol desechado. El ADN obtenido se secó durante 30 minutos en campana de PCR y posteriormente, fue resuspendido usando 50 µl de solución de TE (10 mM Tris-HCl, EDTA 1 mM, pH 8.0) este método de extracción fue estandarizado tomando como base diferente literatura basada en extracción de ADN mediante la técnica de Salting-out (Nasiri *et al.*, 2005; Torres-Chable *et al.*, 2018).

7.3.4.- Cebadores y reacción de PCR para identificar *Hepatozoon* spp en ADN genómico procedente de sangre de perros.

Para determinar la presencia del parásito *Hepatozoon* spp en ADN genómico procedente de la sangre de los perros muestreados se utilizará un par de cebadores generales para determinar el género *Hepatozoon* spp. Posteriormente, se realizará una segunda PCR utilizando cebadores específicos para la identificación *H. canis*. El nombre de los cebadores, su secuencia, el sitio de origen, la masa molecular de sus productos de PCR y su reacción de PCR pueden ser observadas en la Tabla 1.

Tabla 1.- Datos generales de los cebadores y las reacciones de PCR que se emplearon para realizar el diagnóstico de *Hepatozoon canis* en perros muestreados.

Especie	Cebador	Secuencia	Origen	Producto	Reacción de PCR
<i>Hepatozoon</i> <i>spp</i>		3'CGCGAAATTACCCAATTCTA5' 5'TAAGGTGCTGAAGGAGTCGTTTAT3'	18s rRNA	565 pb	Desnaturalización: 95° x 3 min 40 ciclos de: 95° C x 15s 53°C x 40s 72°C x 40s Extensión a Fase final: 72°C x 5 min
<i>Hepatozoon</i> <i>americanum</i>	2867F 2868R	3'AACCTGGTTGATCCTGCCAG5' 5'TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC3'	rRNA 18S SSU	1650 pb	Desnaturalización: 94° x 1 min 35 ciclos de: 94° x 1 min 57° x 1 min 72°c x 2 min Extensión final: 72° x 5 min
<i>Hepatozoon</i> <i>canis</i>	Hep001 Hep737	3'CCT GGC TAT ACA TGA GCA AAA TCT CAA CTT5' 5'CCA ACT GTC CCT ATC AAT CAT TAA AGC3'	18s rRNA	737 pb	Desnaturalización: 95° x 15 min 30 ciclos de: 94°C x 45s 65°C x 45s Extension a 72° C Fase final: 72° C X 7 m.

PB: Pares de bases. (Forlano *et al.*, 2007; Spolidorio *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2013; Thomas *et al.*, 2020)

7.3.5.- Determinación de la prevalencia de *Hepatozoon spp* en los perros muestreados.

Para determinar la prevalencia de perros infectados por *Hepatozoon spp*, se aplicó la fórmula general de prevalencia:

$$P_t = \frac{C_t}{N_t}$$

Donde P_t es la prevalencia estimada en el tiempo justo que se realizó el estudio, C_t es el número total de casos que resultaron positivos durante ese periodo y N_t es el número total de individuos estudiados durante el periodo de tiempo (Mateu & Casal, 2003).

7.3.6.- Análisis estadístico para identificar factores a asociados a la infección de *Hepatozoon* spp en los perros muestreados.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa IBM SPSS versión 22[®] (IBM Corporation, Armonk, NY). Con las variables consideradas posibles factores asociados a *Hepatozoon* spp en perros, se realizó un modelo de regresión logística binomial, para explicar la presencia o ausencia de perros infectados.

Para seleccionar las variables a incluir en el modelo, inicialmente se llevó a cabo un análisis de regresión logística univariada, para explorar la posible asociación entre cada una de las variables independientes y la presencia o ausencia de infecciones en los perros. Todas aquellas variables con un valor de $P < 0.05$ fueron consideradas para integrar el modelo de regresión logística multivariado. Una vez seleccionadas las variables independientes, se realizaron diversos ensayos para elegir el método de entrada al programa estadístico (IBM SPSS versión 22) y se eligió el que más se adecuó. El nivel de confianza fue de 95%, se calcularon los Odds Ratio (OR) y estos se consideraron significativos cuando obtuvieron valores de $P < 0.05$.

VIII.- RESULTADOS.

Durante el tiempo de estudio se muestrearon un total 297 perros en las diferentes localidades de la Subregión Centro del estado de Tabasco. El ADN perteneciente a *Hepatozoon* spp fue encontrado en muestras de 58 perros, por lo cual la prevalencia general fue de 19.52%. Subsecuentemente, todos los perros positivos fueron evaluados empleando cebadores específicos para *H. canis* y *H. americanum*. Sin embargo, todas las muestras amplificaron para *H. americanum* (Figura 1) y ninguna de estas amplificó para la especie *H. canis*.



Figura 1.- Muestras positivas amplificando a aproximadamente a 1650 pb empleando los cebadores 2867F y 2868R compatible con *Hepatozoon americanum*.

Con respecto a las variables asociadas a la infección de *H. americanum*, se realizó inicialmente una evaluación mediante una regresión logística binomial univariada de cada una de las variables estudiadas o predictoras (Tabla 2). Puede observarse que los variables raza, condición corporal, procedencia, actividad, género, talla, color, tener un historial de infestaciones de garrapatas y el dormitorio se encontraron asociadas a la infección con un valor de $P < 0.05$.

Las variables que obtuvieron un valor de $P < 0.05$, en el análisis de regresión logística univariado fueron consideradas para la elaboración de un modelo de regresión logística multivariado, a fin de obtener los efectos de las interacciones entre dichas variables y la variable dependiente (perros infectados a *H. americanum*). Los resultados del análisis multivariado (Tabla 3) mostraron que la infección fue encontrada con tres veces más probabilidades en perros con una condición corporal < 3 que en perros con una condición corporal mayor ($P < 0.05$).

Así también, se observó que la variable que más influyó en la presentación de la infección fue la procedencia del perro. Los perros de zonas rurales presentaron 23 veces más probabilidades de ser infectados con relación a perros de la zona urbana ($P < 0.01$). Finalmente, los perros con un historial de infestaciones de garrapatas presentaron una probabilidad de infección de casi cinco veces más con relación a perros que no presentaron un historial de infestaciones de garrapatas ($P < 0.01$). Ninguna otra variable predictora fue asociada a la infección de *H. americanum* en el análisis de regresión logística multivariado.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Tabla 2.- Análisis univariado para la detección de asociaciones entre las diversas variables evaluadas en los perros y la presencia de *Hepatozoon americanum*.

Variable	Categorías	%	B	EE	Wald	GL	Valor de P	OR	IC 95% para el OR	
									Inferior	Superior
Raza	No puros	12.9	1.38	0.35	15.20	1	0.00*	3.99	1.99	8.02
	Puros	6.7	-	-	-	-	-	0.25	0.12	0.50
CC	<3	12.4	2.30	0.37	37.34	1	0.00*	9.98	4.77	20.87
	>3	7.1	-	-	-	-	-	0.10	0.04	0.21
Edad	<1	4.9	0.73	0.40	3.20	1	0.07	2.08	0.93	4.64
	>1	14.7	-	-	-	-	-	0.48	0.21	1.07
Procedencia	Rural	17.3	3.37	0.50	44.10	1	0.00*	29.35	10.82	79.57
	Urbana	2.3	-	-	-	-	-	0.03	0.01	0.09
Actividad	Caza/pastoreo	4.4	1.04	0.44	5.59	1	0.01*	2.83	1.19	6.73
	Doméstico	15.1	-	-	-	-	-	0.35	0.14	0.83
Género	Macho	14.7	0.95	0.37	6.35	1	0.01*	2.59	1.23	5.45
	Hembra	4.9	-	-	-	-	-	0.38	0.18	0.80
Tamaño	Grande	15.6	1.19	0.40	8.77	1	0.00*	3.29	1.49	7.24
	Chico	4	-	-	-	-	-	0.30	0.13	0.66
Tipo de pelaje	Largo	7.6	0.41	0.35	1.43	1	0.23	1.52	0.76	3.02
	Corto	12	-	-	-	-	-	0.65	0.33	1.30
Color de manto	Oscuros	10.2	0.71	0.34	4.47	1	0.03*	2.05	1.05	3.99
	Claros	9.3	-	-	-	-	-	0.48	0.25	0.94
Historial de garrapatas	No	6.7	1.03	0.37	7.43	1	0.00*	2.8	1.33	5.89
	Si	12.9	-	-	-	-	-	0.35	0.17	0.74
Garrapatas	Si	13.3	-0.12	0.36	0.10	1	0.74	0.88	0.43	1.80
	No	6.2	-	-	-	-	-	1.12	0.55	2.29
Dormitorio	Afuera	18.7	2.44	0.74	10.87	1	0.00*	11.48	2.69	49.01
	Adentro	0.9	-	-	-	-	-	0.08	0.02	0.37

*Variables incluidas en el modelo de regresión logística multivariado. %: Prevalencia de perros positivos a *Hepatozoon americanum* en cada categoría. B: Coeficiente de regresión. EE: Error estándar. Wald: Test de Wald. GL: Grados de libertad. OR: Odds ratio o razón de probabilidades. IC: Intervalo de confianza.

Tabla 3.- Regresión logística multivariada para la identificación de factores asociados a la infección de *Hepatozoon americanum* en perros de la zona Centro del estado de Tabasco.

Variables	Categoría	B	EE	Wald	GL	Valor de P	OR	IC 95% para el OR	
								Inferior	Superior
Raza	No puros	0.64	0.58	1.20	1	0.27	1.89	0.60	5.96
	Puros	-	-	-	-	-	0.52	0.16	1.65
CC	<3	1.07	0.53	3.99	1	0.04*	2.93	1.02	8.44
	>3	-	-	-	-	-	0.34	0.11	0.97
Procedencia	Rural	3.16	0.69	20.59	1	0.00*	23.69	6.03	92.95
	Urbana	-	-	-	-	-	0.04	0.01	0.16
Actividad	Doméstico	0.47	0.62	0.57	1	0.44	1.60	0.47	5.40
	Caza/pastoreo	-	-	-	-	-	0.62	0.18	2.10
Sexo	Macho	0.50	0.48	1.06	1	0.30	1.65	0.63	4.28
	Hembra	-	-	-	-	-	0.60	0.23	1.57
Talla	Grande	0.65	0.54	1.44	1	0.22	1.93	0.66	5.65
	Chico	-	-	-	-	-	0.51	0.17	1.51
Color de manto	Oscuro	0.38	0.46	0.67	1	0.41	1.46	0.58	3.64
	Claro	-	-	-	-	-	0.68	0.27	1.70
Historial de garrapatas	Si	1.55	0.65	5.67	1	0.01*	4.73	1.31	17
	No	-	-	-	-	-	0.21	0.05	0.75
Dormitorio	Afuera	0.10	0.92	0.01	1	0.90	1.11	0.18	6.81
	Adentro	-	-	-	-	-	0.89	0.14	5.49

*Variables estadísticamente significativas a nivel de $P < 0.05$. B: Coeficiente de regresión. EE: Error estándar. Wald: Test de Wald. GL: Grados de libertad. OR: Odds ratio o razón de probabilidades. IC: Intervalo de confianza.

IX.- DISCUSIÓN.

Las especies de *Hepatozoon* son protozoarios que se han reconocido por su capacidad de infectar células sanguíneas de diversas especies de carnívoros como son perros, chacales, zorros, zarigüeyas, coyotes y gatos (Chisu *et al.*, 2023). Como parte de un proyecto para conocer y controlar las enfermedades transmitidas por vectores en el presente estudio se analizaron muestras de sangre de perros domésticos colectados durante 2023 en la Subregión Centro del estado de Tabasco. Los resultados demostraron por primera vez la presencia de *H. americanum* en perros de esta región.

Típicamente, la infección causada por *H. canis* causa alteraciones hematológicas como anemia y trombocitopenia, además de fiebre, dolor muscular, parálisis, anorexia, emaciación, secreción ocular y debilidad de las patas traseras (Chisu *et al.*, 2023). No obstante, la infección por *H. americanum* con frecuencia tienen un inicio más grave, caracterizado por fiebre, mialgia, miastenia y depresión. Los perros suelen presentar anomalías en la marcha y atrofia muscular, con atrofia de los músculos de la cabeza. Además, la mayoría de los perros suelen presentar abundante secreción ocular mucopurulenta. Los animales afectados pueden tener un apetito normal, pero a menudo sufren hiporexia, probablemente debido al intenso dolor asociado con la proliferación ósea perióstica y la miositis que dificultan ponerse de pie y masticar su alimento de forma normal (Rodríguez-Alarcón *et al.*, 2021). A pesar de las condiciones clínicas anteriormente descritas existen perros que no muestran signología clínica que evidencie la infección (Chisu *et al.*, 2023), lo cual dependerá en gran medida de la gravedad de la infección, la susceptibilidad particular de cada individuo y la presencia de otras infecciones, principalmente aquellas transmitidas por garrapatas.

La garrapata de la Costa del Golfo de México *Amblyomma maculatum* ha sido considerada el vector de *H. americanum*. La infección del perro se produce tras la ingestión de garrapatas que albergan ooquistes esporulados de *H. americanum*. Tras la penetración en la mucosa intestinal, los esporozoitos se diseminan

sistémicamente y dan lugar a una extensa multiplicación asexual en células localizadas predominantemente en el músculo estriado. Las células musculares de los perros infectados desarrollan quistes conocidos como de “piel de cebolla”, acompañado de miositis piogranulomatosa (Cummings *et al.*, 2005; Rodríguez-Alarcón *et al.*, 2021).

Otra posible vía de infección hipotetizada es que el perro hubiera cazado una presa que albergara especies infectadas de *Amblyomma* spp o que contuviera citozoitos de *Hepatozoon* spp en sus tejidos, ya que estudios anteriores han sugerido que la depredación es una fuente importante de transmisión de *H. americanum* (Johnson *et al.*, 2009; Carvajal *et al.*, 2012). Otras especies de *Amblyomma* spp podrían ser transmisores del patógeno. En ese sentido, *A. cajennense* y *A. imitator* fueron reportadas parasitando a un perro con hepatozoonosis en México, pero no se demostró la infección de los artrópodos (Carvajal *et al.*, 2012).

Otras especies de garrapatas que experimentalmente han resultado exitosas en la transmisión de *H. americanum* son *Dermacentor variabilis*, *Amblyomma americanum* (Potter & Macintire, 2010). Mientras que en *Rhipicephalus sanguineus* solo existe un reporte exitoso de transmisión experimental (Nordgren & Craig, 1984). Aunque no fue el objetivo del presente estudio, como parte integral del proyecto para el control de enfermedades transmitidas por vectores en el estado de Tabasco, durante el muestreo se colectaron garrapatas de los perros que presentaron infestaciones. En total se colectaron 662 *Rhipicephalus sanguineus* s.l, 80 *Amblyomma maculatum* y cinco *Amblyomma mixtum*. La presencia de *Amblyomma maculatum* infestando perros en zonas rurales donde *H. americanum* fue encontrado, puede explicar la presencia de este patógeno en la zona estudiada. La posterior evaluación de las garrapatas colectadas será base para corroborar la especie de garrapata vector de este patógeno en los perros del área geográfica estudiada.

Diversas variables fueron evaluadas con la finalidad de identificar posibles factores de riesgo asociados a la infección causada por *H. canis* en los perros estudiados. En total, 12 variables fueron evaluadas inicialmente mediante un análisis de regresión logística univariado. Como resultado de este análisis nueve variables (Tabla 2) presentaron una asociación con un valor de $P < 0.05$. Sin embargo, es conocido que las asociaciones simples o univariadas no siempre mantienen esa asociación en modelos multivariados. Estos últimos son considerados modelos más robustos ya que ejemplifican mejor un fenómeno (variable de salida o dependiente), el cual depende de diversos factores (variables predictoras o independientes) y de sus interacciones (Katz, 2007). En ese sentido, con las variables con un valor de $P < 0.05$ se construyó el modelo de regresión logística multivariado. Los resultados mostraron que las variables predictoras condición corporal < 3 , procedencia rural y tener un historial de infestaciones de garrapatas fueron las que explican en el modelo la presencia de perros infectados con *H. americanum*. Respecto a las variables asociadas a la infección, un estudio en Brasil reportó asociación entre la infestación de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y *Amblyomma cajennense* con la infección de *H. canis* en perros clínicamente sanos. Mientras que las zonas (urbana o rural), no presentaron asociación estadística, aunque el bajo número de perros muestreados en ese estudio (92) puede influir directamente en este resultado (Spolidorio *et al.*, 2009).

X.- CONCLUSIONES.

Se registró la presencia de *Hepatozoon americanum* en perros de la Subregión Centro del estado de Tabasco, con una prevalencia de 19.52%. Los factores asociados a la infección fueron perros con una condición corporal menor a tres, de procedencia rural, y con un historial de infestaciones de garrapatas.

Se deberá realizar la detección molecular del patógeno en los artrópodos colectados a fin de identificar el vector de este microorganismo en la zona estudiada.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

XI.- REFERENCIAS CITADAS.

- Acevedo, S. P., Ramírez, M., & Restrepo, R. G., L. (2009). Uveítis y glaucoma asociados a infección por *Hepatozoon canis*: reporte de un caso. *Revista Colombiana de Ciencias Agropecuarias*, 22(3), 9.
- Almeida, A. P., Souza, T. D., Marcili, A., & Labruna, M. B. (2013). Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the Crab-Eating Fox (*Cerdocyon thous*) in Southeastern Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 50(3), 640–646. <https://doi.org/10.1603/ME12272>
- Baneth, G. A. D., Samish, M., Alekseev, E., Aroch, I., & Shkap, V. (2001). Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally-fed or percutaneously-injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Journal of Parasitology*, 87(3), 606–611. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0606:TOHCTD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0606:TOHCTD]2.0.CO;2)
- Cala Delgado, D. L., Noguera Gaona, A. K., Álvarez Rubio, N. C., & Aguinaga, J. Y. (2018). Primeros casos de infección canina con *Hepatozoon canis* en la ciudad de Cúcuta, Colombia . In *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 29, 1562–1570.
- Carvajal, V., Almazán, C., Aguirre-Guzmán, G., Barrón Vargas, C. A., & Fraga Escamilla, E. (2012). Primer informe de hepatozoonosis en un perro de Tamaulipas, México. *Veterinaria México*, 43(1), 71–76. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42323163007>
- Chisu, V., Giua, L., Bianco, P., Masala, G., Sechi, S., Cocco, R., & Piredda, I. (2023). Molecular survey of *Hepatozoon canis* infection in domestic dogs from Sardinia, Italy. *Veterinary Sciences*, 10 (11), 640.
- Coy, C. L., Evans, J. B., Lee, A. M., Dugat, D. R., Levine, J. M., & Griffin, J. F. (2022). American canine hepatozoonosis causes multifocal periosteal proliferation on ct: a case report of 4 dogs. In *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1-8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.872778>
- Cummings, C. A., Panciera, R. J., Kocan, K. M., Mathew, J. S., & Ewing, S. A. (2005). Characterization of stages of *Hepatozoon americanum* and of

- parasitized canine host cells. *Veterinary Pathology*, 42(6), 788–796.
<https://doi.org/10.1354/vp.42-6-788>
- Díaz-Sánchez, A. A., Hofmann-Lehmann, R., Meli, M. L., Roblejo-Arias, L., Fonseca-Rodríguez, O., Castillo, A. P., Cañizares, E. V., Rivero, E. L., Chilton, N. B., & Corona-González, B. (2021). Molecular detection and characterization of *Hepatozoon canis* in stray dogs from Cuba. *Parasitology International*, 80, 102200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102200>
- Edney, A. T., & Smith, P. M. (1986). Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 118(14), 391–396.
<https://doi.org/10.1136/vr.118.14.391>
- Forlano, M. D., Teixeira, K. R. S., Scofield, A., Elisei, C., Yotoko, K. S. C., Fernandes, K. R., Linhares, G. F. C., Ewing, S. A., & Massard, C. L. (2007). Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. from brazilian dogs and its phylogenetic relationship with other *Hepatozoon* spp. *Veterinary Parasitology*, 145(1), 21–30.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.10.023>
- Guevara, M., & Oviedo, R. (2020). Hepatozoonosis canina en Maipú, Mendoza, Argentina. *XXXVII*, 389.
- INEGI. (2025). Instituto Nacional de Estadística y Geografía-INEGI, Mexico.
<http://www.inegi.org.mx>
- Iveli, S., Casas, L., Machuca, M. J. R., Eiras, D. F., & del Amo, A. N. (2015). Poliartritis asociada a hepatozoonosis canina: descripción de un caso. *Analecta Veterinaria*, 35, 25–29. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:85876276>
- Jarquín-Díaz, V. H., Barbachano-Guerrero, A., Maldonado-Rodríguez, R., Vásquez-Aguilar, A. A., & Aguilar-Faisal, J. L. (2016). First molecular evidence of *Hepatozoon canis* in domestic dogs and ticks in fragmented rainforest areas in Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 6, 4–8.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.11.001>
- Johnson, E. M., Panciera, R. J., Allen, K. E., Sheets, M. E., Beal, J. D., Ewing, S. A., & Little, S. E. (2009). Alternate pathway of infection with *Hepatozoon*

- americanum* and the epidemiologic importance of predation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(6), 1315–1318.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0375.x>
- Katz, M. H. (2007). Multivariable analysis: A practical guide for clinicians, 2nd Edition: a practical guide for clinicians. In *Biometrics*, 63, 1).
https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2007.00743_8.x
- Maia, J. P. M. C., Perera, A., & Harris, D. J. (2012). Molecular survey and microscopic examination of *Hepatozoon* Miller, 1908 (Apicomplexa: Adeleorina) in lacertid lizards from the western Mediterranean. *Folia Parasitologica*, 59(4), 241.
- Mateu, E., & Casal, J. (2003). Tamaño de la muestra. *Rev Epidem Med Prev*, 1, 8–14.
- Nasiri, H., Forouzandeh, M., Rasaee, M. J., & Rahbarizadeh, F. (2005). Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 19(6), 229–232. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jcla.20083>
- Nordgren, R. M., & Craig, T. M. (1984). Experimental transmission of the texas strain of *Hepatozoon canis*. *Veterinary Parasitology*, 16(3), 207–214.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-4017\(84\)90038-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-4017(84)90038-4)
- O'Dwyer, L. H. (2011). Brazilian canine hepatozoonosis. In *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* (Vol. 20). scielo .
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Weigl, S., Latrofa, M. S., Stanneck, D., Decapriariis, D., Capelli, G., & Baneth, G. (2011). Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasites & Vectors*, 4(1), 55.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-55>
- Potter, T. M., & Macintire, D. K. (2010). *Hepatozoon americanum*: an emerging disease in the south-central/southeastern United States. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1), 70–76.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00508.x>

- Ramos, C. A. do N., Babo-Terra, V. J., Pedroso, T. C., Souza Filho, A. F., Ribeiro de Araújo, F., & Cleveland, H. P. K. (2015). Molecular identification of *Hepatozoon canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. In *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* (Vol. 24). scielo.
- Rey-Valeirón, C., Trujillo-Silva, L., Martínez, A. C., Ortiz, G., & Sambrano, G. (2012). Determinación de *Hepatozoon canis* mediante PCR en caninos domésticos de La Vela de Coro, Estado Falcón, Venezuela. *Revista Científica*, 22(6), 524–529.
- Rodríguez-Alarcón, C. A., Figueroa-Millán, J. V., Lom-Monárrez, C., Martínez-Baldón, N. G., Martín-Orozco, U., Adame-Gallegos, J. R., Garza-Hernández, J. A., & Beristain-Ruiz, D. M. (2021). First Report of *Hepatozoon* spp. in a Dog at the Paso del Norte Region, US-Mexico. *Southwestern Entomologist*, 45(4), 1039–1044. <https://doi.org/10.3958/059.045.0421>
- Schäfer, I., Müller, E., Nijhof, A. M., Aupperle-Lellbach, H., Loesenbeck, G., Cramer, S., & Naucke, T. J. (2022). First evidence of vertical *Hepatozoon canis* transmission in dogs in Europe. *Parasites & Vectors*, 15(1), 296. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05392-7>
- Soulsby, E. J. L. (1987). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Nueva Editorial Interamericana. <https://books.google.com.mx/books?id=O6MYnQEACAAJ>
- Spolidorio, M., Labruna, M., Zago, A., Donatele, D., Callari, K., & Yoshinari, N. (2009). *Hepatozoon canis* infecting dogs in the State of Espírito Santo, southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 163, 357–361. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.002>
- Sumrandee, C., Baimai, V., Trinachartvanit, W., & Ahantarig, A. (2015). *Hepatozoon* and *Theileria* species detected in ticks collected from mammals and snakes in Thailand. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(3), 309–315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.02.003>
- Thomas, R., Santodomingo, A., & Castro, L. (2020). Molecular detection of *Babesia canis vogeli* and *Hepatozoon canis* in dogs in the department of Magdalena (Colombia). *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 67,

107–122. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v67n2.90701>

Torres-Chable, O., Baak-Baak, C., Cigarroa-Toledo, N., Blitvich, B., Brito-Argaez, L., Alvarado-Kantun, Y., Zaragoza-Vera, C., Arjona-Jimenez, G., Moreno-Perez, L., Medina-Perez, P., Machain-Williams, C., & Garcia-Rejon, J. (2018). Molecular detection of *Dirofilaria immitis* in dogs and mosquitoes in Tabasco, Mexico. *Journal of Vector Borne Diseases*, 55(2), 151–158. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.242563>

México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

XII.- ANEXOS.

Anexo 1. Encuesta epidemiológica aplicada a los propietarios de los perros incluidos en el estudio.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
División Académica de Ciencias Agropecuarias
Medicina Veterinaria y Zootecnia



"Proyecto: Identificación molecular, monitoreo y control de enfermedades zoonóticas transmitidas por vectores en personas y perros de Tabasco"

Fecha:

Numero Folio:

Lugar:

DATOS DEL PERRO			
NOMBRE:	RAZA:	CC(1-5):	Edad:
Procedencia: Urbana [] Rural []	Actividad del perro: Pastoreo [] Caza [] Otro:		
Talla: CH [] M [] G []	Pelaje: Corto [] Medio [] Largo []	Color:	
Visitas al Veterinario: Sí [] No []	Vacunas Sí [] No [] ¿Cuáles? _____	Desparasitaciones: Sí [] No [] Ivermectina [] Otros [] ¿Cuál? _____	
Alimentación: Comercial [] Comida Casera [] Restos [] Otro [] ¿Qué? _____	Convivencia con otros animales: Sí [] No [] Perro [] Gato [] Vaca [] Caballo [] Borrego [] Otro:	Presencia de Ectoparásitos: Sí [] No [] Garrapatas [] Pulgas [] Piojos [] Chinches [] Mosquitos [] Cucarachas [] Roedores []	
Dormitorio del perro: Dentro de casa [] Fuera de casa [] Ambos []			

DATOS DEL LUGAR		
Municipio:	Colonia o poblado:	
Dirección:		
Número de Casa:	Georeferencia:	
Tipo de Zona: Rural [] Sub-urbana [] Urbana []		
Tipo de material de construcción: Concreto [] Madera [] Lámina [] Otro: _____	Fuentes de agua cercanas: Sí [] No [] Río [] Lagunas [] Jagüey [] Otro: _____	Presencia de basura: Sí [] No [] Hojas [] Plásticos [] Llantas [] Cristales [] Otro: _____

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE Hepatozoon spp EN PERROS DOMÉSTICOS DE VILLAHERMOSA TABASCO

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	docplayer.es Internet	105 palabras – 2%
2	repository.lasallista.edu.co Internet	97 palabras – 2%

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

EXCLUIR CITAS ACTIVADO EXCLUIR FUENTES DESACTIVADO
EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA ACTIVADO EXCLUIR COINCIDENCIAS < 50 PALABRAS

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
JEFATURA DE ESTUDIOS TERMINALES

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional

Título de tesis:	Identificación molecular de <i>Hepatozoon</i> spp en perros domésticos de Villahermosa Tabasco.
Autor de tesis:	Faumery Gerdiela Cardiel Baños. Oswaldo Margarito Torres Chablé. Claudia Virginia Zaragoza Vera.
ORCID:	https://orcid.org/0009-0005-5229-3006 https://orcid.org/0000-0001-7482-6663 https://orcid.org/0000-0002-8629-7401
Resumen de tesis:	<p>El objetivo del estudio fue identificar la presencia de <i>Hepatozoon</i> spp en perros de la Subregión Centro del estado de Tabasco, y determinar factores asociados a dichas infecciones. Se recolectaron 297 muestras de sangre de perros y se aplicó una encuesta para recolectar datos como la raza, edad, condición corporal, procedencia, actividad, género, tamaño, color de manto, tipo de pelaje, historial de garrapatas y lugar de dormitorio de los perros. Se realizó extracción de ADN mediante la técnica de Salting-out y se realizó PCR convencional con cebadores para detectar <i>Hepatozoon</i> spp, <i>Hepatozoon canis</i> y <i>Hepatozoon americanum</i>. Se determinó la prevalencia, y las variables colectadas en la encuesta se usaron para construir un modelo de regresión logística binomial, para explicar la presencia o ausencia de perros infectados con un nivel de confianza de 95% usando el software SPSS V22®. El programa calculó los Odds Ratio (OR), y estos se consideraron significativos cuando obtuvieron valores de $P < 0.05$. ADN perteneciente a <i>Hepatozoon</i> spp fue encontrado en muestras de 58 perros (19.52%). Las</p>

	<p>muestras positivas fueron evaluadas empleando cebadores específicos para <i>H. canis</i> y <i>H. americanum</i>. Sin embargo, todas las muestras amplificaron para <i>H. americanum</i> y ninguna amplificó para la especie <i>H. canis</i>. La condición corporal (<3, OR= 2.93, P= 0.04), la procedencia (rural, OR= 23.69, P= 0.00), y un historial de repetidas infestaciones por garrapatas (si, OR= 4.73, P= 0.01) se encontraron asociadas a la infección. Los resultados demostraron por primera vez la presencia de <i>H. americanum</i> en perros de esta región.</p>
<p>Palabras claves de la Tesis:</p>	<p><i>Hepatozoon canis</i>, <i>Hepatozoon americanum</i>, <i>Rhipicephalus sanguineus</i>, vector.</p>
<p>Referencias citadas:</p>	<p>Acevedo, S. P., Ramírez, M., & Restrepo, R. G., L. (2009). Uveítis y glaucoma asociados a infección por <i>Hepatozoon canis</i>: reporte de un caso. <i>Revista Colombiana de Ciencias Agropecuarias</i>, 22(3), 9.</p> <p>Almeida, A. P., Souza, T. D., Marcili, A., & Labruna, M. B. (2013). Novel Ehrlichia and Hepatozoon Agents Infecting the Crab-Eating Fox (<i>Cerdocyon thous</i>) in Southeastern Brazil. <i>Journal of Medical Entomology</i>, 50(3), 640–646. https://doi.org/10.1603/ME12272</p> <p>Baneth, G. A. D., Samish, M., Alekseev, E., Aroch, I., & Shkap, V. (2001). Transmission of <i>Hepatozoon canis</i> to Dogs by Naturally-Fed or Percutaneously-Injected <i>Rhipicephalus sanguineus</i> Ticks. <i>Journal of Parasitology</i>, 87(3), 606–611. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0606:TOHCTD]2.0.CO;2</p> <p>Cala Delgado, D. L., Noguera Gaona, A. K., Álvarez Rubio,</p>

	<p>N. C., & Aguinaga, J. Y. (2018). Primeros casos de infección canina con <i>Hepatozoon canis</i> en la ciudad de Cúcuta, Colombia. In <i>Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú</i> (Vol. 29, pp. 1562–1570). scielo.</p> <p>Carvajal, V., Almazán, C., Aguirre-Guzmán, G., Barrón Vargas, C. A., & Fraga Escamilla, E. (2012). Primer informe de hepatozoonosis en un perro de Tamaulipas, México. <i>Veterinaria México</i>, 43(1), 71–76. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42323163007</p> <p>Chisu, V., Giua, L., Bianco, P., Masala, G., Sechi, S., Cocco, R., & Piredda, I. (2023). Molecular Survey of <i>Hepatozoon canis</i> Infection in Domestic Dogs from</p>
--	--

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.