

Parasitación por *Babesia canis* en Galicia.

Un estudio analítico llevado a cabo sobre 213 perros, infectados por el piroplasma *Babesia canis* en Galicia durante el año 1996, sugiere que una intensa anemia hemolítica regenerativa junto con una trombocitopenia son las características constantes de la infección, además de observarse en algunos casos una evolución a insuficiencia renal.

Palabras clave: *Babesia canis*; Anemia hemolítica; Enfermedad renal; Infección natural.
Rev. AVEPA, 23 (1): 50-53, 2003

A.T. Camacho¹, E. Pallas²,
J.J. Gestal³, F.J. Guitián¹,
A.S. Olmeda⁴.

¹ Laboratorio Lema & Bandin.

c/ Lepanto, 5, bajo.

36201 Vigo.

² Servicio de Otorrinolaringología.

Hospital Xeral-Cies.

c/ Pizarro.

36203 Vigo.

³ Departamento de Medicina Preventiva y

Salud Pública.

Hospital Clínico Universitario.

A Choupana.

15706 Santiago de Compostela.

⁴ Departamento de Patología Animal I.

Facultad de Veterinaria.

Universidad Complutense.

Avda. Puerta de Hierro s/n.

28040 Madrid.

Introducción

La babesiosis es una enfermedad parasitaria de los mamíferos domésticos y silvestres producida por protozoos del género *Babesia*^{1, 2}. Estos son pequeños parásitos localizados en el interior de los hematíes del hospedador, y que, taxonómicamente se encuentran dentro del Phylum *Apicomplexa*, Clase *Sporozoea*, Orden *Piroplasmida*, Familia *Babesiidae*³⁻⁵.

Ha sido tradicionalmente asumido que las únicas especies que causan enfermedad en la especie canina son *Babesia canis* y *Babesia gibsoni*, pero dos recientes publicaciones^{6, 7} demuestran que un diferente piroplasma (provisionalmente denominado *Theileria annae*) puede también parasitar a perros. Estas observaciones introducen un enorme cambio en nuestro conocimiento de la epidemiología de los piroplasmas en la especie canina.

Babesia canis, con una forma claramente piriforme y de gran tamaño, con medidas de 5 µm de largo y 2,5-3 µm de ancho, se divide por fisión binaria de forma continua, dando lugar a la aparición de múltiples merozoitos intraeritrocitarios⁸, hasta un número máximo de 16. La enfermedad es endémica en países de clima tropical y subtropical; la situación geográfica de Galicia, con un entorno fresco y húmedo apropiado para la supervivencia de los ixodidos⁹⁻¹¹, hacen que esta zona presente un especial riesgo para la presencia de casos clínicos de babesiosis.

O

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo durante el año 1996 a partir de 213 muestras/animales en los que se visualizó una babesia con características morfológicas compatibles con *Babesia canis*. Todas las muestras/animales procedían de Galicia, y fueron remitidas por 48 clínicas veterinarias de ámbito rural y urbano ante la sospecha de un cuadro clínico compatible con babesiosis.

Los datos hematológicos, bioquímicos y demográficos básicos de estos perros fueron recogidos y segundas o subsecuentes muestras del mismo animal fueron excluidas. Los recuentos hematológicos fueron hechos en un contador automático (STKS-2 VCS; Coulter) y las extensiones de sangre periférica teñidas con verde azul cresil brillante para el recuento de los reticulocitos y Giemsa para la observación directa del parásito como describe Nelson y Morris¹². Un animal se consideró infectado cuando formas intraeritrocíticas piriformes, en parejas, fueron observadas microscópicamente en las extensiones de sangre periférica teñidas con Giemsa (Fig. 1). En cada caso el nivel de parasitemia fue definido subjetivamente como bajo, moderado o alto. Todas las muestras fueron examinadas por la misma persona. Los tests bioquímicos fueron llevados a cabo en un autoanalizador bioquímico (CL-7200; Shimadzu).

En el estudio estadístico descriptivo se calcularon las medidas de centralización (media), de dispersión (desviación estándar), rango y percentiles 10th, 50th y 90th para las va-



Fig. 1. Extensión de sangre periférica en la cual se observan numerosos parásitos intraeritrocitarios ($\times 1000$).

riables cuantitativas y para las cualitativas, la frecuencia para cada una de las categorías. Para el estudio estadístico se utilizó el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS. Versión 8.0).

Se han tenido en cuenta los aspectos éticos de investigación en animales en base a los criterios del programa El (*Aspectos Éticos en Investigación*), incluido dentro del programa *GlaxoWellcome C4-SDP*.

Resultados

En la Tabla I se presentan las características hematológicas y bioquímicas junto con diversos datos epidemiológicos de los 213 casos de *Babesia canis*.

Las muestras fueron recibidas de 48 clínicas, todas ellas localizadas en Galicia, noreste de España. La edad de los animales estudiados osciló entre los dos meses y los 13 años, 131 (61,5%) fueron machos y 82 (38,5%) hembras, y con respecto a la procedencia, 116 (54,5%) vivían en áreas urbanas y 97 (45,5%) en áreas rurales en el momento del diagnóstico.

Los parámetros hematológicos muestran una anemia acusada junto con una trombocitopenia constante. Todo ello se refleja en unos valores medios de hemáties de $3,92 \times 10^{12}/L$, 92 gr/L de hemoglobina, 26,4% de hematocrito y $22,0 \times 10^9/L$ plaquetas.

Entre los datos bioquímicos lo más destacable es lo referente a la función renal. Aunque los niveles de urea y creatinina fueron normales en la mayoría de los casos, con unos niveles medios de urea y creatinina de 7,42 mmol/L y 79,47 $\mu\text{mol}/L$ respectivamente, en un 3,7% de los casos se observó una clara insuficiencia renal (urea: 48,2 mmol/L y creatinina: 201 $\mu\text{mol}/L$). En cuanto al resto de parámetros bioquímicos alterados, destaca la elevación de los parámetros de la función hepática AST (77,2 U/L), ALT (71,7 U/L) y bilirrubina total (66,0 $\mu\text{mol}/L$).

Tabla I. Estadística descriptiva de las variables estudiadas en 213 perros parasitados por el piroplasma *B. canis* (1996).

Parámetros (rango normal de referencia y unidades)	N	Media (sd)	Percentil			
			Rango	10th	50th	90th
Nivel de parasitemia	213					
Bajo	65					
Moderado	93					
Alto	55					
Edad (años)	213	2,41 (4,02)	0,2-13	0,30	1,10	7,5
Leucocitos ($6,0-17,0 \times 10^9/L$)	213	8,02 (9,23)	3,2-71	5,3	7,9	25,7
Hemáties ($5,5-8,5 \times 10^{12}/L$)	213	3,92 (2,6)	0,61-7,10	1,6	3,6	4,6
Reticulocitos (0,5-1,5 per cent)	213	2,71 (2,9)	1-8	2,9	3,1	7
Hemoglobina (120-180 g/L)	213	92 (30,35)	18,2-156	21,2	88	125
Hematocrito (37,0-55,0 per cent)	213	26,4 (9,63)	7-46	5,1	22,1	34,3
Índice distribución hemáties (RDW) (< 15,0 per cent)	213	16,1 (4,8)	11-33	12,4	17,3	26,8
Plaquetas ($120-500 \times 10^9/L$)	213	22,0 (35,1)	6-184	7,2	19,8	99,4
Glucosa (3,44-6,00 mmol/L)	213	5,32 (4,22)	1,02-15,3	2,92	5,10	6,30
Urea (3,16-9,16 mmol/L)	213	7,42 (16,7)	1,95-85,7	3,88	7,02	48,2
Creatinina (44,2-141,4 $\mu\text{mol}/L$)	213	79,47 (42,3)	29,3-525	41,9	70,8	201
Aspartato aminotransferasa (AST) (8-57 U/L)	213	77,2 (61)	5-459	17,3	62,8	161
Alanina aminotransferasa (ALT) (8-48 U/L)	213	71,7 (55)	8-547	19,8	57,6	246
γ -Glutamyltransferasa (GGT) (5-16 U/L)	213	5,5 (4,60)	1-44	2,6	5,1	16,7
Fosfatasa alcalina (AP) (10-120 U/L)	213	206 (402)	59-1589	74	144	702
Creatinquinasa (CK) (14-120 U/L)	213	333 (98)	155-702	201	302	520
Lactato deshidrogenasa (LDH) (65-149 U/L)	213	357 (189)	95-1140	187	365	802
Amilasa (270-1462 U/L)	213	1516 (652)	77-4468	702	1498	3210
Lipasa (<200 U/L)	213	160 (101)	35-571	47,2	151	304
Proteínas totales (55-75 g/L)	213	54,7 (8,2)	39-77	48,7	51,9	68,4
Albumina (23-34 g/L)	213	24,6 (3,8)	17-40	19,5	25,8	33,2
Acido úrico (0,01-0,05 mmol/L)	213	0,09 (0,06)	0,04-0,11	0,02	0,08	0,10
Colesterol (3,02-6,60 mmol/L)	213	5,60 (3,57)	1,93-12,64	3,40	5,53	9,66
Bilirrubina total (1,71-10,2 $\mu\text{mol}/L$)	213	66,0 (9,12)	18,8-277	27,7	60,1	143,6
Triglicéridos (0,11-1,32 $\mu\text{mol}/L$)	213	0,95 (1,14)	0,17-13,02	0,31	0,77	2,02

Discusión

Los resultados de este estudio muestran el elevado número de perros que viven en el noroeste de España que están infectados por el piroplasma *Babesia canis*. Estos resultados no son compatibles con una infección esporádica y sugieren que es endémica entre la población canina. Sin embargo, se deberían realizar estudios epidemiológicos diseñados formalmente para definir la dinámica poblacional de la infección y el papel de los posibles vectores.

Los resultados muestran que la infección por este parásito causa enfermedad severa en perros. Aunque no fue hecha una comparación formal con el grupo de no infectados, los valores del recuento de hematíes, hematocrito y hemoglobina de los 213 perros sugieren claramente que una anemia intensa fue una característica constante de la infección. La anemia causada por el parásito tenía claras características regenerativas como lo indican los altos valores del recuento reticulocitario y el elevado índice de distribución de hematíes (RDW, anisocitosis). La normalidad en la serie blanca es un hallazgo que está de acuerdo con las observaciones hechas por Pagés y Trouillet¹³. Sin embargo, con respecto al hallazgo de una trombocitopenia prácticamente constante, puede en algunos casos estar supervalorada por la presencia de agregados plaquetarios en las extensiones de sangre periférica. Una hipótesis para explicar la presencia de agregados plaquetarios podría ser la causada por el anticoagulante EDTA que contienen los tubos de recuento hematológico, origen de *pseudotrombopenias* en los recuentos citométricos¹⁴.

Los valores correspondientes a la urea y creatinina en el percentil 90th muestran la escasez de casos de afectación renal hallados en esta forma de babesiosis, que contrasta con la nefropatía causada por otras formas de piroplasmosis (formas *Babesia microti*-like) encontradas en nuestra comunidad en la especie canina⁷. El origen del daño renal parece estar en relación con la congestión de los capilares interlobulares y la degeneración del epitelio tubular a causa de la intensa hemoglobinuria, mucho más intensa en las formas *Babesia microti*-like⁷.

El aumento de las enzimas hepáticas (AST, ALT) podría estar en consonancia no tanto con la afectación hepática descrita por otros autores (necrosis centrolobulillar con colestasis)¹⁵, sino con la afectación muscular (temblores, mialgias, atonías musculares), de observación clínica frecuente en estos casos de *Babesia canis*, que sería corroborada por el comportamiento de la enzima creatininfosfoquinasa (CK). Por otra parte, aunque los valores de fosfatasa alcalina (AP) se encuentran elevados, esta hidrolasa es poco representativa de signos de colestasis, ya que se encuentra presente en el hueso y dado que la mayoría de los perros afectados son perros jóvenes, esta elevación podría considerarse fisiológica.

Por último, deberían ser interpretados con precaución los niveles de bilirrubina en suero, ya que la aparente contradicción entre la marcada anemia hemolítica y la moderada elevación de los niveles de bilirrubina total en suero podría ser explicada por la interferencia entre el método de Jendrassik para la medida de la bilirrubina y la presencia de hemoglobina en el suero, que produce falsos resultados por defecto^{16, 17}.

Title: Parasitic infection by *Babesia canis* in Galicia, Spain.

Summary: Babesiosis is a zoonotic disease of worldwide distribution caused by tick-borne protozoan organisms of the genus *Babesia*. Galicia, in the NW of Spain, has a fresh and humid climate that creates the appropriate environment for the ixodidae and, thus, is a high-risk area. This study presents a series of 213 cases of diseased dogs infected by *Babesia canis* seen in 48 urban and rural veterinary clinics in Galicia during 1996. Dogs were regarded as infected when piriform-shaped organisms were seen in pairs within their erythrocytes on a Giemsa-stained peripheral blood smear. Blood cell counts and serum chemistry were done using an automated counting instrument (STKS-2 VCS; Coulter) and a biochemistry autoanalyser (CL-7200; Shimadzu). Red blood cell, haematocrit, haemoglobin and platelet values of the 213 dogs clearly suggested that a severe haemolytic and regenerative anaemia together with a thrombocytopaenia were the constant features of the infection. These were the mean values: 3.92×10^{12} rbc/L, 92 gr of haemoglobin/L, haematocrit of 26.4 % and 22.0×10^9 platelets/L. On the other hand, serum chemistry results showed that a 3.7% of the dogs developed a clear renal failure (mean urea: 48.2 mmol/L and mean creatinine: 201 μ mol/L). These results reveal that a great number of dogs living in the NW of Spain are infected by the piroplasm *Babesia canis*. These results are not compatible with a naturally occurring infection and, therefore, are suggestive of an endemic disease within the canine population.

Key words: *Babesia canis*, Haemolytic anaemia, Renal failure, Natural infection.

Bibliografía

1. Kuttler KL. World-wide impact of babesiosis. *En: Ristic M. (Ed): Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, 1988: 1-22.*
2. Van Heerden J. The transmission of *Babesia canis* to the wild dog *Lycaon pictus* (temmick) and blackbacked jackal *Canis mesomelas* Schreber. *J South Afr Vet Assoc* 1980; 51: 119-120.
3. Levine N. Taxonomy of the piroplasms. *Trans Amer Micros Soc* 1971; 90: 2-23.
4. Barnett SF. Theileria. *En: Kreier J. (Ed): Parasitic Protozoa (IV), Academic Press Inc. New York, 1977: 22-36.*
5. Britschwerdt E. Babesiosis. *En: Green CE. (Ed): Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat, Saunders. Philadelphia, 1984: 796-804.*
6. Zahler M, Rinder H, Schein E, Gothe R. Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. *Vet Parasitol* 2000; 89: 241-248.
7. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitián FJ, Olmeda AS, Goethert HK, Telford 3rd SR. Infection of dogs in north-west Spain with a *Babesia microti*-like agent. *Vet Rec* 2001; 18: 552-555.
8. Purnel RE. Babesiosis in various hosts. *En: Ristic M & Kreier JP. (Ed): Babesiosis, Academic Press Inc. New York, 1981: 25-63.*
9. Gascón M. Enfermedades transmitidas por garrapatas. Babesiosis canina. *Canis et Felix* 1995; 18 (4): 48-57.
10. Barral M, García Pérez AL, Juste RA, Fernández de Luco D, Dehesa V. Distribución y actividad de los Ixodidos presentes en la vegetación de la Comunidad Autónoma Vasca. Informe técnico N° 54 DL VI-792. Servicio general de Publicaciones del Dpto. de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco, SIMA (Derio) 1993; 7-11.
11. López J. Tres enfermedades transmitidas por garrapatas. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales* 1994; 14 (2): 119-128.
12. Nelson DA, Morris MW. Basic examination of blood. *En: Henry JB. (Ed): Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Saunders. Philadelphia, 1996: 549-593.*
13. Pagés JP, Trouillet JL. Thrombocytopenie dans la babesiosis du chien. A propos de 135 observations. *Prac Medical Chirurg* 1984; 19: 222-227.
14. Lippi U, Schinella M, Modena N, Nicoli M. Unpredictable effects of K3 EDTA on human platelet volume. *Am J Clin Pathol* 1987; 87: 391-393.
15. Wozniak EJ, Barr BC, Thomford JW, Yamane I, McDonough SP, Moore PE, Naydan D, Robison TW, Conrad PA. Clinical, anatomic and immunopathologic characterization of *Babesia gibsoni* infection in the domestic dog (*canis familiaris*). *J Parasitol* 1997; 83 (4): 692-699.
16. Caraway WT, Kammeyer CW. Chemical interference by drugs and other substances with clinical laboratory test procedures. *Clin Chim Acta* 1972; 41: 395.
17. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitián FJ, Olmeda AS. *Babesia canis* infection in a splenectomized dog. *Bull Soc Pathol Exot* 2001; 94 (1): 1-3.