

## INTENTO DE AISLAMIENTO DE BABESIA MICROTI DE HUMANOS POSITIVOS A MALARIA\*

Rafael Medina O., MV\*\*  
Gregorio Rojas M., MV\*\*\*  
Mario Pérez P., MVZ, MSc\*\*\*\*

### RESUMEN

La babesia humana se ha considerado como la zoonosis más reciente en zonas tropicales y subtropicales del mundo. El frotis sanguíneo muestra predominantemente formas anilladas intraeritrocíticas tan parecidas a las del *Plasmodium falciparum* que muchos casos se han confundido inicialmente con malaria y han sido tratados como tales. Los pacientes infectados con *Babesia microti* generalmente exhiben una presentación gradual de fiebre, fríos, sudoración, mialgia, anemia hemolítica, ictericia, falla renal y muerte. Por carecer de antígeno de *Babesia microti*, se inocularon intraperitonealmente 112 hamster esplenectomizados, con sangre humana de pacientes positivos a infección por *Plasmodium falciparum*. Los pacientes infectados con este organismo provenían de zonas endémicas tanto para babesiosis de los animales domésticos como para malaria de humanos. Los hamster fueron observados durante 30 días después de la inoculación por medio de frotis sanguíneos realizados dos veces por semana y coloreados con Giemsa. No se observó *Babesia microti* en ninguno de los hamster inoculados pero no descarta la posibilidad de babesiosis humana en Colombia.

---

\* Parte del trabajo dirigido presentado por los primeros autores para optar al título de Médico Veterinario. Fac. Med. Vet. y de Zoot. U. Nal. de Colombia.

\*\* y \*\*\* Ejercicio particular.

\*\*\*\* Profesor asistente, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.

## INTRODUCCION

La literatura sobre babesiosis humana ha sido revisada recientemente<sup>(12)</sup>. La babesiosis humana, transmitida por garrapatas y a través de transfusiones sanguíneas, es la zoonosis más reciente reportada en países tropicales y subtropicales.

El primer caso de babesiosis humana fue reportado en 1957 en Yugoslavia<sup>(15)</sup> y desde entonces se han reportado más de 100 casos que incluyen personas esplenectomizadas y a quienes se les ha diagnosticado infección por *Babesia divergens*, *Babesia bovis*, babesiosis de origen equino, y a la mayoría de ellos *Babesia microti* (*B. Gray*) cuyos reservorios son roedores<sup>7</sup>.

Los estudios de la babesiosis en los animales domésticos indican que por cada caso clínicamente demostrable hay varios cientos de infecciones latentes<sup>(13)</sup>.

Los primeros casos reportados de *Babesia microti* fueron diagnosticados inicialmente como infecciones por *Plasmodium falciparum* debido a que estos organismos son muy similares morfológicamente cuando aparecen las formas "anilladas" de los trofozoitos y gametocitos<sup>(1-4-7)</sup>.

Algunas especies de *Babesia* se confunden fácilmente con el *Plasmodium falciparum*. La diferenciación morfológica es muy difícil, especialmente para personas no familiarizadas con las formas de *Babesia*, a más de que los trofozoitos jóvenes de estos dos organismos son muy similares<sup>(16)</sup>.

La babesiosis se debe sospechar en pacientes con parásitos intraeritrocíticos atípicos de malaria que no constituyen pigmento y no producen esquizontes o gametocitos circulantes<sup>16</sup>, los cuales no se observan en pacientes con *Babesia microti*. La morfología de la *Babesia* puede variar desde simples puntos grandes de cromatina hasta anillos, formas curvas, rectas, bastones, variedades piriformes, ameboides y a veces divergentes. Normalmente, en las infecciones por *Plasmodium falciparum* sólo se observan en la sangre periférica formas anilladas de los trofozoitos y gametocitos. La morfología, la ausencia del pigmento hemozoina, la historia de picadura de garrapatas y la transmisión del organismo a animales esplenectomizados susceptibles, serían criterios para la identificación y aislamiento de la *Babesia microti*<sup>(7)</sup>.

## MATERIALES Y METODOS

Se usaron 112 hamster adultos de diferente sexo y edad, previamente esplenectomizados bajo anestesia general con pentotal sódico al 5% en dosis de 0.15 a 0.20 cc intraperitonealmente.

### Inoculación

Cada hamster fue inoculado intraperitonealmente con 2 cc de sangre tomada con anticoagulante, de pacientes positivos a *Plasmodium falciparum* que provenían de varias zonas de los Llanos Orientales del país.

El 85% de las muestra fueron inoculadas directamente a los hamster en la ciudad de Villavicencio; inmediatamente se diagnosticó el *Plasmodium falciparum* a los pacientes llegados del Llano al centro de salud local.

Los hamster fueron luego transportados a Bogotá para su observación en el Instituto Nacional de Salud.

El resto de las muestras fueron tomadas de pacientes remitidos desde diferentes sitios del país al Instituto Nacional de Salud de Bogotá.

El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y la inoculación a los hamster nunca fue mayor de una hora. Para la inoculación de la sangre se esperó un mínimo de 10 días después de la esplenectomía de los hamster.

### **Toma de muestras**

A cada hamster se le hizo toma seriada de sangre por punción cardiaca, dos veces por semana durante un mes después de la inoculación. Se humedeció una jeringa de tuberculina en EDTA y se extrajeron 0.5 cc de sangre para ser extendido y gota gruesa en lámina. Como colorante se usó Giemsa y las láminas coloreadas se observaron al microscopio.

### **Localización y climatología**

Las muestras de sangre para la inoculación de los hamster se tomaron de pacientes humanos que llegaban a consulta al Instituto Nacional de Salud de Bogotá y al Servicio de Erradicación de Malaria en Villavicencio y a quienes se les diagnosticaba infección por *Plasmodium falciparum*.

Los Llanos Orientales son zona endémica de malaria, y la babesiosis de origen animal podría considerarse enzoótica lo mismo que la infestación por garrapatas.

## **RESULTADOS**

No se observaron trofozoitos de *Babesia microti* ni algún otro hematozoario en ninguno de los hamster inoculados con sangre de pacientes humanos positivos a *Plasmodium falciparum*.

## **DISCUSION**

El hecho de no haber encontrado *Babesia microti* en los hamster esplenectomizados e inoculados con sangre de pacientes humanos positivos a *Plasmodium falciparum* no implica que esta zoonosis no exista en Colombia. Las infecciones humanas y subclínicas por *Babesia* pueden ser frecuentes en áreas endémicas de babesiosis bovina, equina, canina y de roedores (13).

La verdadera incidencia y la distribución geográfica de la babesiosis humana no puede determinarse con base en las muestras al azar representadas en los pocos casos esporádicos reportados hasta el presente.

Como hay pocos lugares en el mundo libres de babesiosis animal, se puede esperar que estudios sistemáticos revelen que las infecciones humanas son de presentación frecuente en áreas enzoóticas<sup>(14-2)</sup>.

En un estudio serológico realizado en México<sup>(11)</sup> en una zona rural donde la babesiosis animal se considera endémica, se encontró *Babesia microti* en 3 de los 38 individuos que reaccionaron a la prueba directa de la hemaglutinación, con títulos de 1:10 a 1:80.

Por inmunofluorescencia se encontró en la población rural de Taiwan, positividad a antígenos de *Babesia microti* en un 0.5% de la población examinada<sup>(8)</sup>.

También se encontró una incidencia de 4.4% en 136 personas examinadas en Shelter Island, New York<sup>(2)</sup>.

Estudios serológicos hechos en Oklahoma por medio de la prueba de fijación de complemento revelaron títulos altos de anticuerpos contra *Babesia microti* en dos de 39 personas<sup>(8)</sup>.

No se puede descartar la posibilidad de que la babesiosis humana exista en Colombia y que aún no haya sido diagnosticada. Algunas especies de *Babesia* se confunden fácilmente con el *Plasmodium falciparum*. La diferenciación morfológica es muy difícil, especialmente para personas no familiarizadas con las formas de la *Babesia*<sup>(16)</sup>.

Además, es necesario tener en cuenta que Colombia como país tropical es una zona endémica para babesiosis, así como el gran riesgo de la población rural a la picadura de garrapatas especialmente en el género *Amblyoma*.

Como lo afirman Healy y Spielman<sup>(6)</sup> es posible que la cepa virulenta de *Babesia microti* se extienda hacia el Atlántico Sur por medio de garrapatas infectadas a través de la migración de aves. También existe el riesgo de la transmisión a través de transfusiones sanguíneas como lo han confirmado varios autores<sup>(5-9-10-17)</sup>.

De existir la enfermedad en Colombia se desconocen los huéspedes roedores naturales, así como las garrapatas vectoras y para ello deberían iniciarse estudios al respecto. Así mismo, es necesario realizar estudios para obtener el antígeno indispensable para el análisis serológico de poblaciones rurales en sitios endémicos para babesiosis y malaria en el país.

La información epidemiológica sería útil en confirmar la sospecha en que un caso de malaria por *Plasmodium falciparum* podría ser babesiosis<sup>(16)</sup>.

En Colombia existen cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a la cloroquina<sup>(3)</sup> debido quizás a su continua administración o a la automedicación con dosis subcurativas. La resistencia del *Plasmodium falciparum* a la combinación de sulfa-pirimetamina, reportada por los mismos autores<sup>(3)</sup> en tres pacientes procedentes de San José del Guaviare y del Valle del Ariari, hace sospechar de la posibilidad de una babesiosis en vez de malaria.

## SUMMARY

Human babesiosis has been considered as the most recent zoonosis in tropical and subtropical areas of the world. The blood smear predominantly shows intraerythrocytic ring forms that resemble those of *Plasmodium falciparum* so closed that many cases have first been mistaken for malaria and treated accordingly. Patients infected with *Babesia microti* usually

present with a gradual onset of fever, chills, sweating, myalgia, hemolytic anemia, jaundice, renal failure and death. Lacking the *Babesia microti* antigen, 112 splenectomized hamsters were inoculated intraperitoneally with human blood infected with *Plasmodium falciparum*. The patients infected with this organism were from endemic areas both for babesiosis in domestic animals and for malaria in human beings.

After inoculation the hamsters were observed for a period of 30 days by Giemsa stained blood smears taken twice a week. *Babesia microti* was not observed in any of the inoculated hamsters but it can not be said that human babesiosis does not exist in Colombia.

### AGRADECIMIENTOS

- Al doctor Carlos A. Espinal, Jefe del Grupo de Malaria, Instituto Nacional de Salud, Bogotá.
- Al doctor Moisés Capera L., Jefe Bioterio de Producción, Instituto Nacional de Salud, Bogotá.
- Al doctor Alfonso Núñez B., Jefe Bioterio Experimentación, Instituto Nacional de Salud, Bogotá.
- Al doctor Federico Meden M., Director Estación Biología Tropical, Instituto Roberto Franco, Universidad Nacional, Villavicencio.
- Al personal del Grupo "SEM", Villavicencio.
- Al instituto Nacional de Salud por su contribución DIRPA/005/82.

### REFERENCIAS

1. Callow, L.L., and H.M.D. Hoyte. Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*, *Borrelia* sp., and the cattle tick *Boophilus microplus*. Austral. Vet J. 37:381-390. 1961.
2. Chisholm, E.S., Ruebush, T.K., Sulzer, A.J., and G.R. Healy. *Babesia microti* infection in man: evaluation of an indirect immunofluorescent antibody test. Am. J. Trop. and Hyg. 27:14-19. 1978.
3. Espinal, C.A., Uribe, L.M., Eslava, A. y M.E. Rodríguez. Resistencia del *Plasmodium falciparum* a la combinación de sulfa-pirimetamina. Descripción de los tres primeros casos en Colombia. Biomédica. 1:213-217. 1981.
4. Fritzpatric, J.E.P., Kennedy, C.C., McGeown, M.G., Oreopoulos, D.G., Robertson, J.H., and M.A. Soysnwo. Further details of third recorded case of redwater (babesiosis) in man. Brit. Med. J. 4:770-772. 1969.
5. Grabowski, E.F., Giardina, P.J.V., Goldberg, D., Masur, H., Read, S.E., Hirsch, R.L., and J.L. Benach. Babesiosis transmitted by transfusion of frozen-thawed blood. Ann. Int. Med. 96:466-467. 1982.
6. Healy, G.R, and A. Spielman. Human babesiosis. Science. 195:506-507. 1977.

7. Healy, G.R., Spielman, A., and N. Gleason. Human babesiosis: reservoir of infection on Nantucket Island. *Science*. 192: 479-480. 1976.
8. Hoare, C.A. Comparative aspects of human babesiosis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 74: 143-152. 1980.
9. Jacoby, G.A., Hunt, J.V., Kosinski, K.S., Demirjian, Z.N., Huggins, C., Etkind, P., Marcus, L.C., and A. Spielman. Treatment of transfusion transmitted babesiosis by exchange transfusion. *N. England J. Med.* 303: 1098-1100. 1980.
10. Marcus, L.C., and J.M. Valiogorsky. A case report of transfusion induced babesiosis. *JAMA*. 248: 465-467. 1982.
11. Osorno, B.M. Public health importance of babesiosis. XX World Veterinary Congress. Thessaloniki, Greece. 1975.
12. Perez, P.M. Babesiosis humana (Fiebre de Nantucket). *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 37 (1): 26-37. 1984.
13. Ristic, M., Conroy, J.D., Siwe, S., Healy, G.R., Smith, A.R., and D.L. Huxsoll. *Babesia* species isolated from a woman with clinical babesiosis. *Am. J. Trop. Med.* 20:14-22. 1971.
14. Ruebush, T.K., Juranek, D.D.D., Chisholm, E.S., Snow, P.C., Healy, G.R., and A.J. Sulzer. Human babesiosis on Nantucket Island. Evidence of self-limited and subclinical infections. *N. England J. Med.* 297:825-827. 1977.
15. Skrabalo, Z., and Z. Deanovic. Piroplasmosis in man. Report on a case. *Doc. Medic. Geogra. et Trop.* 9:11-16. 1957.
16. Western, K.A., Benson, G.D., Gleason, N.N., Healy, G.R., and M.G. Schultz. Babesiosis in a Massachusetts resident. *N. England J. Med.* 283:854-856. 1970.
17. Wittner, M., Rowin, K.S., Tanowitz, H.E., Hobbs, J.F., Saltzman, S., Wenz, B., Hirsch, R., Chisholm, E., and G.R., Healy. Successful chemotherapy of transfusion babesiosis. *Ann. Int. Med.* 96:601-604. 1982.

## CARACTERISTICAS PATOLOGICAS

En la enfermedad glomerular, los neutrófilos se hacen presente muy temprano y permanecen allí subsecuentemente. También se observan hiperplasia e hipertrofia de las células mesangiales, muy temprano en el curso de la enfermedad. En secciones histológicas se observan masas de material homogéneo, irregular, eosinofílico, dentro del mesangio. Estas masas se tiñen con anticuerpos contra globulina de cerdo marcadas con fluoresceína, pero no se tiñen con anticuerpo contra el virus igualmente marcado con el fluorocromo. En secciones histológicas ultradelgadas, se encuentra que el material es electrodensó y se deposita primero entre el mesangio glomerular, a lo largo de las células epiteliales de la membrana basal. Las células epiteliales de los procesos pediculados, se encuentran afectadas en casos más avanzados. Se observan cambios marcados en la membranas basales y en el subendotelio, solamente después de la destrucción de la arquitectura glomerular por fibrina, proteínas precipitadas del plasma y neutrófilos. La acumulación de células linfoides en forma perivascular e intersticial puede ser marcada. En los espacios intertubulares, estas células son generalmente células plasmáticas, mientras que en los espacios perivacuolares e intratubulares son linfocitos, células más pequeñas con pocas organelas en su citoplasma.

Nuestra interpretación de los mecanismos involucrados en el daño renal, incluye los siguientes<sup>(1)</sup>: daño directo producido por la replicación del virus en los tejidos renales, lo que causa necrosis de los glomérulos individuales y de las células tubulares, y un edema marcado de las células endoteliales. El antígeno viral, visto por inmunofluorescencia, está presente tanto en la forma aguda como en la forma crónica de la enfermedad<sup>(4)</sup>. La inhibición o la falla para el procesamiento de tales macromoléculas como polímeros de fibrina e intermediarios de la coagulación, por parte del mesangio glomerular (superimpuesto sobre un defecto generalizado del sistema reticuloendotelial, debido a la infección viral sistémica) causa su acumulación en el mesangio renal<sup>(9)</sup>. Los complejos antígeno-anticuerpo que involucran los antígenos del virus de la peste porcina en las células afectadas, más la fijación de complemento, es la causa de la acumulación de neutrófilos, la liberación de enzimas lisosomales y la destrucción de los glomérulos. El depósito de complejos circulantes, también podría estar involucrado<sup>(7)</sup>. Cambios necróticos en el vaso vasorum de las arteriolas y arterias causan la degeneración de la pared vascular con la acumulación no específica de fibrinógeno, globulina, albumina y otras sustancias<sup>(8)</sup>. Las reacciones de inmunidad celular que involucran linfocitos y células infectas, se manifiestan por la acumulación de linfocitos perivacuolares y su migración a las células tubulares infectadas.

## ETIOLOGIA

El virión de la peste porcina tiene entre 40-50 nm. su genoma está constituido por RNA y causa enfermedad solamente en cerdos. El virus se replica en cultivos celulares y se transmite en el cultivo por el medio de cultivo, por puentes intercelulares y por mitosis de las células infectadas<sup>(9)</sup>. La inmunofluorescencia se utiliza ampliamente para el diagnóstico de la infección, tomando secciones de tejidos de animales sospechosos o sobre cultivos infectados (infectados con homogenizados de tejidos del animal sospechoso)<sup>(7)</sup>. La enfermedad está siendo eliminada de los Estados Unidos y el uso del virus es prohibido en algunos estados por ley federal. Las cepas o aislamientos utilizados en la investigación varían desde altamente virulentos (cepa Ames), hasta virus modificados de baja virulencia, utilizados para la producción de vacunas.

## COMPARACION CON LA ENFERMEDAD EN HUMANOS

En el hombre, la enfermedad renal asociada con infección viral está opacada por la mucho más común, glomerulonefritis asociada con estreptococos del Grupo A, y en Africa con la Malaria cuartana. Los virus de la Fiebre Epidémica Hemorrágica<sup>(8)</sup>, el Dengue y la Fiebre Amarilla, están asociados con cuadros hemorrágicos del riñón. Aunque la falla renal aguda acompañada de proteinuria, hipotensión y shock, es común, se sabe muy poco acerca de la enfermedad crónica asociada con estos virus. La glomerulonefritis no estreptocócica ha sido reportada, raras veces, en asociación con vaccinia, varicela, paperas, rubeola, sarampión, ECHO y coxsackie<sup>(6)</sup>. La relación de la enfermedad crónica con estos virus y la glomerulonefritis, está aún por esclarecer. Recientemente se ha llamado la atención sobre la presencia de antígenos virales en los tejidos renales y depósitos amorfos en las membranas basales<sup>(1-2)</sup>. El potencial de los virus tales como ECHO y Coxackie para persistir después de una infección aguda puede ser responsable de un problema clínico no reconocido. La glomerulonefritis crónica con depósitos irregulares de material hialino, ocurre con el hombre pero hasta el presente no hay una indicación acerca de un agente etiológico responsable.

Otros modelos de glomerulonefritis crónica de origen viral pueden encontrarse en la Coriomeningitis linfocítica de los ratones, en la enfermedad Aleutiana del visón y en la infección por el virus de la dehidrogenasa láctica del ratón. La viremia está asociada con complejos circulantes de complejo antígeno-anticuerpo y la acumulación de los mismos en los glomérulos. También parece que éstos y otros virus acentúan la glomerulonefritis autoinmune<sup>(9)</sup>. Anticuerpos antivirales circulantes, también pueden estar asociadas con daño de las células renales, lo cual ocurre al final del período virémico de la enfermedad aguda.

Los mecanismos involucrados en la enfermedad crónica no se han establecido adecuadamente. El papel de los complejos inmunes circulantes en las lesiones de los glomérulos, el ojo y la sinovia se desconoce. Las lesiones (incluidas las del riñón), que se producen en los fetos durante la infección in utero, son de particular interés para las ciencias médicas<sup>(10)</sup>. El colera porcino, además de la patología renal, es un modelo útil para el estudio del daño viral agudo a otros órganos como el cerebro, el ojo, el hueso, y la placenta, o defectos en el sistema vascular.

## REFERENCIAS

1. Burch, G.E, Chu, K/C. and R.S. Sohal Glomerulonephritis induced in mice by ECHO 9 virus. *New Eng. J. Med.* 279: 1420-1424. 1968.
2. Burch, G.E., Chu, K/C., Colculough, H.L. and R.S. Sohal. Immunofluorescent localization of Coxsackievirus B antigen in the kidney observed at the routine autopsy. *Am. J. Med.* 47: 36-42. 1969.
3. Cheville, N.F. and W.L. Mengeling. The pathogenesis of chronic Hog Cholera (Swine fever). *Lab. Invest.* 20:261-274. 1969.
4. Cheville, N.F., Mengeling, W.L. and M/R. Zinober. Ultrastructural and immunofluorescent studies of glomerulonephritis in chronic Hog Cholera. *Lab. Invest.* 22:458-467. 1970.



5. Dixon, F.J., Oldstone, M.B.A. and G. Tonietti. Virus-induced immune-complex-type glomerulonephritis. *Transp. Proc.* 1:945-948. 1969.
6. Jensen, M.M. Viruses and Kidney disease. *Am. J. Med.* 43:897-911. 1967.
7. Mengeling, W.L. and J.P. Torrey. Evaluation of the fluorescent antibody-cell culture test for hog cholera diagnosis. *Am. J. Vet. Res.* 28:1653-1659. 1967.
8. Oliver, J. and M. Macdowell. The renal lesions in epidemic hemorrhagic fever. *J. Clin. Invest.* 36:99-223. 1957.
9. Pirtle, E.C. In vitro spread of hog cholera viral infection from cell to cell: demonstration of viral antigen in dividing cells. *Am. J. Vet. Res.* 30:1909-1912. 1969.
10. Young, G.A., Kitchell, R.L., Levdko, A.J. and J.H. Sautter. The effect of viral and other infections on the dam and fetal development. I. Modified live hog cholera viruses-immunological, virological and gross pathological studies. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 126:165-171. 1955.