

ESTUDIO FISIOPATOLOGICO EN BOVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *Babesia bovis*^a

Raúl C. Fajardo Muñoz^b

Francisco Agullar Romero^c

René N. Márquez Márquez^d

Juan I. Monroy Basillo^b

RESUMEN

En ocho bovinos clínicamente sanos y libres de anticuerpos contra *Babesia* spp se evaluaron parámetros de los perfiles: Hepático, renal y hemático, así como pruebas de coagulación y temperatura corporal durante cuatro semanas anteriores a su inoculación intravenosa con 20 ml de sangre de bovino que contenía 2×10^9 eritrocitos parasitados con la cepa texas de *Babesia bovis*; posterior a la inoculación se obtuvieron muestras sanguíneas para cuantificar los parámetros antes citados. Los resultados indicaron un ligero aumento de la temperatura corporal en los bovinos a lo largo del experimento, en el perfil hemático tanto eritrocitos, microhematocrito y hemoglobina disminuyeron gradualmente, pero siempre estuvieron dentro de los límites considerados como normales. Las pruebas de coagulación, tiempo de protrombina, trombocitos y tiempo parcial de tromboplastina activada evidenciaron una clara coagulopatía, mientras que las determinaciones de creatinina y urea (perfil renal), así como bilirrubina total y aspartato aminotransferasa (perfil hepático), mostraron alteraciones del funcionamiento hepático y renal. Las alteraciones más notorias en los parámetros estudiados las presentaron los dos bovinos que murieron a los 8 y 13 días postinoculación respectivamente. Los resultados se analizaron estadísticamente por medio de la prueba de t de Student, comparando promedios de dos grupos pareados.

Téc. Pec. Méx. Vol. 30 No. 3 (1992)

Se ha mencionado que colateralmente a la mosca Tse-tse, el problema más crítico que limita la producción animal en el mundo entero son las enfermedades transmitidas por garrapatas; tales como babesiosis, anaplasmosis y theileriasis¹⁰. Se considera que existen alrededor de 10,000 millones de cabezas de ganado vacuno en el mundo; el 75% se encuentra en regiones infectadas por garrapatas. En América ésta entidad es endémica desde el paralelo 32 norte, hasta

el sur de Ecuador¹¹, así que virtualmente toda la población ganadera de América Latina se encuentra bajo riesgo de contraer las enfermedades transmitidas por éstos ectoparásitos. En México 29,457,419 cabezas de ganado, que representan el 85.2% de la población total nacional, vive en zonas habitadas por garrapatas de las cuales, las más comunes son *Amblyoma* spp y *Boophilus* spp². Una de las enfermedades más importantes transmitida por garrapatas es la babesiosis bovina, que es endémica desde el sur de los Estados Unidos de Norte América hasta Sudamérica¹¹. También se considera endémica en las zonas tropicales de Africa y Asia; sin embargo, ahí recibe poca atención en comparación con la tripanosomiasis y la theileriasis^{12,14}. Lo anterior ha motivado que los estudios recientes se hayan enfocado a establecer pruebas de diagnóstico y a desarrollar biológicos para la

a Recibido para su publicación el 11 de noviembre de 1991.

b Proyecto Sistema de Referencia en Diagnóstico Veterinario, CENID-Microbiología. INIFAP-SARH. Km. 15.5 Carr. México-Toluca, Cuajimalpa, D.F. C.P. 05110.

c Proyecto Enfermedades Bacterianas en ruminantes, CENID-Microbiología INIFAP.SARH, C.P. 05110, México, D.F.

d Proyecto Micotoxinas, CENID-Microbiología INIFAP-SARH C.P. 05110, México, D.F.

prevención de esta enfermedad ^{3,4,8,16,17}. La causa de muerte en los animales infectados con *Babesia* es de controversia. La anemia por sí sola fue considerada como la causa principal de muerte, sin embargo, algunos autores ⁷ encontraron que los animales pueden morir sin que ocurran cambios en el hematocrito, el panorama se complicó aún más cuando Grovesa y Dennis ⁵ argumentaron que existía una anoxia terminal en perros infectados con *B. gibsoni* y que este era el factor más importante en esta especie; ya que la anoxia fue producida por el número reducido de eritrocitos circulantes y a una disminución en la capacidad de transportar oxígeno.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los perfiles hepáticos, renales y hemáticos, así como pruebas de coagulación en bovinos con babesiosis experimental, para determinar la participación de las alteraciones en dichos perfiles en la fisiopatología de la babesiosis.

Se utilizaron ocho bovinos (*Bos taurus*) clínicamente sanos, con un peso aproximado de 300 kg, libres de anticuerpos contra *Babesia* spp, los cuales se alojaron en los corrales del CENID-Microbiología, proporcionándoles alimento y agua *ad libitum*; cada semana y durante un mes se obtuvieron registros de temperatura corporal y muestras sanguíneas para obtener los datos basales de los perfiles a estudiar. Posteriormente, se inoculó por vía intravenosa a cada bovino una alícuota de 20 ml de sangre que contenía 2×10^9 eritrocitos parasitados, proveniente de un bovino infectado con la cepa texas de *Babesia bovis*. A partir de la inoculación se obtuvo el registro de temperatura corporal y muestras sanguíneas. Dichas muestras se colectaron por punción en la vena yugular utilizando agujas y tubos al vacío vacutainer. Los tubos sin aditivo para la obtención de suero sanguíneo donde se analizaron: Perfil renal: creatinina y urea; perfil hepático bilirrubina total y aspartato amino transferasa (AAT). Tubos con EDTA como anticoagulante para la determinación del perfil hemático: eritrocitos, hemoglobina, microhematocrito, leucocitos y recuento diferencial leucocitario. Tubos con citrato

de sodio al 3.8% con paredes interiores siliconizadas para el recuento plaquetario y la obtención de plasma para las pruebas de coagulación: tiempo de protombina (TP) monómeros de fibrina y tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA). Las determinaciones de química sanguínea se efectuaron con equipos reactivos Mercko-test, realizando las lecturas en un espectrofotómetro Carl Zeiss PM-2A. Las pruebas de coagulación con sistemas reactivos DADE y un fibrómetro semiautomático Becton y Dickinson. Las pruebas hemáticas se realizaron por los métodos rutinarios de laboratorio ¹.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por medio de la prueba t de Student para muestras pareadas ¹⁵.

Los resultados se agruparon para su análisis estadístico en los datos obtenidos antes de la inoculación (preinoculación), y los datos de las muestras posteriores a la inoculación con sangre infectada con la cepa texas de *Babesia bovis*.

En el Cuadro 1 se observa que los bovinos presentaron un moderado incremento de temperatura corporal, sin embargo, no tuvo significancia estadística ni clínica; resultados que coinciden con lo señalado por Gupta y Sinha ⁶. También fue evidente una disminución en el número de eritrocitos y por lo tanto de microhematocrito y hemoglobina que, aunque tuvieron significancia estadística siempre se mantuvieron dentro de los límites considerados como normales; en los frotis sanguíneos teñidos con Giemsa se apreciaron eritrocitos parasitados a la primera semana postinoculación, pero el índice de parasitemia nunca fue mayor del 1% estando de acuerdo a los datos señalados por Vega y Murgía ¹⁸. Las pruebas de coagulación (Cuadro 2) mostraron incrementos muy variados en los tiempos de TP y TPTA aunado a una notable disminución de trombocitos, evidenciando una clara coagulopatía que, sumada al decremento de micronematocrito ha sido relacionado por algunos investigadores con un estado anafilactoide en bovinos con babesiosis ⁹, como resultado de la producción que biometabolitos tóxicos de los hemoparásitos

CUADRO 1. PARAMETROS HEMATICOS Y TEMPERATURA CORPORAL DE BOVINOS ANTES Y DESPUES DE INOCULARSE CON UNA CEPA (TEXAS) DE *Babesia bovis*.

	TEMPERATURA CORPORAL	ERITROCITOS (X 10 ⁶ /MM ³)	MICROHEMATOCRITO (%)	HEMOGLOBINA (g %)
PREINO. (4 SEM)	38.5 ± 0.8	7.42 ± 1.3	46.5 ± 3.4	16.3 ± 2.7
POSTINO. (4 SEM)	40.7 ± 0.6	5.60* ± 2.1	38.8* ± 3.9	11.2* ± 2.6

* Estadísticamente significativo (P < 0.05).

CUADRO 2. PRUEBAS DE COAGULACION EN BOVINOS ANTES Y DESPUES DE SER INOCULADOS CON LA CEPA TEXAS DE *Babesia bovis*.

	TIEMPO DE PROTOMBI-NA (TP) (S)	TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA ACTI-VADA (TPTA) (S)	TROMBOCITOS X10 ³ /mm ³
PREINO. (4 SEM)	12.3 ± 2.5	57.3 ± 5.74	458 ± 65.4
POSTINO. (4 SEM)	19.7* ± 3.1	89.5* ± 7.41	180* ± 75.8

* Estadísticamente significativo (P < 0.05).

¹⁰, además, la producción de trombocitos por los megacariocitos en la médula ósea se inhibe por toxinas o por un factor desconocido del bazo ¹. Los incrementos en TPTA están de acuerdo a los resultados de Larios ⁹ quien señala que dicho incremento se debe a la liberación de heparina por los basófilos y células cebadas; por otro lado el aumento del Tp en los bovinos con babesiosis experimental podría estar relacionado con alteraciones del funcionamiento hepático ¹.

En el Cuadro 3 se muestran los resultados de los perfiles renales y hepáticos de los bovinos después de inocularse con *Babesia bovis*, presentando elevados niveles de creatinina, bilirrubina total y AAT siendo estadística y clínicamente significativos. Resultados que coinciden con lo señalado por

diversos autores ^{6,9,19}. La fisiopatología de la falla renal se ha explicado por cambios en la estructura filtrante del nefrón y como resultado de reacciones inmunológicas ⁹. Por otro lado, Wright ¹⁹ encontró niveles elevados de ATT en infecciones con *B. bigemina* y *B. bovis* en fases tempranas y finales de la infección. La congestión de sinusoides hepáticos y lesiones degenerativas centrolobulillares se han observado en infecciones con *Babesia*, lo que puede estar fuertemente asociado al incremento de esta enzima ¹³.

En infecciones con *B. bigemina* y *B. bovis*, los niveles de bilirrubina total, bilirrubina no conjugada y hemólisis, se incrementan progresivamente durante la infección. La bilirrubina no conjugada representa más del 80% de la bilirrubina total, esta bilirrubina acompaña a la crisis hemolítica

CUADRO 3. PERFIL RENAL Y HEPATICO EN BOVINOS ANTES Y DESPUES DE SER INOCULADOS CON LA CEPA TEXAS DE *Babesia bovis*.

	CREATININA (mg %)	UREA mg %	BILIRRUBINA TOTAL (mg %)	ASPARTATO AMI- NOTRANSFERASA (ALAT) (U/L)
PREINO. (4 SEM)	0.82 ± 0.53	42.3 ± 6.9	0.19 ± 0.02	43.2 ± 3.7
POSTINO. (4 SEM)	3.76* ± 1.48	48.1* ± 9.4	1.85* ± 0.81	88.7* ± 9.6

* Estadísticamente significativo ($P < 0.05$).

en ambas enfermedades^{6,19}. Niveles elevados de bilirrubina conjugada son indicativos de degeneración extensiva hepato-celular y necrosis. La evidencia sugiere que el daño hepático progresivo es resultado de la congestión vascular, y la anoxia se presenta en animales durante el curso de la infección babesial más severa, aguda y crónica^{6,19}.

Es necesario señalar que de los ocho bovinos inoculados, uno murió a los ocho días y otro a los 13 días postinoculación, siendo los que presentaron los cambios más evidentes en los parámetros estudiados, y al realizarles las necropsias no se observaron alteraciones macroscópicas en los diversos órganos.

En la fisiopatología de la babesiosis, los daños renales y hepáticos así como las coagulopatías, desempeñan un importante papel en la muerte de bovinos con babesiosis.

SUMMARY

Parameters from hepatic, renal and hematic profiles, as well as coagulation test and body temperature were evaluated in 8 bovines clinically healthy and free from antibodies against *Babesia* spp during the four weeks prior to intravenous inoculation with 20 ml of bovine blood containing 2×10^9 erythrocytes parasitized with the texas strain. After inoculation, blood samples were taken for four weeks more. The results indicated a slight increase in temperature throughout the experiment. In the haematic profile, erythrocytes, microhaematocrit and haemoglobin values decreased gradually, but always remained within the range regarded as normal in the literature. The coagulation test: Protombine time, platelet count, and activated tromboplastin partial time clearly showed a coagulopathy. Creatinin and urea (renal profile) as well as total

billirrubin and aspartate aminotransferase (hepatic profile) showed disturbances of hepatic and renal function. The most notorius changes were seen in the animal which died 8 and 13 days after inoculation. The results were statistically analyzed with t Student test.

LITERATURA CITADA

1. BENJAMIN, M.M. 1978. Outline of Veterinary Pathology, 3 Ed. *The Iowa State University, Press.* Ames, Iowa, USA: 48.
2. Boletín 1976-1982. *Campaña Nacional contra la Garrapata.* SARH-BNCR, México, D.F.: 14.
3. BOSE, R. JACOBSON R.W. GALE K.R. WALTIS-BUHL, D.J. WRIGHT I.G. 1990. An improved ELISA for the detection of antibodies against *Babesia bovis* using either a native or a recombinant *B. bovis* antigen. *Parasitology Research*: 76(8) 648.
4. BUENING G.M. BARBET A. MYLER P. MAHAN S. NENE V. McGUIRE T.C. 1990. Characterization of a repetitive DNA probe for *Babesia bigemina*. *Veterinary Parasitology*. 36 (1-2) 11.
5. GROVES and DENNIS G. 1972. *Babesia gibsoni*: Field and Laboratory Studies of Canine Infections. *Exp. Parasit.* 31: 150.
6. GUPTA, S.K. and SINHA, B.P. 1988. Clinic-Biochemical Changes in Experimental Bovine Babesiosis. *Ind. Vet. Rep.* 1(1): 15.
7. ITARD, J. 1964. Piroplasmose Du POrc D' Elevage et de Med. Vet. *Dv. Pays Trop.* 17: 218.
8. KUNG'U, M.W. GOODGER, B.V. 1990. A slide enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of *Babesia bovis* infections and for the screening of *Babesia*-specific monoclonal antibodies. *International Journal of Parasitology* 20(3) 341.
9. LARIOS, F. SMITH, R. and MONROY, J. 1980. Pat-

- hophysiology of Calves Infected with *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. Proceedings: *Progress in Bovine Anaplasmosis and Babesiosis*. México, D.F.: 47.
10. LARIOS, F. 1982. Respuesta Patofisiológica de Becerros Inoculados con *Babesia bovis* (Cepa virulenta atenuada). *Tec. Pec. Méx. Dic.*: 108.
11. Mc COSKER, P.J. 1981. Babesiosis, 3er. Ed. *Academic Press*, USA: 180.
12. MOHAMED, A.A. and YAGOUB, I.A. 1990. Outbreaks of Babesiosis in domestic livestock in the eastern region of the Sudan. *Trop. Anim. Hea. and Prod.* 22: 123.
13. MONROY, J. MADRIGAL, V. y LARIOS, F. 1984. Hallazgos histopatológicos en bovinos infectados con *Babesia bovis*. Memorias de la Reunión Anual de Parasitología Veterinaria. México, D.F.: 5.
14. SIMON-VICENTE, F. RAMAJO-MARTIN, V. y ENCINAS-GRANDES A. 1987. Theileriosis y Babesiosis Bovinas y ovinas en la Provincia de Salamanca. *Rev. Iber. de Parasit.*: 31.
15. STEEL, R.G. TORRIE J.H. 1985. *Bioestadística, Principios y Procedimientos*. 4ta. Ed. McGraw-Hill de México, S.A. de C.V., México: 97.
16. TIMMS, P. 1989. Development of babesia vaccines. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 83 (suppl) 73.
17. TIMMS, P. STEWART, N.P. 1989. Growth of *Babesia bovis* parasites in stationary and suspension cultures and their use in experimental vaccination of cattle. *Research in Veterinary Science*. 47(3) 309.
18. VEGA Y MURGIA, C.A. 1986. Patogenia de la Babesiosis Bovina. *Memorias del Congreso Nacional de Parasitología*. Puebla, México: 16-18 oct.7
19. WRIGHT, I.G. 1972. Studies on the Pathogenesis of *Babesia argentina* and *Babesia bigemina*. Infections in splenectomized calves, *Z. Parasitenk*, 39: 85-1/02.