

## Despre babesioza canină

## About canine babesiosis

Nanu Andrei

Romvac Company S.A.

Correspondență: [nanu.andrei.vet@gmail.com](mailto:nanu.andrei.vet@gmail.com)

**Cuvinte cheie:** babesioză canină, paraziți, tratament babesioză, vaccin babesioză.

**Key words:** canine babesiosis, parasites, babesiosis treatment, babesiosis vaccine.

### Rezumat

Prezentul referat bibliografic, adresat medicilor veterinari clinicieni dar și celor din domeniul cercetării are ca scop rememorarea bolii din punct de vedere al etiologiei, al manifestărilor clinice și al managementului terapeutic-profilactic dar totodată, și aducerea la cunoștință a aspectelor rezultate în urma unor cercetări recente. În funcție de virulența speciei parazitare, de răspunsul defensiv al organismului parazitat și de managementul terapeutic abordat, platoul evolutiv al bolii poate fi destul de larg – de la un prognostic favorabil până la un sfârșit letal al animalului. Complexitatea mecanismului patogenetic în babesioză se datorează antigenelor parazitare solubile (APS), care în urma studiilor recente au putut fi obținute *in vitro* apoi folosite sub formă de produs imunologic în profilaxia bolii. Producerea unui vaccin contra babesiozei canine cu antigene parazitare ale tulpinilor locale ar juca un rol important în prevenția bolii clinice în România.

### Abstract

The objective of this bibliographic essay, addressed both to veterinary clinicians and researchers, is to bring to mind the disease in terms of etiology, clinical manifestations and therapeutic and prophylactic management, as well as to remind the issues arising from recent researches. Depending on the virulence of the parasite species, body's immune response and therapeutic management approached, the plateau of disease evolution can be quite wide - from a favorable prognosis to a lethal outcome of the animal. The complexity of the pathogenetic mechanism in babesiosis is due to soluble parasite antigens (SPA) which, according to recent studies, have been obtained *in vitro* and then used as immunological product in disease prevention. Producing a vaccine against canine babesiosis with parasite antigens of local strains could play an important role to prevent the clinical expression of this disease in Romania.

### Introducere

Babesioza canină este o boală parazitată cauzată de protozoare din genul *Babesia*, incidența acesteia luând amploare în ultimul deceniu în țara noastră și nu numai.

Prima dată au fost descoperite babesiiile la bovine spre sfârșitul secolului XIX de către savantul român Victor Babeș, numele căruia îl poartă și acum. Șapte ani mai târziu în Italia, babesiiile au fost descrise și la câine.

Studiile timpurii au recunoscut doar două specii morfologic distincte care parazitează câinele și anume: *Babesia canis* măsurând 3-5 μm și *Babesia gibsoni* având 1-3 μm.

Mai târziu, pe baza testelor serologice, specificității gazdei definitive, imunității

încrucișate și a filogeniei moleculare, *Babesia canis* a fost reclasificată în 3 subspecii:

- *B. canis canis*,
- *B. canis rossi*,
- *B. canis vogeli*.

Toate acestea sunt considerate acum ca fiind specii distincte. [3, 8, 11, 24]

Acești paraziți, încadrați taxonomic în ordinul *Piroplasmida*, își realizează ciclul biologic în două tipuri de gazde.

În gazdele definitive, reprezentate de artropode din familia *Ixodidae* (căpușe), babesiiile își desfășoară ciclul sexuat, iar în gazdele intermediare reprezentate de mamifere din familia *Canidae*, acestea își desfășoară ciclul asexuat [13].

*Babesia canis canis*, transmisă de căpușa *Dermacentor reticulatus*, este endemică în Europa și se consideră a fi cel mai întâlnit agent etiologic al babesiozei canine pe acest continent.

*Babesia canis vogeli*, având ca gazdă definitivă căpușa *Rhipicephalus sanguineus*, este întâlnită în special în țările din sudul Europei.

*Babesia canis rossi* fiind descrisă ca cea mai patogenă dintre ele, este transmisă de căpușa *Haemaphysalis leachi* și se întâlnește în țările din Africa.

*Babesia gibsoni*, cea mai mică dintre acestea, este răspândită peste tot în lume și este transmisă de *Haemaphysalis bispinosa* și *H. longicornis* [1, 7, 8, 12, 17, 24, 20].

După fixarea sa pe corpul câinelui, căpușa, odată cu injectarea salivei cu proprietăți anticoagulante și vaso-dilatatoare, infectează animalul cu sporozoiți (forma infestantă a babesiiilor).

După contaminare urmează o perioadă de incubație de 10-28 zile succedată de primele semne clinice [13, 17].

### Simptomatologie și patogeneză

Manifestarea clinică a bolii este diversă și variază de la o anorexie tranzitorie până la un sindrom complex, în care sunt afectate mai multe sisteme de organe.

Astfel evoluția babesiozei poate avea două forme – simplă și complicată, ambele fiind în corelație directă cu răspunsul inflamator al gazdei, virulența parazitului și statusul imun al animalului.

Principalii mediatori ai răspunsului inflamator sunt:

- eliberarea marcantă de citokine (factor de necroză tumorală -TNF- $\alpha$ ,
- interleukina 10,
- proteina chemoatractantă a monocitelor - MCP-1,
- radicalii liberi,
- factorul de activare a trombocitelor,
- oxidul nitric etc.

Evoluția severă a bolii este asociată cu un dezechilibru acido-bazic rezultând acidoză metabolică și alcaloză respiratorie [5, 9, 17, 26]

Pe lângă activitatea direct patogenică a babesiiilor asupra liniei eritrocitare (patrunderie intraglobulară, dezvoltare, diviziune și liză globulară) având ca rezultat anemia hemolitică, antigenele parazitare acționează și asupra metabolismului lipoproteic, și asupra sistemului complement cu formarea anticorpilor antieritrocitari și a complexelor imune, toate acestea având ca rezultat final hemoliza intra- și extravasculară [9, 13, 17, 25].

O mare importanță trebuie acordată celui de-al doilea mecanism patogenetic și anume cel al antigenelor parazitare asupra sistemului reticulo-histiocitar în care are loc hiperplazia celulelor acestuia (hiperplazie asociată cu aglutinarea și aderența la endoteliul vascular a hematiilor parazitare, a trombocitelor și a antigenelor din plasmă) determinând blocajul circulației capilare în diferite organe cu repercursiuni variate [13, 17, 25].

În funcție de agentul etiologic, evoluția bolii și semnele clinice sunt diferite.

*B. canis rossi* este foarte virulentă și are o manifestare clinică acută sau chiar supraacută care debutează cu apatie, icter, slăbiciune, anorexie, febră, tahipnee, tahicardie, tulburări nervoase.

Această formă severă este caracterizată de anemia hemolitică, dezechilibrul reticulo-histiocitar, dezechilibrul acido-bazic și rezultatul răspunsului inflamator survenind astfel prăbușirea funcțiilor în multiple organe: insuficiență renală acută, sindrom de detresă respiratorie acută, sindrom de șoc hipotensiv, edeme cerebrale, hepatopatii, pancreatite, splenomegalie, anemie, trombocitopenie [5, 13, 17, 25]

*B. canis vogeli* provoacă la animalele adulte o infecție de multe ori inaparentă clinic sau cu o simptomatologie "ștearsă".

De obicei evoluează cu o parazitemie moderată și poate trece neobservată la un examen de rutină al frotiului de sânge.

Dacă la câinii adulți infecția se poate remite fără a prezenta semne clinice evidente, tineretul poate ajunge într-o stare anemică severă cu simptomatologia aferentă [11, 17].

După gradul de patogenitate, *B. canis canis* se situează între cele două specii descrise mai sus.

Infecția cu *Babesia gibsoni* poate avea evoluție supraacută, acută și cronică.

Forma acută a acesteia este cea mai întâlnită și evoluează cu anorexie, depresie, anemie hemolitică, febră, limfadenopatie, splenomegalie, trombocitopenie, coagulare intravasculară diseminată (CID), sindrom de șoc hipotensiv, insuficiență renală acută [6, 13, 17, 21].

## Diagnostic

Diagnosticul cazurilor acute de babesioză este bazat pe prezentarea clinică clasică și identificarea paraziților în frotiurile executate din sângele periferic (colorație Giemsa sau Diff-quick).

Babesiile de dimensiuni mari (3-5 μm) sunt observate în mod tipic câte două dar pot fi întâlnite și situații când un eritrocit conține până la 6-8 paraziți piriformi. *B. gibsoni* (1-3 μm) este întâlnită de obicei de formă inelară și se află singură în hematie.

În funcție de virulența speciei, gradul parazitemiei poate fi de la 0,05% până la 10% din totalul hematiilor numărate pe un frotiu.

Coroborând simptomatologia clinică agresivă și suspiciunea unei specii virulente, simpla prezență a paraziților într-o singură hematie este suficientă pentru a confirma diagnosticul.

În cazurile cronice unde parazitemia este sub limita detecției microscopice, diagnosticul este mai dificil și se bazează pe constatări anamnetice sugestive, constatări ale examinării clinice și teste serologice (imunofluorescență, PCR, microaglutinare, ELISA).

Pentru a crește probabilitatea identificării paraziților, se recomandă examinarea de-a lungul periferiei frotiului (hematiile parazitare tind să se marginalizeze în timpul efectuării frotiului).

Alte aspecte ale frotiurilor, cum ar fi anizocitoza, policromazia și reticulocitoza - reflectă o anemie hemolitică regenerativă, sferocitoza - anemie hemolitică imun-mediată, neutrofilia - răspuns inflamator sistemic.

Este important de reținut că trombocitopenia este patognomonică

babesiozei și aceasta apare înainte de debutul anemiei și înainte ca parazitemia să fie detectabilă microscopic.

O creștere a transaminazelor serice (ALT, AST) indică afectarea hepatică, urea și creatinina serică ne indică afectarea renală.

Analiza urinei arată hemoglobinurie, bilirubinurie, proteinurie și celule epiteliale tubulare renale.

Tehnica PCR este extrem de sensibilă (poate detecta o parazitemie foarte scăzută ~0,0001%) și specifică în același timp (identifică specia de babesie cu care este infestat animalul).

Diagnosticul babesiozei canine ar trebui să fie cât mai specific posibil deoarece virulența, prognosticul și răspunsul la tratament variază în funcție de specia parazită [5, 6, 9, 11, 13, 17, 26].

## Tratament și profilaxie

Indiferent de gravitatea bolii, obiectivele principale ale tratamentului sunt distrugerea paraziților și combaterea anemiei urmate apoi de medicația simptomatică.

În funcție de specie, babesiile au un răspuns diferit la tratamentul efectuat.

Medicametele de elecție pentru distrugerea babesiilor sunt derivații de diamidină (Diminazen aceturat) și derivații de carbanilide (Imidocarb dipropionat).

**Diminazenul aceturat (Berenil)** intervine asupra glicolizei aerobe și inhibă sinteza ADN-ului parazită având astfel acțiune babesicidă.

Din cauza efectelor secundare ale diminazenului (durere locală, vomă, hipotensiune, toxicitate cerebrală, semne neurologice, efecte parasimpaticomimetice, ataxie, nistagmus etc.) se recomandă o singură doză calculată meticolos - 3,5 mg/kg intramuscular. Cu toate acestea *B. gibsoni* nu răspunde la fel de bine ca celelalte babesii la tratamentul cu acest medicament.

**Imidocarbul dipropionat (Imizol)** are efect babesicid pronunțat, acționând direct asupra nucleului și citoplasmei parazitare.

Se administrează în doză de 6,6 mg/kg intramuscular sau subcutanat în doză unică pentru babesiiile de dimensiuni mari și în doză repetată la 2 săptămâni pentru *B. gibsoni*.

Ca posibile efecte adverse care apar după 10 minute de la administrare, sunt descrise: durere locală, hipersalivație, tremurături musculare, tahicardie, dispnee și diaree.

Pentru ameliorarea acestor efecte adverse poate fi folosită atropina ca premedicație – 0,02 mg/kg subcutanat, cu 30 minute înainte de administrare. Imidocarbul prezintă și toxicitate hepato-renală aceasta fiind descrisă ca efect advers tardiv [11, 13, 17, 21].

Împotriva *B. gibsoni*, rezultate satisfăcătoare prezintă și clindamicina administrată în doză de 25 mg / kg greutate corporală, *per os*, la 12 ore, timp de 14 zile.

Tratamentul cu **clindamicină** reduce semnele clinice caracteristice babesiozei, scade gradul parazitemiei și determină schimbări morfologice ale paraziților inducând degenerescența acestora (modificări ale citoplasmei și nucleului, segmentare, reducerea dimensiunilor).

Cu rezultate pozitive poate fi administrat un tratament de 10 zile cu **azitromicina** (10 mg / kg *per os* la 24 ore) în combinație cu atovaquone (13,3 mg/kg *per os* la 8 ore). [10, 17, 21, 22, 23]

Medicația simptomatică se recomandă în special în formele severe de boală iar combaterea anemiei prin transfuzii cu sânge se recomandă în general când valoarea hematocritului ajunge  $\leq 20\%$ .

În lipsa unui tratament specific bine pus la punct, cazurile cu evoluție acută și supraacută se pot finaliza cu moartea animalelor.

Fiind o boală agresivă cu o incidență care a crescut vertiginos în ultimul deceniu, peste tot în lume, având și un tratament „dur” cu reacții secundare complicate, cea mai indicată și mai sigură opțiune de viitor în lupta cu aceasta, va fi profilaxia.

Măsurile profilactice în România, se axează în primul rând pe combaterea parazitismului cu căpușe, și anume substanțe antiparazitare sub diferite forme: spray-uri,

soluții spot-on sau zgărzi impregnate, toate cu efecte paraziticide și repelente.

Cu toate că există o gamă extrem de largă a acțiunilor antiparazitare, nici una nu garantează o protecție de 100%.

Prin urmare incidența cazurilor cu infestații parazitare este în continuare una destul de mare și asta în mare parte se datorează rezistenței față de substanțele active din produse, rezistență pe care o dezvoltă paraziții de la o generație la alta.

Cu un ansamblu de interacțiuni complexe care implică diferite organe, structuri și substanțe, sistemul imunitar al organismelor poate fi folosit și de data aceasta ca un „aliat” în lupta cu scop profilactic împotriva babesiozei canine.

Astfel, pentru a produce anticorpi protectori, acesta trebuie stimulat cu un antigen specific.

În 1967 au fost descrise în sângele câinilor infectați cu *B. canis*,

**Antigenele Parazitare Solubile (APS)** care sunt proteine cu masa moleculară cuprinsă între 10 și 200 kDa, acestea sunt identificate în membranele de suprafață ale merozoizilor (formele endoglobulare ale babesiiilor) și apar consecutiv desfășurării ciclului evolutiv al paraziților.

Tot atunci s-a demonstrat că APS dau reacție de precipitare cu serul obținut de la câini care au supraviețuit unei forme acute de babesioză iar anticorpii la acești câini persistă o perioadă îndelungată.

Ulterior s-a demonstrat că aceste APS pot fi utilizate în imunizarea câinilor contra babesiozei.

Odată cu evoluția biotehnologiilor și a industriei farmaceutice, s-a reușit obținerea APS *in vitro*, acest lucru facilitând crearea unui produs biologic cu proprietăți imunogene contra babesiozei canine [2, 14, 18, 19].

Studii recente au demonstrat siguranța și eficacitatea imunizării câinilor cu APS obținute *in vitro*, dar în același timp au demonstrat că nu se obțin reacții imune încrucișate între diferite specii de babesii.

În concluzie, inocularea cu APS specifice *B. canis canis*, conferă imunitate față de tulpina omologă și nu oferă protecție contra

infecției cu o tulpină heterologă, cum ar fi *B. gibsoni*.

Imunizarea presupune producerea de anticorpi anti APS și se traduce printr-o reducere a gradului parazitemiei și a severității semnelor clinice dar nu previne infecția.

Acțiunea patologică și severitatea semnelor clinice se datorează antigenelor parazitare, astfel prin formarea de anticorpi anti APS se previne dezvoltarea sau exacerbarea patologiei bolii [3,4,10, 15, 16, 17].

La momentul actual există câteva produse imunogene dar din cauza specificității răspunsului imun la antigenele vaccinale, aceste produse nu oferă o protecție satisfăcătoare încât să justifice imunizarea câinilor în țara noastră.

Având în vedere gradul de patogenitate al fiecărei specii de babesii, răspândirea geografică a acestora și lipsa imunității încrucișate, ar fi binevenită producerea unui produs biologic (vaccin) bivalent (*B. canis canis* și *B. gibsoni*) care să ofere o protecție cât mai ridicată în România.

## Bibliografie

1. **Adaszek L., Martinez A.C., Winiarczyk S.,** (2011). The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. *Veterinary Parasitology*, **181**: 160–165.
2. **Adaszek L., Puchalski A., Dec M., Winiarczyk S.,** (2012). Analysis of the culture-derived soluble *Babesia canis canis* antigens derived from the Polish strains of the parasites. *Tierärztliche Praxis*, **40 (K)**: 399–403.
3. **Adaszek L., Romana Wernicka-Furmaga, Winiarczyk S.,** (2012). Preliminary study on the safety of a new vaccine against canine babesiosis containing soluble parasitic antigen. *Bulletin Veterinary Institute in Pulawy*, **56**: 145–148.
4. **Adaszek L., Urszula Lisiecka, Martinez A.C., Skrzypczak M., Winiarczyk S.,** (2013). Quantitative changes in selected lymphocyte subpopulations after administration of a soluble parasitic antigen of *Babesia canis* to dogs. *Bulletin Veterinary Institute in Pulawy*, **57**: 35–39.
5. **Amelia Goddard, Leisewitz A. L., Kjølgaard-Hansen M., Annemarie T. Kristensen, Schoeman J. P.,** (2016). Excessive pro-inflammatory serum cytokine concentrations in virulent canine babesiosis. *PLOS One*, **11(3)**: e0150113.
6. **Boozer A. L., Macintire D. K.,** (2003). Canine babesiosis. *Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, **33**: 885–904.
7. **Cardoso L., Costa A., Tuna J., Vieira L., Eyal O., Yisaschar-Mekuzas Y., Baneth G.,** (2008). *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal. *Veterinary Parasitology*, **156**: 199–204.
8. **Carret C., Walas F., Carcy B., Grande N., Précigout É., Moubri K., Schetters T., Gorenflot A.,** (1999). *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of three subspecies by restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *Journal of Eukaryot Microbiology*, **46**: 298–303.
9. **Crnogaj M., Kis I., Kucer N., Smit I., Mayer I., Brkljacic M., Selanec J., Mrljak V.,** (2015). Lipid peroxidation in dogs naturally infected with *Babesia canis canis*. *Veterinarski arhiv*, **85**: 37–48.
10. **Kramer F.** (2009). Canine babesiosis - a never-ending story. *CVBD Digest, Bayer*, 2009.
11. **Lobetti R.G.** (2006). Babesiosis, in infectious diseases of the dog and cat, 3rd ed., Philadelphia: W.B. Saunders. edited by C.E. Greene.
12. **Michaela Kubelova, Tkadlec E., Bednar M., Eva Roubalova, Siroky P.,** (2011). West-to-east differences of *Babesia canis canis* prevalence in *Dermacentor reticulatus* ticks in Slovakia. *Veterinary Parasitology*, **180**: 191–196.
13. **Mitreă I.L.** (2011). Parazitologie și boli parazitare. Ed. CERES, București.
14. **Schetters T.** (2005). Vaccination against canine babesiosis, *Trends in Parasitology* Vol.21 No.4 April, 2005.
15. **Schetters T. H., Kleuskens J., Scholtes N., Bos H. J.,** (1995). Strain variation limits protective activity of vaccines based on soluble *Babesia canis* antigens. *Parasite Immunology*, **17(4)**: 215–8.
16. **Schetters T. P., Kleuskens J., Carcy B., Gorenflot A., Vermeulen A.,** (2007). Vaccination against large *Babesia* species from dogs. *Parassitologia*, **49 Suppl 1**:13–7.

17. **Schoeman J.P.** (2009). Canine babesiosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **76**:59–66.
18. **Sibinovic K.H., MacLeod R., Ristic M., Cox H. W.**, (1967). A study of some of the physical, chemical and serologic properties of antigens from sera of horses, dogs and rats with acute babesiosis. *Journal of Parasitology*, **53**, 919–923
19. **Sibinovic K. H., Sibinovic S., Ristic M., Cox H. G.**, (1967). Immunogenic properties of babesial serum antigens. *Journal of Parasitology*, **53**: 1121-1129.
20. **Solano-Gallego L., Trotta M., Carli E., Carcy B., Caldin M., Furlanello T.**, (2008). *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Veterinary Parasitology*, **157**: 211–221.
21. **Suzuki Koretoki, Wakabayashi Haruna, Takahashi Masashi, Fukushima Kenjiro, Yabuki Akira, Endo Yasuyuki**, (2007). A possible treatment strategy and clinical factors to estimate the treatment response in *Babesia gibsoni* infection. *Journal of Veterinary Medical Science*, **69(5)**: 563-568.
22. **Wulansari R., Wijaya A., Ano H., Horii Y., Makimura S.**, (2003). Lymphocyte subsets and specific IgG antibody levels in clindamycin-treated and untreated dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. *Journal of Veterinary Medical Science*, **65**: 579–584.
23. **Wulansari R., Wijaya A., Ano H., Horii Y., Nasu T., Yamane S., Makimura S.**, (2003). Clindamycin in the treatment of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, Vol. **39**, No. 6, pp. 558-562.
24. **Zahler M., Schein E., Rinder H., Gothe R.**, (1998). Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity in dogs. *Parasitology Research*, **84**, 544-548.
25. **Zvorc Z., Baric Rafaj R., Kules J., Mrljak V.**, (2010). Erythrocyte and platelet indices in babesiosis of dogs. *Veterinarski arhiv*, **80**: 259-267.
26. **Zygner W., Olga Gójska-Zygner, Baška P., Ewa Długosz**, (2014). Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. *Parasitology Research*, **113(4)**: 1499–1503.