

EFFECTO DE LA ESPLENECTOMIA EN LA INFECCION A BABESIAS DE LA ARDILLA *CITELLUS TRIDECIMLINEATUS* *

ARÍSTIDES HERRER

División de Estudios Epidemiológicos e Investigaciones Especiales del
Instituto Nacional de Salud Pública, Lima, Perú.

Durante estudios experimentales realizados en 1950 en el "gopher", *Citellus tridecemlineatus*, tratando de infectarlo con cultivos de *Bartonella bacilliformis* o agente etiológico de la enfermedad de Carrion (HERRER, 1953), de manera incidental se observó que la esplenectomía alteraba notablemente el curso de la infección a babesias de la mencionada ardilla. En los referidos estudios experimentales se había quitado el bazo a algunos "gophers" con el objeto de determinar si bajo tales condiciones dicho animal se mostraba susceptible a la *B. bacilliformis*. Una de estas ardillas, que presentaba ligera infección por un parásito de los glóbulos rojos, morfológicamente semejante a las babesias, fué esplenectomizada después de haber sido inoculada con la *B. bacilliformis*. A partir del quinto día de la remoción del bazo, el mencionado hemoparásito se mostró cada vez más abundante en los frotis de sangre, al mismo tiempo que se notaba en el animal signos de debilitamiento general, tanto que a los 12 días casi no podía caminar. Sacrificado entonces, se pudo notar que las vísceras se encontraban ictéricas y la vesícula biliar bastante distendida. Minutos antes de la autopsia el parasitismo alcanzaba al 80 por ciento de los glóbulos rojos y, al menos macroscópicamente, la sangre estaba tan fluida y pálida que hacía pensar en una intensa anemia.

Como los hechos anteriores habían sido observados tan sólo de manera incidental y en un animal inoculado con cultivos de la *B. bacilliformis*, microorganismo patógeno para el hombre y que muchas ve-

* Estudios realizados en la Division of Entomology and Economic Zoology de la Universidad de Minnesota, Estados Unidos de Norte América, durante el goce de una beca concedida por la John Simon Guggenheim Memorial Foundation.

ces dá lugar a severa anemia, se realizó una pequeña serie de estudios experimentales con la finalidad de conocer mejor la naturaleza del parásito y de determinar la causa de la intensificación del parasitismo y la de los otros fenómenos observados simultáneamente.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó 16 ardillas, al parecer todas adultas, capturadas entre julio y septiembre, 1950, en el Calvary Cemetery de Saint Paul, Minnesota. Por medio de frotis coloreados con Giemsa se observó la sangre de estos animales, llegando a encontrar babesias en 10 de ellos; en los 6 restantes no fué posible verificar la presencia de dicho parásito no obstante haberse revisado con bastante detenimiento las respectivas láminas. En seguida, las 16 ardillas fueron esplenectomizadas, muriendo a consecuencia de la operación una del grupo de positivas a la observación de la sangre.

Después de la extirpación del bazo, periódicamente y con un intervalo de tres días, se estudió el curso y la intensidad del parasitismo en los casos positivos. Simultáneamente se trató de realizar recuentos de los glóbulos rojos, encontrando gran dificultad en obtener la muestra de sangre de otro modo que no fuera punzando el corazón, lo que ocasionó la muerte de dos "gophers" durante los ensayos realizados. En vista de esto, se prosiguió con tales estudios tan sólo en una ardilla (Nº 12), en la que las extensiones de sangre se prepararon de la misma muestra usada para el recuento globular.

El curso y la intensidad del parasitismo se estudió determinando la proporción de eritrocitos parasitados, lo que se expresa en forma de porcentaje. En el "gopher" número 12 se calculó también el número de glóbulos parasitados por milímetro cúbico de sangre durante todo el período de observación de dicho animal. Para esto se hicieron los respectivos cálculos utilizando las cifras obtenidas en la determinación del parasitismo y en los recuentos de eritrocitos.

Con la finalidad de determinar la naturaleza del parásito se inoculó tres "gophers" no infectados al estado natural, lo que se determinó por medio de la esplenectomía; en dos de estos casos la inoculación se hizo por vía intraperitoneal y en el restante por vía subcutánea, con sangre citratada de un animal parasitado. La morfología del parásito se estudió en extensiones de sangre coloreadas con Giemsa, preparadas de animales con infección natural y no esplenectomizados.

RESULTADOS

Características del parásito. En extensiones de sangre preparadas de animales no esplenectomizados y coloreadas con Giemsa, el parásito no muestra pigmento y presenta principalmente contorno circular, variando sus dimensiones de 1.0 a 3.5 micras. Sólo raramente se ha observado las llamadas formas "ameboides", casos en los que las dimensiones eran ligeramente mayores. En las de contorno circular el núcleo es bien manifiesto, observándose a manera de una macita cromática redonda o ligeramente alargada; el citoplasma, por lo regular poco denso, delimita una vacuola central (Fig. 2). Las formas "ameboides" son bastante irregulares tanto en lo que se refiere al aspecto que ofrece el núcleo, como también a la intensidad con que se colorea el citoplasma. No se ha visto formas en división, no obstante haber revisado cuidadosamente las láminas correspondientes a varias ardillas con infección natural. Sin embargo, en varias ocasiones se notó la presencia de dos parásitos en un mismo eritrocito, uno junto al otro, como si procediesen de una división binaria previa.

El parasitismo fué bastante ligero en todos los casos, siendo necesario en la mayoría de las ocasiones, minuciosa observación de las láminas para poder verificar la infección. A excepción de un sólo "gopher", en el que la parasitemia alcanzaba a 4 por mil de los eritrocitos, en las demás ardillas dicha proporción siempre fué mucho menor.

Esplenectomías. De las 15 ardillas que sobrevivieron a la esplenectomía, 11 desarrollaron aguda infección a babesias. Entre éstas se encuentran las 9 positivas y 2 negativas a la observación de sangre con anterioridad a la remoción del bazo. Tan sólo en 8 de las 11 ardillas positivas después de la esplenectomía fué posible realizar observaciones por un lapso que varió entre 12 y 33 días, en las que se estudió el curso de la infección y se determinó la intensidad del parasitismo, cuyos resultados se exponen en el cuadro I. De estas 8 ardillas 2 (números 24 y 25) fueron sacrificadas a fin de utilizar la sangre en inoculaciones de "gophers" no infectados al estado natural; 2 (números 9 y 26), murieron según parece a consecuencia de la intensificación del parasitismo; 1 (número 18), murió por accidente a los 27 días de la esplenectomía; y las 2 restantes (número 5 y 20) murieron durante una punción del corazón. El "gopher" número 12, en el que se efectuaron tanto la observación del curso e intensidad del parasitismo como también recuentos de los eritrocitos, sobrevivió durante 33 días de

observación, después de lo cual fué descartado. Los resultados de las observaciones efectuadas en este animal se encuentran expuestos en el cuadro II y la correspondiente gráfica (Fig. 1).

DISCUSION

1. *Naturaleza del parásito.* La circunstancia de poder trasferir la infección inoculando sangre infectada, que el parásito carezca de pigmento y presente las características morfológicas ya anotadas, permiten considerarlo como perteneciente al género *Babesia* Starcovici 1893. Aunque recientemente se ha descrito la *B. wrighti* (Tomlinson et al., 1948) en el *Citellus variegatus buckleyi* o "rock squierrel", no ha habido oportunidad de verificar si el parásito encontrado por nosotros pertenece o no a dicha especie.

2. *Efecto de la esplenectomía.* Como se puede apreciar en el cuadro I, después de la esplenectomía en todas las ardillas se intensificó rápidamente el parasitismo, tanto en lo que se refiere a la proporción de glóbulos parasitados como también al número de babesias por eritrocito. Aunque la mayoría de los animales murieran antes de poder efectuarse observaciones que permitieran conocer el curso completo de la infección, con la remoción del bazo se observó un parasitismo tan intenso que en 7 de las 8 ardillas alcanzó a más del 60 por ciento de los eritrocitos. Esta máxima intensidad se presentó alrededor del sexto al décimoquinto día de haberse quitado el bazo, dando la impresión de que la rapidez de la intensificación del parasitismo dependía directamente de la cantidad de babesias presentes en la sangre el día de la esplenectomía. Igualmente notable fué la forma como se hallaban parasitados los glóbulos rojos durante los días de mayor parasitemia, siendo frecuente observar eritrocitos con 4, 6 y hasta 12 babesias (Figs. 4, 6 y 11). La multiplicación del parásito se llevaba a cabo al parecer de manera desordenada, dividiéndose en 2 (Fig. 3), en 3, en 4 (Fig. 4), etc., y en ciertas ocasiones el núcleo se fragmentaba como si se tratase de una esquizogonia (Figs. 9 y 10). Del mismo modo eran variables en cuanto a la forma y dimensiones. Por otro lado, mientras que durante la intensificación del parasitismo las babesias presentaban formas robustas, con citoplasma y núcleo nítidos, al empezar a declinar la parasitemia ha sido frecuente observarlas con el contorno mal definido y el núcleo reducido a un simple punto cromático (Fig. 7), como si estuviesen en degeneración.

Cuadro I.— Intensificación del parasitismo de la babesia, después de la esplenectomía, en el CITELUS TRI-
DECEMLINEATUS, expresada en glóbulos parasitados por 10,000 eritrocitos.

Ardilla No.	Antes de la esplenec- tomía	Intensidad del parasitismo														
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33				
5	7	23	930 #	6,100	7,700 x											
9	P	P	2	24	630	4,500 ^{xx}										
12	9	8	100	2,200	8,900	6,100	3,000	3,800	1,300	600	200	100				
18	1	6	800	7,600	5,700	4,700	1,800	150	420	1,200 ^p						
20	P	3	540	3,200	7,500	5,000 x										
24	P	1	80	1,200	6,300	5,600	2,200	370 ^{xx}	1,570 ^{oe}							
25	40	800	6,700	6,500	3,800	3,200	4,600	2,400								
26	10	400	3,400	7,400	4,100	4,000 ^{xx}										

En las cantidades con tres o cuatro cifras se han redondeado la última o las dos últimas respectivamente
x=Muerto durante la punción del corazón; xx=Muerto al parecer debido al parasitismo
P=Positivo, pero en proporción inferior a 1 por 10,000; oe=Muerto por accidente; oo=Sacrificado.

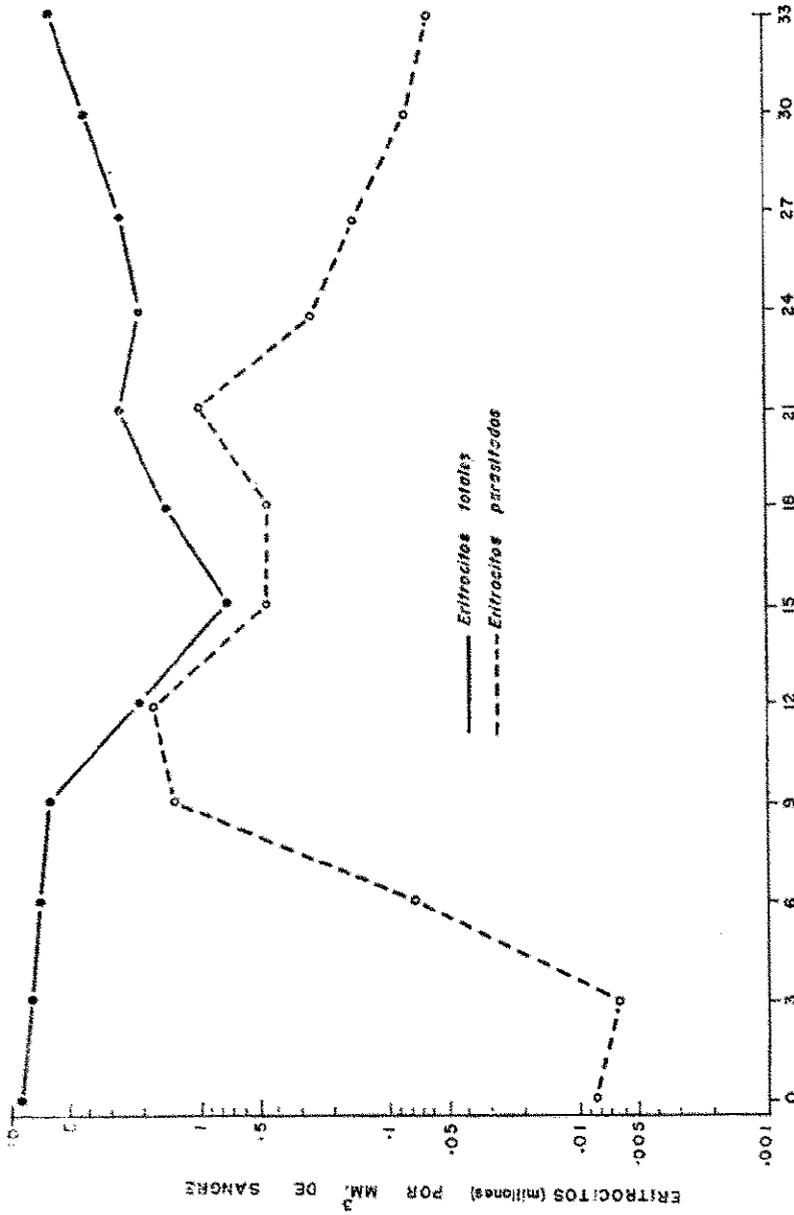
El aspecto que ofrecían los animales especialmente durante el período de mayor parasitismo era el de encontrarse francamente enfermos y con una intensa anemia: inactividad, mucosas notablemente pálidas, poco deseo de comer, hemoglobinuria, etc., y, como ya se ha dicho, parece que cuando menos dos de ellos murieron debido a la intensificación del parasitismo. El único "gopher" (Nº 12) en el que efectuáramos recuentos periódicos de los glóbulos rojos, mostró un acentuado descenso de los eritrocitos claramente relacionado en forma directa con el curso de la parasitemia (cuadro II), llegando finalmente a esbozarse algo así como un equilibrio que conduciría a la premunición (Fig. 1).

No obstante de que en el caso correspondiente al "gopher" número 12 habría que considerar también los trastornos que pudo haberle ocasionado las repetidas punciones del corazón, la inusitada intensificación del parasitismo y los demás fenómenos observados después de la esplenectomía en todas las ardillas infectadas, ponen de manifiesto la importancia del bazo en el control de esta especie de babesia, la que en infecciones naturales podría ser considerada como no patógena. Por lo demás, estos fenómenos son comparables a los que se observan en la bartonellosis de los animales (perro, rata, etc.), en las infecciones a *Eperithroozoon* de algunos roedores y, en cierta forma, también en la anaplasmosis del ganado vacuno.

CUADRO II.—*Relación entre los eritrocitos totales y los parasitados en la ardilla número 12.*

El día de la esplenectomía	Número de eritrocitos (millones) por mm ³ de sangre	
	Eritrocitos totales	Eritrocitos parasitados
3 días después	9.080	.008 *
6	7.980	.006
9	7.420	.074
12	6.460	1.421
15	2.160	1.922
18740	.451
21	1.600	.480
24	2.660	1.011
27	2.040	.265
30	2.680	.161
33	4.100	.082
	6.120	.061

* Las cifras de los eritrocitos parasitados se han ajustado tan sólo al millar.



DIAS DE OBSERVACION DESPUES DE LA ESPLENECTOMIA
 Fig. 1.—Representación gráfica de la relación entre la anemia y la intensidad del parasitismo por la babesia en la ardilla número 12, después de la esplenectomía.

SUMARIO

Observaciones en el *Citellus tridecemlineatus* con infecciones latentes a babesias ponen de manifiesto que la esplenectomía desencadena una inusitada intensificación del parasitismo, marcada anemia y otras alteraciones que pueden conducir a la muerte del animal. De cifras inferiores a 1 por mil que usualmente se observa en las infecciones latentes, con la esplenectomía la parasitemia se intensifica en tal forma que en ciertas ocasiones suele comprender a algo más del 80 por ciento de los eritrocitos. De igual manera aumenta notablemente la intensidad con que son parasitados los hematies, verificándose después de la extirpación del bazo eritrocitos con 8, 10 y 12 parásitos.

Los resultados de estos estudios señalan la enorme importancia que el bazo tendría en la defensa contra la infección latente de esta especie de babesia, de manera parecida a lo que sucede principalmente en las infecciones a bartonellas de ciertos animales.

SUMMARY

Observations on *Citellus tridecemlineatus* with latent *Babesia* infections have demonstrated that splenectomy is followed by a sharp intensification of the parasitism, with marked anemia and other changes that can lead to death of the animal. The level of less than one cell parasitized per thousand that is usually observed in latent infections, is increased after splenectomy to such a point that in some cases more than 80 per cent of the cells are parasitized. There is likewise a marked increase in the intensity of the parasitism of the red cells, with up to 8, 10, or even 12 parasites within a single cell following splenectomy.

The results of these studies indicate the great importance of the spleen in defense against latent infection by this type of *Babesia*, comparable to its role in *Bartonella* infections of certain animals.

RECONOCIMIENTOS

El autor desea expresar su más sincero agradecimiento al Dr. Clarence E. Mickel, Jefe de la Division of Entomology and Economic Zoology de la Universidad de Minnesota; al Dr. T. A. Gochnauer, al señor E. McConnell, y a todos los miembros de la Universidad de Minnesota que en una u otra forma le ofrecieran su bondadosa cooperación durante la ejecución de los estudios cuyos resultados se exponen en esta oportunidad.

REFERENCIAS

HERRER, A.

1953 Carrion's disease. III. Experimental infection of squirrels. *Amer. Jour. Trop. Med. Hyg.*, 2: 650-654.

TOMLINSON, T. H., SMITH, C. S. and FOGG, V. H.

1948 A piroplasm, *Babesia wrighti*, N. sp., from the rock squirrel (*Citellus variegatus buckleyi*). *Jour. Nat. Mal. Soc.*, 7: 254-258.

EXPLICACION DE LA LAMINA

Babesia sp. observada en el "gopher", *Citellus tridecemlineatus*.

Fig. 2.—Antes de la esplenectomía.

Figs. 3-11.—Formas diversas que se presentan durante la intensificación del parasitismo a consecuencia de la esplenectomía. Todas coloreadas con Giemsa y a 1,500 X.

