



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Babesi- ja of Babesi-nee

Diagnostiek bij Babesia

Titia Kortbeek
Arts microbioloog Clb





Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Missen we iets?

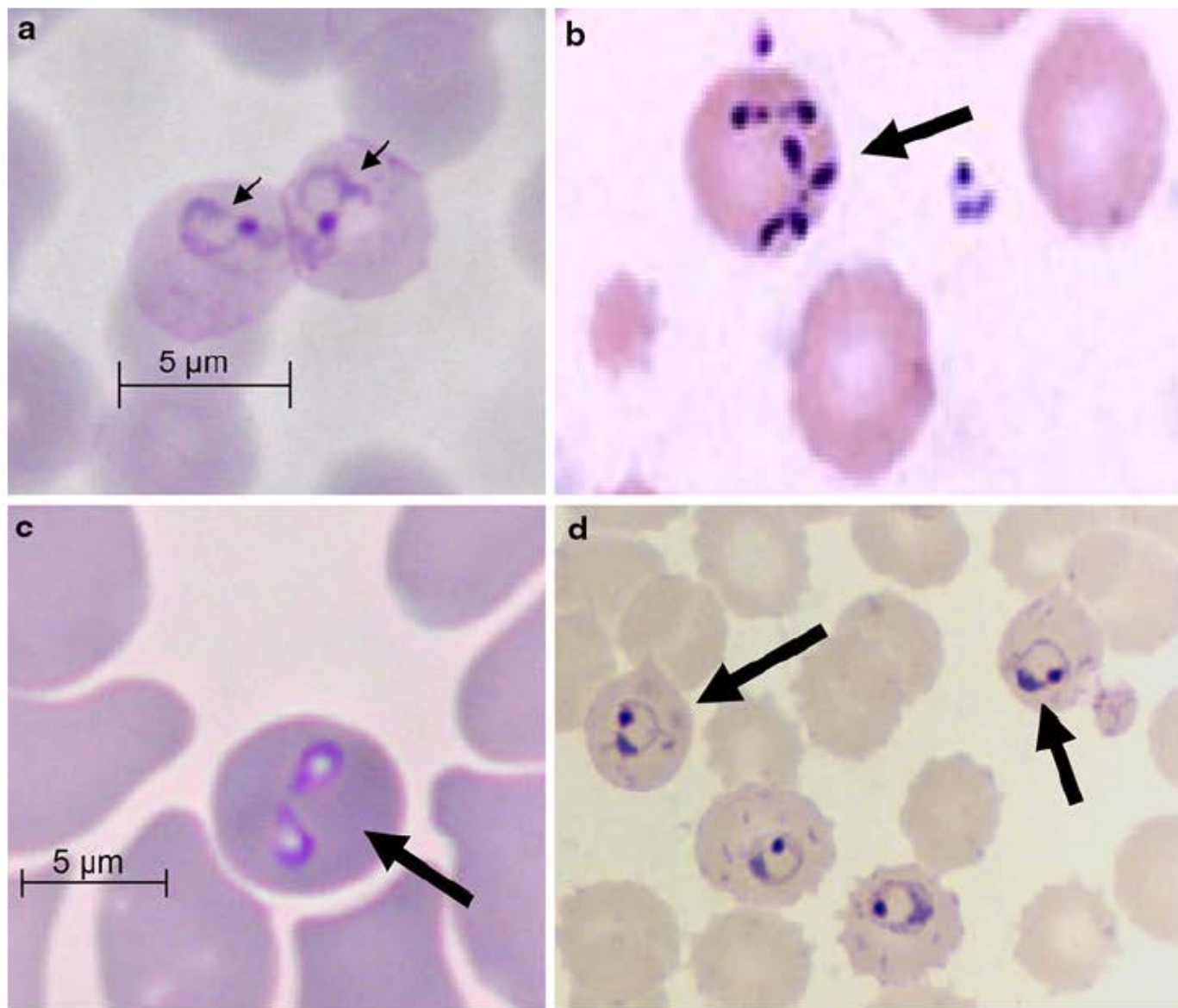
Diagnose van Babesia

Titia Kortbeek
Arts microbioloog Clb

Babesi- ja of Babesi-nee | 24-11-2017



Fig. 2 a–d Photomicrographs of babesia parasites (denoted by *black arrows*) on Giemsa-stained peripheral blood smears showing *Babesia microti* (a), *Babesia divergens* (b), and *Babesia venatorum* (c) in infected erythrocytes. Parasites are about 1.5–2.5 μm in diameter Photomicrographs showing *P. falciparum* (d) on Giemsa-stained peripheral blood smears (modified and adapted from Hunfeld et al. [6])



Babesia

Life Cycle

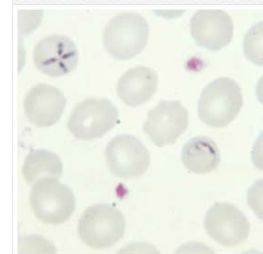
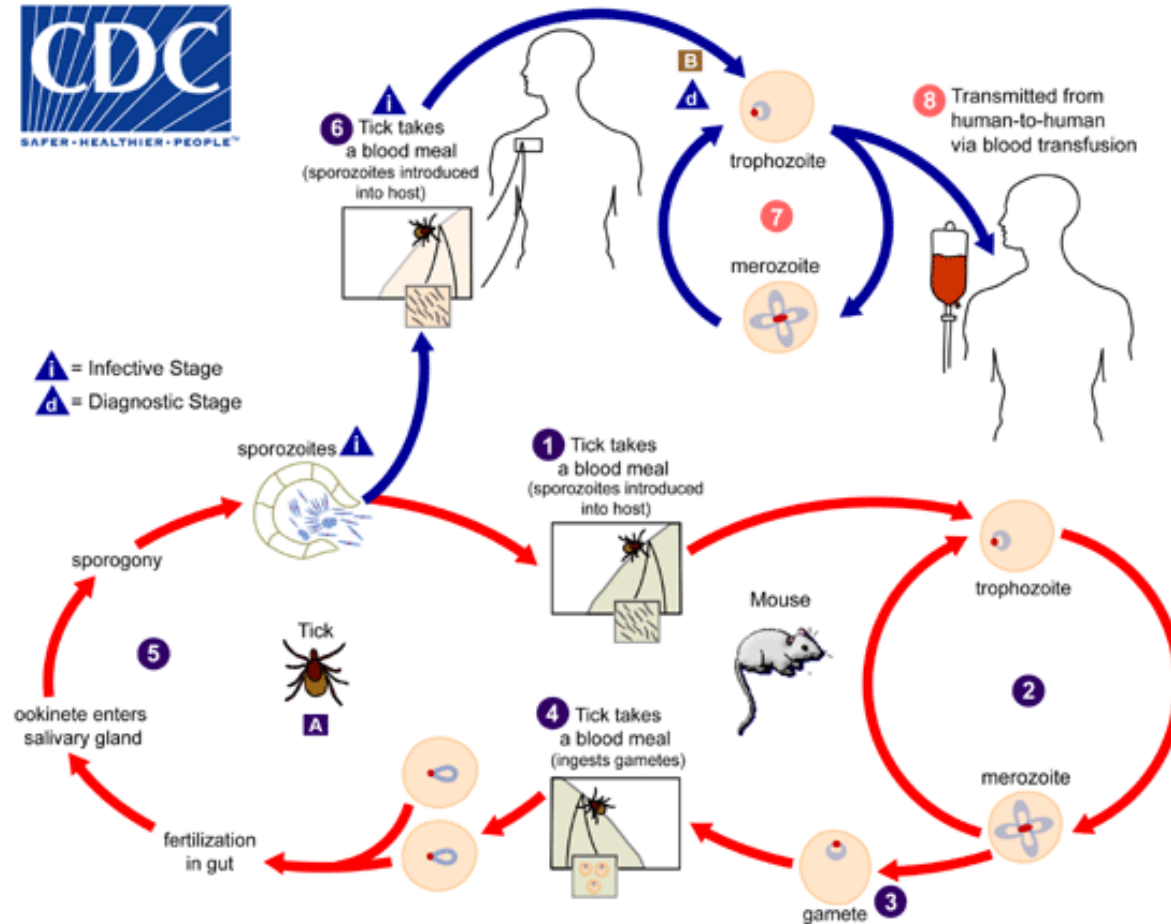
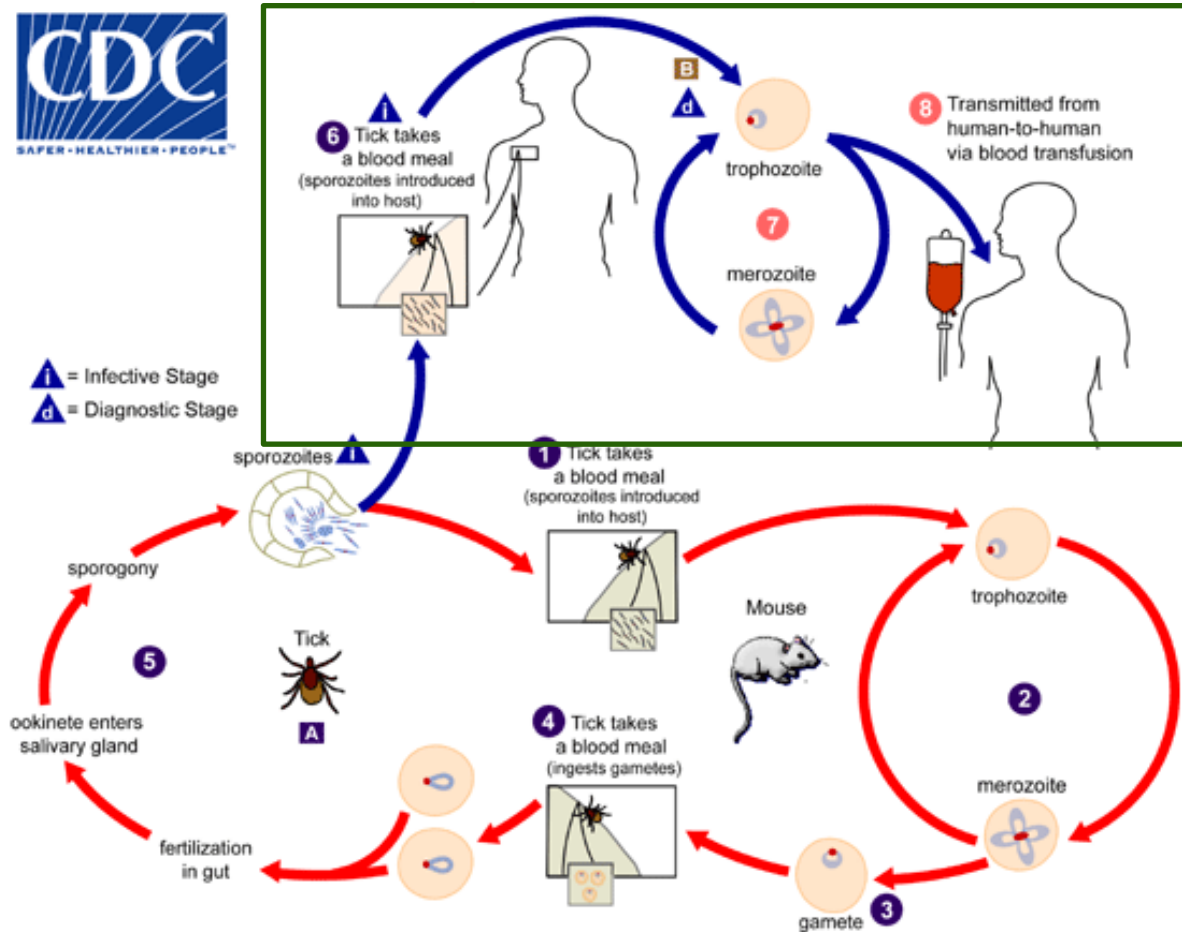


Figure C: *Babesia* sp. in a thin blood smear; note the tetrad form and ameboid trophozoite.

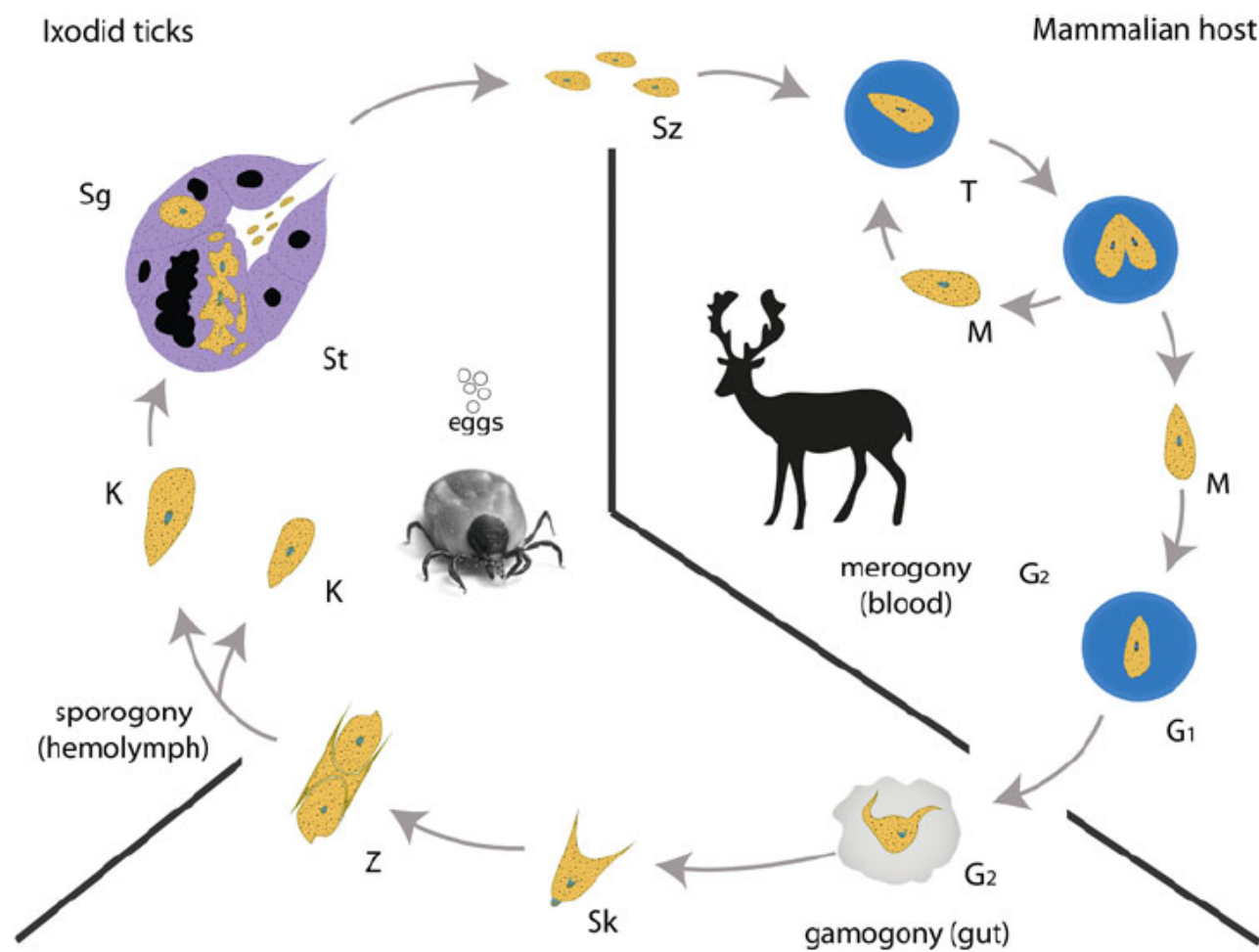
During a blood meal, a *Babesia*-infected tick introduces sporozoites into the mouse host (1). Sporozoites enter erythrocytes and undergo asexual reproduction (budding) (2). In the blood, some parasites differentiate into male and female gametes although these cannot be distinguished at the light microscope level (3). The definitive host is the tick. Once ingested by an appropriate tick (4), gametes unite and undergo a sporogonic cycle resulting in sporozoites (5). Transovarial transmission (also known as vertical, or hereditary, transmission) has been documented for "large" *Babesia* spp. but not for the "small" babesiae, such as *B. microti*.

Babesia in humans

Life Cycle



Humans enter the cycle when bitten by infected ticks (**6**). During a blood meal, a *Babesia*-infected tick introduces sporozoites into the human host. Sporozoites enter erythrocytes (**B**) and undergo asexual replication (budding) (**7**). Multiplication of the blood stage parasites is responsible for the clinical manifestations of the disease. Humans are, for all practical purposes, dead-end hosts and there is probably little, if any, subsequent transmission that occurs from ticks feeding on infected persons. However, human to human transmission is well recognized to occur through blood transfusions (**8**).



bronnen

<http://rivm.nl/Onderwerpen/B/Babesiosis>

<https://www.cdc.gov/dpdx/babesiosis/index.html>

ECCMID 2017 Vienna Annette Zintl:

https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/?q=babesiosis&id=2173&L=0

ECCMID 2014 Barcelona Jeremy Grey and Klaus Peter Hunfeld

https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/?q=babesiosis&id=2173&L=0&x=12&y=22

Hildebrandt A, Gray JS, Hunfeld KP. Human Babesiosis in Europe: what clinicians need to know Infection. 2013 Dec;41(6):1057-72.

Proefschriften Agnetha Hofhuis en Seta Jahfari

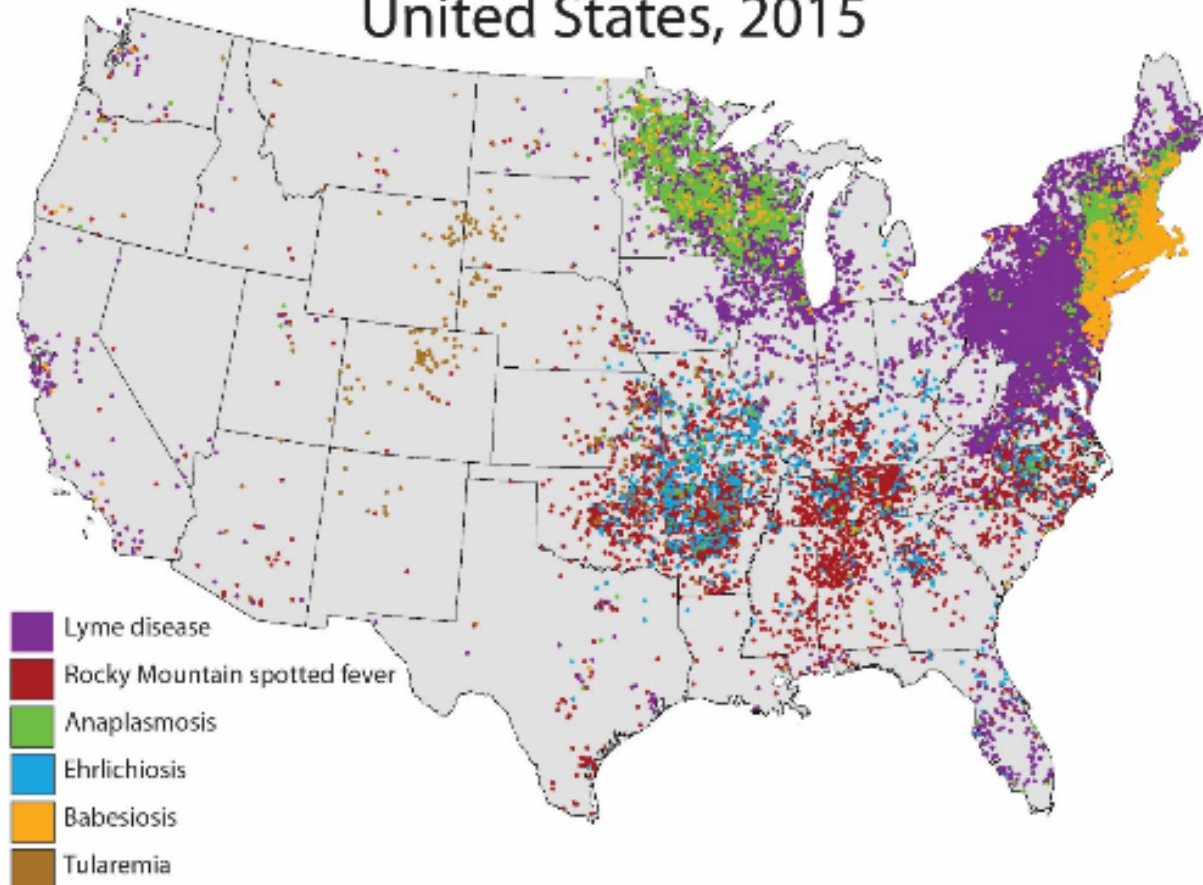




Human cases

Babesia	Cases USA	Cases EUROPE	reservoir
B.microti	>1000 per year	1 endemic case	Knaagdieren, spitsmuizen
B.divergens		40 in total	Runderen, Herten?
B.divergens like (MO-1)	<5 in total		?
B.duncani (WA-1)	<10 in total		?
B.venatorum (EU1-3)		<10 in total	Reeën

Distribution of Key Tickborne Diseases, United States, 2015



NOTE: Each dot represents one case. Cases are reported from the infected person's county of residence, not necessarily the place where they were infected.

NOTE: During 2015, babesiosis was reportable in AL, AR, CA, CT, DE, IL, IN, LA, KY, ME, MD, MA, MI, MN, MT, NE, NH, NJ, NY, ND, OH, OR, RI, SC, SD, TN, TX, UT, VT, WA, WV, WI, and WY.

NOTE: In 2015, no cases of tickborne illness were reported from Hawaii. In 2015, Alaska reported 1 travel-related cases of Lyme disease and 2 cases of tularemia.



Geographic distribution of human babesiosis cases in Europe since 1957

- *B. divergens*
- *B. venatorum*
- *B. microti*





Babesiosis in NL

JA

NEE

Babesia in teken



Teken studie 2003 and 2007 (Wielinga ea VB&ZD 2009)

- 1488 teken uit duinstreek
 - 17 ticks (1.1 %) *Babesia* DNA in *Babesia*-specific 18S rRNA PCR
 - reverse line blot analysis/sequence
 - › 13 x *Babesia* EU1,
 - › 2 x *B. microti*
 - › 1 x *B. divergens*.

Babesia in teken van patienten

Tekenbeet studie 2007-2008

Moleculaire detectie dmv conventionele PCR: 18S rRNA gene



- Teken van patienten : **314 teken** (167 nymf en 135 adult)

95% CI

– Babesia DNA in	3.5 %	1.8- 6.0 %
› <i>B.microti</i>	1.9 %	0.8- 3.9 %
› <i>B.vetatorium</i>	1.3 %	0.4- 3.0 %
› <i>B.divergens</i>	0.3 %	0.0- 1.6 %

Als je uitgaat van 1.1×10^6 tekenbeten per jaar : 21.000 mensen blootgesteld aan *B.microti*

Babesia in bloed van patienten

Tekenbeet studie 2007-2008

Moleculaire detectie dmv conventionele PCR: 18S rRNA gene



- 626 EDTA bloed van patienten: 291 EM ; 335 tekenbeet
 - 1 (0.3%) EM
 - 2 (0.6%) tekenbeet

Babesia divergens positief

- Als je uitgaat van 1.1×10^6 tekenbeten per jaar : 5272 mensen blootgesteld aan *B.divergens*
- Geen relatie met klachten of met wat er in de teken van deze mensen werd gevonden

Dodelijke parasiet bedreigt rundvee

HOME

27 juli 2004

DIEVER - Een dodelijke parasiet die door teken wordt overgedragen, vormt een bedreiging voor rundvee. De parasiet, die tot nu toe zelden opdook in Nederland, is bij zes koeien in het Drentse Diever aangetroffen.

Babesia bij runderen:



- plotseling koorts
- Benauwd
- Bleek
- persen op de mest (doordat deze erg dik wordt)
- meest kenmerkende: is de roodgekleurde urine.
 - De rode urine ontstaat doordat er afbraakprodukten van de rode bloedcellen in de urine uitgescheiden worden waar ook de allereerste naam van het ziektebeeld op gebaseerd was: roodwaterkoorts.

Volgens Gezondheidsdienst voor Dieren (GD)

2017:

- in 2 gebieden *Babesia* vastgesteld bij runderen: Friesland en Overijssel (*B.divergens*)
- Bij paarden: geen positieve dieren in 2017



- Groot deel waarschijnlijk asymptomatisch
Immunocompetente patienten:
 - Weinig specifieke klachten, griepachtige verschijnselen. Koorts, rillingen, hoofdpijn, spierpijn, vermoeidheid, hepatosplenomegalie en hemolytische anemie.
 - Bij *B. microti* zou langdurige subklinische aanhoudende infecties kunnen bestaan; meestal spontaan herstel maar persisterende infectie kan.
- Bij mensen zonder milt en *B. divergens*:
 - Een snel verlopende fulminante infectie; binnen 1-3 weken septische koorts, hemoglobinuria of geelzucht door hemolysis
 - Mortaliteit : tot 42 % (multiorgan failure)
 - 43 *B. divergens* infections in Europe, vooral asplenic patients
- Incubatie tijd: meestal 1-4 weken



Human cases

Babesia	risicogroep	beloop
B.microti	Algehele bevolking	Asymptotisch-ernstig/fataal
B.divergens	Asplenie Met milt	Ernstig / fataal Asymptotisch - Ernstig /niet fataal
B.divergens like (MO-1)	Asplenie	Ernstig / fataal
B.duncani (WA-1)	Algehele bevolking	Asymptotisch-ernstig/fataal
B.venatorum (EU1-3)	Asplenie	Ernstig



(Functionele) asplenie

- Per jaar worden er in Nederland ongeveer 1000 splenectomieën verricht
 - trauma (15%)
 - idiopathische trombocytopenische purpura (ITP) (14%)
 - hematologische maligniteit of andere hematologische ziekten of (20%)
 - accidentele splenectomieën (35%)

Totaal aantal mensen zonder (functionele) milt : onbekend

TABEL 1 Aandoeningen die gepaard kunnen gaan met hyposplenie of functionele asplenie

aandoening

aangeboren

congenitale cyanotische hartziekten

gastro-intestinaal

coeliakie (onbehandeld), met of zonder dermatitis herpetiformis

inflammatoire darmziekten (met name ernstige of onbehandelde colitis ulcerosa)

leverziekten

cirrose met of zonder portale hypertensie

chronische actieve hepatitis

hematologisch

sikkelcelanemie

overige hemoglobinopathieën (zoals hemoglobine-S of -C of β -thalassemie)

primaire trombocytemie

auto-immuun

vasculitis (miltinfarct)

systemische lupus erythematoses (SLE) of discoïde lupus erythematoses

reumatoïde artritis

ziekte van Graves

polyarteritis nodosa

systeemziekten

amyloïdose

sarcoïdose

vasculair

occlusie van de A. lienalis

trombose van de V. lienalis

trombose van de A. coeliaca

overig

'graft-versus-host'-reactie

beenmergtransplantatie

gebruik van glucocorticoïden (hoge dosis)

miltbestraling (bijvoorbeeld bij ziekte van Hodgkin)

ernstige hiv-infectie, met een persisterend laag aantal CD4⁺-T-lymfocyten

Diagnostiek

- Aantonen parasiet in bloed: bij acute infectie
 - Microscopie : Giemsa kleuring
 - › DD en uitstrijk
 - › Lijkt op *Plasmodium* maar aantal verschillen
- NB: lage parasitaemie!

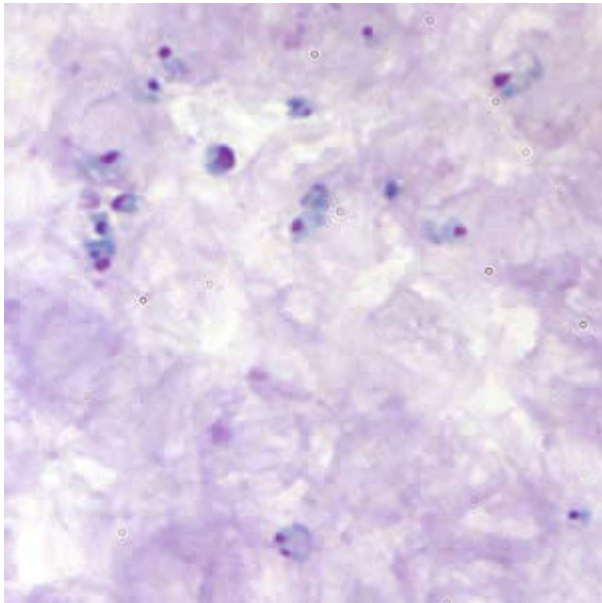


Figure A: *Babesia* sp. in thick blood smears stained with Giemsa

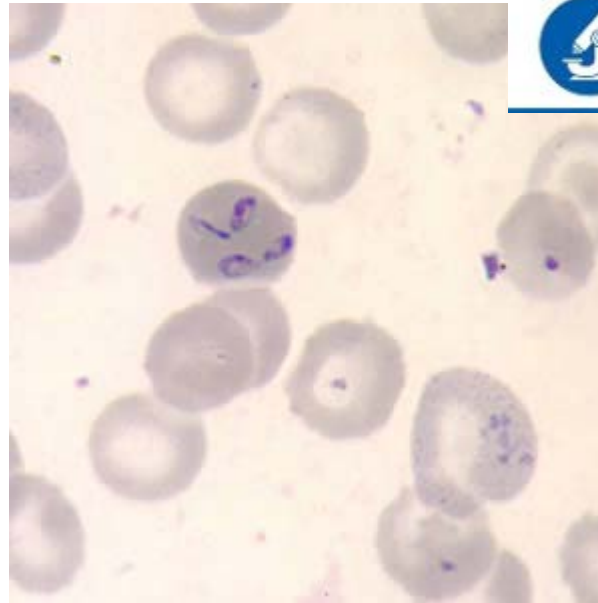


Figure B: *Babesia* sp. in a thin blood smear stained with Giemsa



PCR

- in EDTA bloed : niet veel laboratoria doen dit routinematig
 - AMC
 - RIVM (projectmatig, alleen na overleg)
 - ?

Serologie



- IFAT indirecte immunofluorescentie test
 - Weinig commerciële testen op de markt
 - Glaasjes van Focus Diagnostics
 - *B. microti* antigeen in erys van hamsters: lastig aflezen.
 - IgG en IgM
 - › Geen positieve controle voor IgM verkrijgbaar

Sensitiveit : volgens firma 88-96% bij *B. microti* patient.

Specificiteit: volgens firma 100%

- › Kruisreacties bij patienten met malaria ; titers homologous antigen hoogste
- Kruisreacties tussen verschillende *Babesia* soorten wordt verondersteld

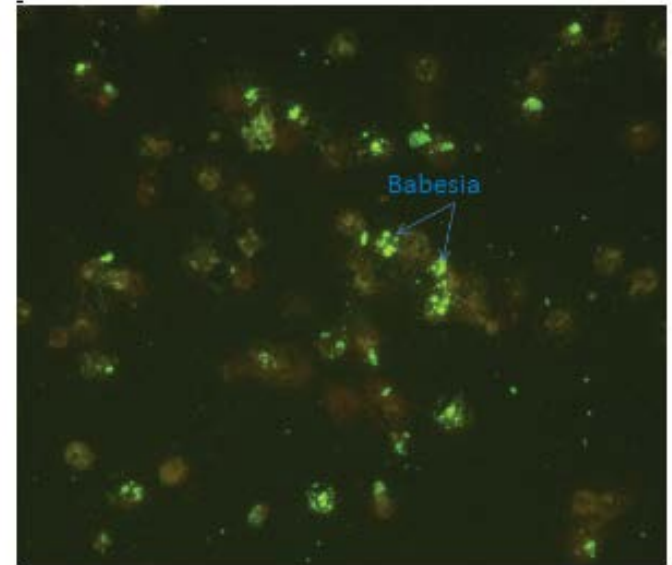
Serologie



Afkapwaarde firma

- 1:32 in IgG
- 1:20 in IgM

Uit literatuur:



IgG: $\geq 1:64$ is positief, waarde van 1:256 (of 4-voudige titerstijging is diagnostisch voor een acute infectie)

Eigen validatie: twee positieve patienten (import uit VS) positief in IFAT IgG en IgM; bevestigd door CDC Atlanta



Serologie vervolg

- 12 patiënten met een positieve teek uit de Tekenbeet studie 2007
37 met negatieve teek 1e en 2e sera getest in Babesia IgG en IgM;
sera daarna ter confirmatie opgestuurd naar collega Hunfeld voor B.divergens serologie

	Sera for <i>Babesia</i> serology RIVM		cut off 1/64			Babesia serology uitslag van Hunfeld, B. divergens	
teek uitslag	first sample	second sample	IgG 1e	IgG 2e		IgG	IgG
						first sample	second sample
2 teken: B.EU1 en B.microti	7010800050	7020800094	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.divergens?	7010800054	7020800026	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.EU1	7010700016	7020700111	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.EU1	7010700188	7020700156	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.microti	7010700093	7020700068	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.microti	7010700120	7020700113	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.microti	7010800168	7020800129	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
B.microti	7010800197	7020800166	<1:64	<1:64	negatief	128	128
B.microti	7010800198	ND	<1:64	ND	negatief	<16	
catch all	7010700011	7020700004	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
catch all	7010700091	7020700081	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16
catch all	7010700099	7020700071	<1:64	<1:64	negatief	<16	<16



- Slechts bij 1 patient enige reactie in de B.divergens; volgens collega Hunfeld niet hoog genoeg om relevant te zijn.
- Bij 37 patienten met negatieve teek : geen enkele positief in de Babesia IFA (cut off 1:64) ; bij 2 in eerste serum een titer van 1:32, bij een werd dit ook gezien in het 2e serum. Bij 7 patienten een 1:32 titer in het tweede serum. Geen van allen werd bevestigd door Duitsland. Bij 1 patient wel een titer in Duitsland maar niet bij RIVM.
- Kruisreacties getest met Toxoplasma, Malaria, Trypanosoma, Leishmania, Echinococcus en E.histolytica
 - Lage titers (1:64) in malaria en trypanosoma positieve sera



Co-infecties

- Regelmatig vragen om serologie door patienten met lyme of patienten met niet bevestigde lyme

Wij voeren de serologie alleen uit na overleg – of als klinische gegevens zijn beschreven:

1. Heeft de patient verschijnselen gehad die passen bij een *Babesia* infectie: koorts, anemie, donkere urine (zwartwaterkoorts), myalgia?
2. Is er sprake van asplenie?
3. Is de patient in een endemisch gebied geweest? (zoja waar, wanneer?)
4. Is er sprake van een tekenbeet?



- Missen we infecties in NL?
 - Bij mensen met een milt
 - Bij mensen zonder (functionele)milt
- Zou Babesia gediagnostiseerd worden bij een ernstig zieke patient met koorts en hemolytische anemie zonder reisverhaal?



Shakespeare Theater Diever

www.shakespearetheaterdiever.nl



**"De voorstelling is
een smulpartij:
energiek,
verrassend,
kolderiek in het
ensemblespel
en goed voor
reeksen
lachs salvo's"**

Jacques J. d'Ancona





- Wat te doen met een kind dat graag buiten speelt uit Diever en een splenectomie heeft ondergaan?





Babesiosis in NL

JA

NEE



- Dank aan Agnetha Hofhuis , Nahid Nozari , Joke van der Giessen en medewerkers parasitologie IDS en Z&O RIVM
- Vragen?
- Titia.kortbeek@rivm.nl