

GRADO DE INFECCIÓN Y MORTALIDAD EN LA GARRAPATA DEL CABALLO *Anocentor nitens* (ACARI: IXODIDAE) NATURALMENTE INFECTADA POR EL PROTOZOA *Babesia caballi* (APICOMPLEXA: BABESIIDAE)

Infection Degree and Mortality in the Horse Tick *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae)
Naturally Infected by the Protozoan *Babesia Caballi* (Apicomplexa: Babesiidae)

Franklin F. Mujica¹, Carlos Luiz Massard², Marcos Pinheiro Franque³, Alfredo Coronado¹, María Forlano¹ y Claribel Suarez¹

¹Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Decanato de Ciencias Veterinarias-UCLA Estado Lara, Venezuela.
E-mail: fmujica67@hotmail.com. ²Departamento de Parasitología Animal/ IV, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
(UFRRJ), Brasil. ³ Alumno de Medicina Veterinaria (UFRRJ), Brasil.

RESUMEN

Con la finalidad de estudiar el porcentaje y grado de infección y la mortalidad de la garrapata *Anocentor nitens* infectada con *Babesia caballi*, fueron utilizadas 160 teleoginas de *A. nitens* provenientes de un equino con infección natural por *B. caballi*. Se conformaron 4 grupos de 40 teleoginas cada uno. Los grupos se evaluaron a los 5; 10; 15 y 20 días posteriores al desprendimiento del hospedador, constituyendo los grupos A, B, C, y D respectivamente. Se observó que un 49,62% de las teleoginas fueron positivas a esporoquinetos de *B. caballi*. El porcentaje de infección por esporoquinetos de *B. caballi* en la hemolinfa de las teleoginas fue de 67,5; 55; 55 y 20% para los grupos A, B, C y D respectivamente. Se evidenció una mortalidad del 85,1; 50; 59,1 y 25% para las teleoginas infectadas y de 7,7; 50; 77,8 y 65,6% para las teleoginas no infectadas de los grupos A, B, C y D respectivamente. El grado de infección en la hemolinfa disminuyó con el tiempo, lo cual puede estar relacionado con la migración de los esporoquinetos a otros órganos. La mortalidad en las teleoginas infectadas sugiere que *A. nitens* es susceptible al parasitismo por esporoquinetos de *B. caballi*, lo cual se traduce en un efecto adverso sobre la longevidad y el potencial reproductivo de esta especie.

Palabras clave: *Babesia caballi*, esporoquinetos, *Anocentor nitens*.

ABSTRACT

One hundred and sixty *Anocentor nitens* infected with *Babesia caballi* from a horse, naturally infected by *B. caballi*, were analyzed for the purpose of evaluating both percentage and degree of infection by *Babesia caballi*, as well as mortality in ticks. Four groups (A, B, C, and D) of 40 females each were conformed. The groups were evaluated at 5, 10, 15 and 20th days after the natural detachment of the ticks from the host. *B. caballi* sporokinets were observed in 49.62% of the ticks. Percentage of infection for the groups A, B, C, and D were 67.5, 55.0, 55.0 and 20.0% respectively. Mortality in the infected ticks reached 85.1, 50.0, 59.1 and 25.0%, whereas in the uninfected ones, the values were 7.7, 50.0, 77.8 and 65.6% for groups A, B, C, and D respectively. The number of *B. caballi* sporokinets in the haemolymph decreased during the trial. This fact can be related to the migration of the sporokinets from the haemolymph to other tissues. The data allows us to confirm the fact that the tick *A. nitens* is susceptible to parasitism by *B. caballi*, expressed by adverse effects on the longevity and the reproductive potential of this species.

Key words: *Babesia caballi*, sporokinets, *Anocentor nitens*.

INTRODUCCIÓN

La *Babesia. equi* y *Babesia caballi*, protozoarios causantes de la babesiosis equina, presentan una amplia distribución geográfica, presentándose en gran parte de las áreas tropicales y subtropicales del mundo. [5, 10, 12]. En el continente americano, la especie *B. caballi* tiene su transmisión relacionada a la garra-

pata *Anocentor nitens* [7, 8, 18]. La participación de *A. nitens* como vector de *B. caballi* en América fue comprobada por primera vez a través de estudios de transmisión experimental en equinos en Florida [16, 17]. En Brasil, la participación de *A. nitens* como vector de *B. caballi* fue comprobada por Pfeifer y col. [14], Pfeifer [13] y Linhares [11], al observar formas de multiplicación de *B. caballi* en la hemolinfa, ovarios y huevos de esta garrapata.

Antony y col. [1], registraron variaciones en los parámetros biológicos de hembras de *A. nitens* que se ingurgitaron en equinos infectados con *B. caballi*, tales como una tasa de infección con variaciones entre 65 y 100% y tasas de mortalidad entre 22 y 68%, observadas luego del séptimo día de incubación, mientras que en las garrapatas no infectadas, la tasa de mortalidad fue del 3%. Algunas garrapatas infectadas murieron sin realizar postura, también el peso de las garrapatas infectadas fue menor que el peso de las no infectadas y produjeron menor cantidad de huevos e incluso se observó la presencia de huevos infértiles. Así, los autores concluyeron que la longevidad de las garrapatas ingurgitadas y su potencial reproductivo eran reducidos en las infecciones por *B. caballi* [9], con la finalidad de conocer la interacción de quinetos de *B. caballi* con células de la garrapata vector, observaron una alta tasa de infección y de mortalidad de las hembras de *A. nitens* que se ingurgitaron en un hospedador infectado. En las hembras infectadas hubo un aumento en el período de pre-postura y reducción en la producción de huevos. Estos estudios demuestran que *B. caballi* es un protozoario que induce una enfermedad en el hospedador vertebrado y es también un patógeno para su hospedador invertebrado *A. nitens*.

Los conocimientos actuales del comportamiento de las babesias en el hospedador invertebrado no están bien dilucidados, como la interacción del parásito con las células de la garrapata y los aspectos cuantitativos de la multiplicación de los esporoquinetos [9], por lo cual se necesitan estudios adicionales. El objetivo de esta investigación fue estudiar el grado y porcentaje de infección y la mortalidad de teleoginas de *A. nitens* luego del desprendimiento de su hospedador vertebrado infectado con *B. caballi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el presente trabajo fueron utilizadas 160 teleoginas de *A. nitens* provenientes de un equino, macho castrado, mantenido en la Estación para la investigación parasitológica W.O. Neitz del Instituto de Veterinaria de la Universidad Federal Rural do Río de Janeiro, Brasil; el mismo presentó una infección natural por *B. caballi* comprobada por frotis sanguíneos y Reacción en Cadena de la Polimerasa. Las teleoginas, una vez desprendidas naturalmente del equino, fueron lavadas con agua y secadas en papel filtro. Posteriormente fueron fijadas en placas de Petri y colocadas en una incubadora climatizada a una temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa mayor a 80%. Se conformaron 4 grupos de 40 teleoginas cada uno, grupos A, B, C y D con 5, 10, 15 y 20 días posteriores al desprendimiento del hospedador (DPDH) respectivamente.

Para la evaluación del grado de infección por esporoquinetos de *B. caballi* en la hemolinfa, fueron tomadas diariamente muestras de hemolinfa a partir de la sección de la región distal del tarso del primer par de patas (1° pp.) [2, 3]. Una vez obtenida la hemolinfa, fue fijada y coloreada con Giemsa. Todas las láminas fueron examinadas en foto microscopio (Leitz Wetzalar –Dialux 20 EB). El grado de infección de las teleoginas de *A. nitens* se evaluó según la metodología descrita por Kurti y col. [9] y se estableció el siguiente criterio: negativo (-) 0 esporoquinetos, positivo (+) de 1 – 50 esporoquinetos, positivo (++) de 51 – 100 esporoquinetos y positivo (+++) más 100 esporoquinetos, en 10 campos estudiados respectivamente. La mortalidad se evaluó en los diferentes períodos de tiempo posteriores al desprendimiento natural de las teleoginas. Se realizó el análisis estadístico Chi cuadrado con el programa estadístico SPSS, versión 10,0.

RESULTADOS

Del total de 160 garrapatas obtenidas del equino infectado naturalmente con *B. caballi*, se observó que 49,62% fueron positivas a esporoquinetos de *B. caballi* y el 50,38% resultaron negativas a través del estudio microscópico de la hemolinfa. El porcentaje de infección de las teleoginas para los diferentes grados de infección por esporoquinetos de *B. caballi* en la hemolinfa fue de 67,5; 55; 55 y 20% para los grupos A, B, C y D respectivamente (TABLA I), presentando el grupo D diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación con los otros grupos.

Al relacionar el porcentaje de garrapatas infectadas con los diferentes grados de infección en todos los grupos estudiados, se observó que a un mayor grado de infección (+++ y ++) fue menor el porcentaje de infección de las teleoginas (12,5 y 20%, respectivamente) y a un menor grado de infección (+), el porcentaje de garrapatas infectadas fue mayor (35%). El grado de infección por esporoquinetos en la hemolinfa de las teleoginas también disminuyó al transcurrir los días posterior al desprendimiento el hospedador (DPDH), siendo los grupos C y D, los que presentaron el menor grado de infección (TABLA I).

El porcentaje general de mortalidad en las garrapatas fue del 58,75%, mientras que para las teleoginas infectadas fue de 31,25% y para las no infectadas fue 28,13%. En los grupos A, B, C y D se evidenció una mortalidad del 85,1; 50; 59,1 y 25% para las teleoginas infectadas y de 7,7; 50; 77,8 y 65,6% para las no infectadas respectivamente (TABLA I). No se observaron diferencias significativas entre la mortalidad de las garrapatas (infectadas y no infectadas) para todos los grupos experimentales. No obstante, al relacionar mortalidad y grado de infección, en el grupo A se observó un 100% de mortalidad para el grado de infección +++ y ++ con diferencias significativas ($P < 0,01$) al compararla con la mortalidad para el grado de infección + y – (71,4 y 7,7% respectivamente). No se observaron diferencias significativas entre los grupos B, C y D entre mortalidad y grado de infección.

TABLA I
PORCENTAJE DE INFECCIÓN Y MORTALIDAD DE LA GARRAPATA *A. nitens* NATURALMENTE INFECTADA CON *B. caballi* EN RELACIÓN AL GRADO DE INFECCIÓN A LOS 5, 10, 15 Y 20 DÍAS POSTERIOR AL DESPRENDIMIENTO DEL HOSPEDADOR (DPDH)

Grado de infección	Grupo A (5 DPDH)		Grupo B (10 DPDH)		Grupo C (15 DPDH)		Grupo D (20 DPDH)		Número de teleoginas
	% Infección	% mortalidad	% Infección	% mortalidad	% Infección	% mortalidad	% Infección	% mortalidad	
+++	12,5	100	10,0	50,0	7,5	0	0	0	12
++	20,0	100	20,0	62,5	10,0	100	0	0	20
+	35,0	71,4	25,0	40,0	37,5	60,0	20,0	25,0	47
0	32,5	7,7	45,0	50,0	45,0	77,8	80,0	65,6	81

0 (0 esporocinetos por campo). + (1 a 50 esporocinetos por campo). ++ (51 a 100 esporocinetos por campo). +++ (> de 100 esporocinetos por campo).

DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en relación al porcentaje de infección con esporocinetos de *B. caballi* en las teleoginas de *A. nitens* concuerdan con los datos obtenidos por Anthony y col. [1], quienes al evaluar el efecto de *B. caballi* en la garrapata tropical del caballo *A. nitens* obtuvieron un porcentaje de infección del 50% en las teleoginas obtenidas de un equino infectado experimentalmente con este protozooario. En otro estudio se reportó un 66,66% de las garrapatas *A. nitens* infectadas por *B. caballi* [9]. No obstante, los resultados difieren de los hallazgos de Friedhoff [6], donde el porcentaje de infección fue de 3 a 35% para *Dermacentor marginatus* y *D. reticulatus* respectivamente, las cuales son garrapatas de áreas enzoóticas de Rusia.

Los grados de infección reportados en esta investigación son similares a los expresados por Kurtti y col. [9], quienes observaron que los grupos con grado de infección (+), (++) y (+++) presentaban índices de infección de 46,66; 11,11 y 8,88% respectivamente.

Los datos obtenidos permiten confirmar que las garrapatas *A. nitens* son hospedadores invertebrados de *B. caballi* y que las mismas son sensibles al parasitismo de *B. caballi*, con un efecto adverso en la longevidad. Tal aseveración concuerda con lo observado por Anthony y col. [1] y Holbrook y col. [7], quienes observaron que el número de esporocinetos disminuye en la hemolinfa de *A. nitens*, pasando a los diferentes sistemas, incluyendo los ovarios y huevos, sugiriendo que *B. caballi* puede desarrollarse en muchos tejidos de las garrapatas como se observa en *B. bovis* y *B. bigemina* [15]. El planteamiento anterior podría explicar lo que ocurre en las garrapatas de los grupos C y D, donde se observa una disminución en el número de teleoginas infectadas en grado (+++) y (++)

En relación al elevado número de esporocinetos encontrados en el grupo A, es importante destacar que estos resultados concuerdan con los obtenidos en otros estudios [7, 11], donde se reporta que los esporocinetos son las formas predominantes en la hemolinfa luego del 6° DPDH, y que du-

rante esta fase se encuentran en un proceso de multiplicación para migrar posteriormente a otros órganos y sistemas de la garrapata, destacándose entre ellos el sistema reproductor. Esto fue confirmado por la presencia de esporocinetos de *B. caballi* en los ovarios y huevos de teleoginas de *A. nitens* evaluadas a los 12 DPDH [11].

La mortalidad en las teleoginas no infectadas se incrementó con la edad de las mismas, lo cual se explica por el proceso de muerte fisiológica, propio de estos ixódidos [4]. En las teleoginas infectadas, el porcentaje de mortalidad observado coincide con los resultados obtenidos en hembras de *A. nitens* colectadas de un equino experimentalmente infectado con *B. caballi*, reportándose una tasa de mortalidad variable de 15 a 68% [1]. La alta mortalidad observada en las teleoginas con un mayor grado de infección del grupo A coincide con lo reportado por Linhares [11]. Esto podría estar relacionado con la cantidad de merozoítos ingeridos por la teleogina al final del período de alimentación rápida (últimas 24 horas). Durante la fase de migración de los esporocinetos desde el intestino de la garrapata hasta la hemolinfa, pudiera ocurrir daño a nivel del epitelio intestinal, lo cual se traduce en muerte de la garrapata. De esto se desprende que un número elevado de esporocinetos en la hemolinfa durante los cinco primeros días estaría relacionado con una mortalidad elevada debida a un mayor daño a nivel intestinal. Este trabajo permitió ampliar la información existente sobre algunos aspectos patógenos de la *B. caballi* en la garrapata *A. nitens*, con énfasis en el grado de infección y en la mortalidad de las mismas.

CONCLUSIONES

La garrapata *A. nitens* es susceptible a la infección por *B. caballi*, observándose una relación directa entre el grado de infección y la mortalidad que ocurre a los cinco días luego del desprendimiento del hospedador.

El número de esporocinetos en la hemolinfa disminuye progresivamente en el tiempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANTHONY, D.W.; JOHNSON, A.J.; HOLBROOK, A.A. Some effects of parasitism by *Babesia caballi* on the tropical horse tick, *Dermacentor (Anocentor) nitens*. **J. of Invertebr Pathol**, 15: 113–117. 1970.
- [2] BARREIRA, J.D. Efeito da infecção de *Babesia bovis* (Babes, 1888) e *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) (Protozoa: Babesiidae) sobre os parâmetros biológicos do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1893). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro, (Tese Doutorado). 138 pp. 2001.
- [3] BURGDORFER, W. Hemolymph test: A technique for detection of rickettsiae in tick. **Am J. Trop Med and Hyg** 19: 1010–1014. 1970.
- [4] DAEMON, E.; SERRA F.; N.M. Biologia de *Anocentor nitens* Neumann, 1897: Fase não parasitária em condições de laboratório. **Rev Bras Med Vet**. 6: 181-183. 1984.
- [5] DE WALL, D.T. Equine piroplasmosis: a review. **Brit Vet J** 148: 6-14. 1992.
- [6] FRIEDHOFF, K.T. Die Piroplasmen der Equiden–Bedeutung für den internationalen Pferdeverkehr. Berl. Münch. **Tierärztl Wochenschr**. 95: 368-374. 1982.
- [7] HOLBROOK, A.A.; ANTHONY, D.W.; JOHNSON, A.J. The development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. **J Protozool.**, 15: 391–396. 1968.
- [8] KELSER, R.A.A. Note on Equine Piroplasmosis. **Abstr Bacteriol**. 6: 21-22. 1922.
- [9] KURTTI, T.J.; MUNDERLOH, U.G.; STILLER, D. The interaction of *Babesia caballi* kinetes with tick cells. **J of Invertebr Pathol**. 42: 334–343. 1983.
- [10] LAVERAN, A. Contribution à l'étude de *Piroplasma equi*. **Recueil Médecine Vétérinaire**. 8: 380. 1901.
- [11] LINHARES, G.F.C. Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de eqüídeos, com ênfase à microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro, (Tese Doutorado). 105 pp. 1994.
- [12] NUTTALL, G.; STRICKLAND, C. On the occurrence of two species of parasites in equine "Piroplasmosis" or "Biliary fever". **Parasitol**. 5: (1) 65-83. 1912.
- [13] PFEIFER B., I.B.F. Epidemiologische untersuchungen uber infektionen von pferden mit *Babesia equi* und *Babesia caballi* in Brasilien. Hannover. Escola de Medicina Veterinária de Hannover. Instituto de Parasitologia. (Tese Doutorado). 109 pp. 1993.
- [14] PFEIFER, I.B.; FRIEDHOFF, K.T.; MASSARD, C.L.; LINHARES, G.F.C. Diagnosis of natural infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**. 15: 105-107. 1992.
- [15] RIEK, R.F. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). **Austr J of Agric Res**. 17: 247-254. 1966.
- [16] ROBY, T.O.; ANTHONY, D.W. The transmission of equine piroplasmosis by the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. **Am J Vet. Res**. 142: 768-769. 1963.
- [17] ROBY, T.O.; ANTHONY, D.W.; THORNTON, C.W.; HOLBROOK, A.A. The heredity transmission of *Babesia caballi* in the tropic horse ticks, *Dermacentor nitens*, Neumann. **Am J Vet. Res**. 25: 494-499. 1964.
- [18] STILLER, D.; FRERICHS, W.M. Experimental Transmission of *Babesia caballi* to Equids by Different Stages of the Tropical Horse Tick, *Anocentor nitens*. **Recent Advances in Acarology**, II:263-268. 1979.