

Evaluación de la infección por *Babesia* spp. en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y la infestación en bovinos de 3 a 9 meses de edad en 9 hatos ganaderos del Magdalena medio Colombiano

Assessment of the infection of ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* by *Babesia* spp., and the infestation in cattle of 3-9 months in the Magdalena area during the rainy season of 2010

Luisa López H.*§, Sirley Flórez Z.*§, Andrea Múnera M.*§, Sandra Ríos T.†§, Leonardo Ríos O.‡§ ||

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La babesiosis bovina es una infección causada por un hemoparásito del género *Babesia*, el cual es transmitido por garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. En la dinámica de transmisión del parásito se tienen en cuenta las condiciones geográficas, ambientales y epidemiológicas de la zona en estudio, factores indispensables para comprender la dinámica de transmisión y poder diseñar estrategias de control adecuadas.

OBJETIVO

Describir el grado de infestación por garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y la infección por *Babesia* spp. en los vectores capturados en bovinos entre los tres y nueve meses de edad, pertenecientes a nueve hatos ganaderos del Magdalena medio Colombiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio de tipo descriptivo con un muestreo por conveniencia, el número de terneros muestreados fue de 237. Se obtuvo un total de 770 garrapatas, que fueron incubadas por siete días a temperatura ambiente con una humedad relativa entre 80%-90%, para el posterior análisis de su hemolinfa por medio de microscopía óptica.

RESULTADOS

El grado de infestación total de la zona fue de 3,2 garrapatas por cada bovino. El porcentaje total de garrapatas positivas para la identificación de formas parasitarias de *Babesia* spp. fue de 9,1%. Los bovinos de 6 y 7 meses de edad mostraron el mas alto grado de infestación con 4,7 garrapatas por cada bovino. Se halló una correlación positiva entre la frecuencia del baño garrapaticida y la carga parasitaria (Rho: 0,168 y $p=0,010$). Por último se obtuvo correlación entre la carga parasitaria y el tipo de ganadería $p=0,04$.

CONCLUSIÓN

Es necesario realizar estudios analíticos que profundicen la relación entre indicadores entomológicos y parasitológicos y las medidas de control vectorial.

PALABRAS CLAVES

Babesia/parasitología, enfermedades transmitidas por garrapatas, garrapatas, ganado, *Rhipicephalus microplus*.

*Estudiantes Microbiología y Bioanálisis, †Microbióloga, Magister en Microbiología y Bioanálisis, ‡Profesor Escuela de Microbiología, §Grupo de Investigación Microbiología Veterinaria Universidad de Antioquia.
|| Contacto: lrios_01@hotmail.com - Recepción: 10-26-2012. Aceptación: 09-02-2013.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Bovine babesiosis is an infection caused by the genus *Babesia* hemoparasite, which is transmitted by ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In the dynamics of parasite transmission different factors like geographic, environmental and epidemiological are needed to comprehension of dynamic transmission and to design appropriate control strategies.

OBJECTIVE

To describe the degree of infestation by ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Babesia* spp. in the vectors captured in cattle between the three and nine months of age, from nine herds from Colombian Middle Magdalena.

MATERIALS AND METHODS

We carried out a descriptive study with a convenience sample; the number of calves sampled was a total of 237.770 ticks were incubated for seven days at room temperature with relative humidity between 80%-90%, for subsequent analysis of their hemolymph by optical microscopy.

RESULTS

The degree of infestation of the total area was 3.2 ticks per calf. The calves of six to seven months showed the highest degree of infestation with 4.7 ticks per calf. The total percentage of positive ticks by identification of parasitic forms of *Babesia* spp. was 9.1%. We found a positive correlation between the frequency of bathing ticks and parasite load (Rho: 0.168 and $p = 0.010$). Finally correlation was obtained between the parasite load and the type of farming $p = 0.04$.

CONCLUSIONS

Analytical studies are needed to deep into the relationship between entomological and parasitological and vector control strategies.

KEY WORDS

Babesia/parasitology, diseases transmitted by ticks, ticks, cattle, *Rhipicephalus microplus*.

INTRODUCCIÓN

La Babesiosis bovina es una enfermedad causada por un parásito protozoario intraeritrocítico del orden Piroplasmida, *phylum Apicomplexa*, género *Babesia*, que se encuentra ampliamente distribuido en países tropicales y subtropicales. *B. bigemina* y *B. bovis* son las especies más frecuentemente relacionadas con esta enfermedad en bovinos y son transmitidas en América Latina por garrapatas del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*,¹ estos ectoparásitos distribuidos en todo el mundo infestan alrededor del 80% de los bovinos causando pérdidas cercanas a los 3.000 millones de dólares.^{2,3}

La babesiosis bovina se encuentra determinada por la presencia del vector y la capacidad de este para transmitir el parásito. La presencia del vector depende de condiciones medio ambientales como altura menor a los 2.200 m.s.n.m., temperaturas entre los 28°C y 32°C y una humedad relativa de 80% al 90%,⁴ en el Magdalena medio colombiano se presentan las condiciones medioambientales para el desarrollo del parásito y del vector, con una altura de 125 m.s.n.m., temperatura media de 27°C, presenta clima húmedo y grandes extensiones de pasto destinadas a la ganadería tanto de ceba como de doble propósito.⁵

En la transmisión de la babesiosis se establece una relación entre la garrapata, el parásito y el bovino, definida como estabilidad enzoótica, que tradicionalmente se ha evaluado por la determinación de anticuerpos tipo IgG en bovinos de tres a nueve meses de edad; sin embargo existen otros indicadores como el grado de infección en el vector y el grado de infestación en el bovino, que permiten conocer el comportamiento de la transmisión del parásito.^{2,6,7}

En zonas endémicas del Magdalena Medio donde la principal actividad económica es la ganadería, se establecieron zonas de estabilidad e inestabilidad enzoótica para la infección producida por *B. bovis* y *B. bigemina*, mediante la detección de anticuerpos en terneros de tres a nueve meses de edad,⁸ sin embargo en este trabajo se hace necesario evaluar otros indicadores que permitan estudiar el comportamiento del parásito en las garrapatas y la influencia que tienen los factores bióticos y abióticos en las dinámicas de transmisión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio descriptivo no representativo con un muestreo por conveniencia, con una población de referencia de 13.800 bovinos de 200 hatos ganaderos, se tuvo en cuenta el promedio de la población en nueve hatos (503); un nivel de confianza (z) del 95% y un error probabilístico (e) del 5%, una variación del fenómeno (p) de 0,5%. A través del programa estadístico Epi-info 2004 se calculó una muestra (n) de 235 bovinos.

SITIO DE ESTUDIO

El estudio fue desarrollado en inmediaciones del Magdalena medio, en los municipios de Puerto Berrío (Antioquia) y Cimitarra (Santander) en el mes de mayo de 2010 durante la época lluviosa según datos del IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia) (Figura 1).

Puerto Berrío está ubicado a una LN 6° 29' 35" y LO 74° 24' 26", con una extensión geográfica de



Figura 1. Sitio de estudio.

1.184 Km², con una precipitación anual promedio de 2.500 mm y 3.000 mm; Cimitarra se ubica a LN 06° 19 '00" y LO 73°57'00" con una extensión geográfica 3.165,60 Km². Los hatos seleccionados en el estudio fueron: Copa de Barro, El Águila, Santa Lucía, San Andrés, Caño Negro, La Camelia, La Lorena, Bélgica y La Antioqueña.

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

Se diseñó una encuesta epidemiológica para tomar los datos de los animales incluidos en el muestreo, la cual incluyó: nombre del hato, identificación del animal, sexo, edad, uso de vacunas, periodicidad del baño y producto utilizado.

ANIMALES

Los terneros fueron clasificados en tres rangos de edad, en el primer rango se incluyeron los terneros de tres a cinco meses, en el segundo rango los terneros de seis a siete meses y en el tercer rango los terneros de ocho a nueve meses de edad.

COLETA DE GARRAPATAS

Se recolectaron garrapatas hembras ingurgitadas mayores a 4,5 mm según la técnica propuesta por Álvarez (2003).⁹ Las garrapatas se colocaron en recipientes plásticos humedecidos, identificado con el número del animal del que fueron capturadas, se incubaron por siete días a temperatura ambiente. Se determinó el grado de infestación por bovino, realizando el conteo de garrapatas de uno de los planos sagitales del bovino y se multiplicó por dos para obtener el total. Se estimó el grado de infestación por hato con el número total de garrapatas sobre el número total de bovinos.

OBTENCIÓN DE HEMOLINFA

Luego de la incubación se realizaron los frotis de hemolinfa, según la técnica descrita por Burgdorfer (1970).¹⁰ Los frotis fueron fijados con metanol y coloreados con Hemacolor para ser observados posteriormente al microscopio óptico Olympus modelo CX21FS1, ocular de 10X en objetivo de 100X.

ESTIMACIÓN DEL PORCENTAJE DE

INFECTIVIDAD EN GARRAPATAS

Para determinar la infección se identificaron esporoquetos de *Babesia* spp., observados en todos los campos de la placa coloreada. Los resultados fueron

reportados en términos de positividad y se estableció el porcentaje de garrapatas positivas, como el número de garrapatas positivas para *Babesia* spp., sobre el total de garrapatas examinadas por 100.

CRITERIOS DE POSITIVIDAD

El diagnóstico positivo en hemolinfa se estableció como el hallazgo de formas rectas o curvas, con el núcleo ubicado en la parte anterior, central o posterior y que presentaron una longitud entre los 9 y 17 μ , estos pueden presentar distintas vacuolas dispersas irregularmente en el citoplasma a ambos lados del núcleo (formas maduras), o formas sin vacuolas (formas inmaduras) en los cuales el citoplasma es teñido de forma más homogénea con dos manchas rojas en cada extremo.^{11,12}

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinaron las medidas de tendencia central, posición y dispersión para las variables cuantitativas. El análisis de asociación se llevó a cabo mediante la estimación de la correlación de Rho Spearman, según la distribución de los datos de las variables cuantitativas con base en la prueba de Shapiro-Wilk, tomando un nivel de significación estadística de $P = <0,05$. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa SPSS versión 18 para Windows XP.

ASPECTOS ÉTICOS

El proyecto fue diseñado de acuerdo a la resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud. Se obtuvo un consentimiento informado de los propietarios de los animales donde se describieron y explicaron los procedimientos que se realizaron a los animales.

RESULTADOS

Los bovinos muestreados fueron en total 237 terneros de tres a nueve meses de edad pertenecientes a nueve fincas de la zona. La muestra de garrapatas estuvo conformada por un total de 770 especímenes de hembras ingurgitadas mayores a 4,5 mm aisladas de los terneros. En la **Tabla 1** tenemos la distribución de la muestra de bovinos y garrapatas por hato.

Para facilitar el análisis del total de terneros se clasificaron los bovinos en tres rangos de edad, el porcentaje de terneros para cada uno de los rangos de

edad fue el siguiente: los terneros de tres a cinco meses con un 38,8%, los terneros de seis a siete meses con 37,5% y los de ocho a nueve meses con 23,6% del total de bovinos.

Tabla 1. Distribución de animales y garrapatas en los sitios de muestreo.

| Hato | Número de Bovinos | Porcentaje de Bovinos | Porcentaje de garrapatas por hato |
|----------------|-------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| Copa de Barro. | 8 | 3,4 | 1,3 |
| El Águila. | 53 | 22,4 | 54,5 |
| Santa Lucía. | 20 | 8,4 | 6,2 |
| San Andrés. | 49 | 20,7 | 4,15 |
| Caño Negro. | 12 | 5,1 | 0 |
| La Camelia. | 24 | 10,2 | 11,2 |
| La Lorena. | 18 | 7,6 | 6,5 |
| Bélgica. | 22 | 9,1 | 7,5 |
| La Antioqueña. | 31 | 13,1 | 8,6 |

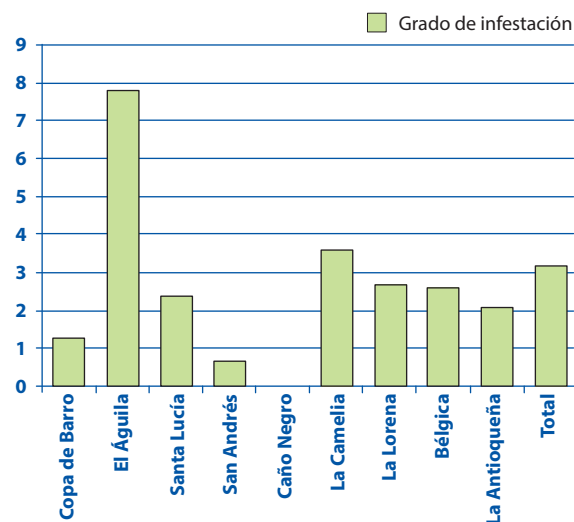


Figura 2. El grado de infestación fue calculado: número de garrapatas *R. microplus* colectadas / número de bovinos por hato.

GRADO DE INFESTACIÓN

El grado de infestación total de la zona de estudio fue de 3,2 garrapatas por cada bovino; se calculó igualmente el grado de infestación por hato, encontrando que el hato con mayor infestación fue El Águila con 7,9 garrapatas por bovino y el hato con menor grado fue Caño Negro en el cual no se encontró ninguna garrapata en el cuerpo de los bovinos (Figura 2).

Para el grado de infestación por edad, el grupo de terneros de seis y siete meses presentaron el mayor porcentaje de garrapatas, correspondiente al 54% del total de garrapatas de la zona, el grado de infestación para este grupo fue de 4,7 garrapatas por cada bovino. Los terneros de ocho y nueve meses de edad presentaron el menor grado de infestación con 1,7 garrapatas por bovino (Figura 2). En el análisis bivariado no se encontró correlación entre el grado de infestación y los grupos de edad (Rho: 0,221 y p= 0,001). El hato que presentó mayor grado de infestación para los terneros de tres a cinco meses fue La Camelia seguido de La Lorena y Bélgica. Para los terneros de seis y siete meses de edad en el Águila se presentó el mayor grado de infestación, mientras que para los terneros de ocho

y nueve meses de edad fue Bélgica el hato con mayor grado de infestación. El hato Copa de Barro solo presentó grado de infestación para los terneros de ocho y nueve meses, mientras que El Águila no presentó grado de infestación en este grupo de edad (Figura 3).

EL PORCENTAJE TOTAL DE INFECCIÓN POR *Babesia* spp.

En el total de garrapatas de los hatos estudiados, el porcentaje de infección fue del 9,9%, los esporoquinetos de *Babesia* spp., presentaron formas similares a las descritas en la literatura (Figura 4). El hato con mayor porcentaje de garrapatas positivas fue La Lorena con un 22% seguido de Copa de Barro con un 20% (Figura 5).

En los hatos estudiados se utilizan diferentes baños garrapaticidas para controlar los ectoparásitos y la frecuencia de su aplicación también varía, no se encontró correlación entre el grado de infestación y el producto garrapaticida usado en los hatos (Rho: 0,103 y p= 0,115). La frecuencia de la aplicación de los baños garrapaticidas varía desde 15 días hasta 2 años. Se encontró una correlación positiva entre la frecuencia del baño garrapaticida y el grado de infestación (Rho: 0,168 y p= 0,010).

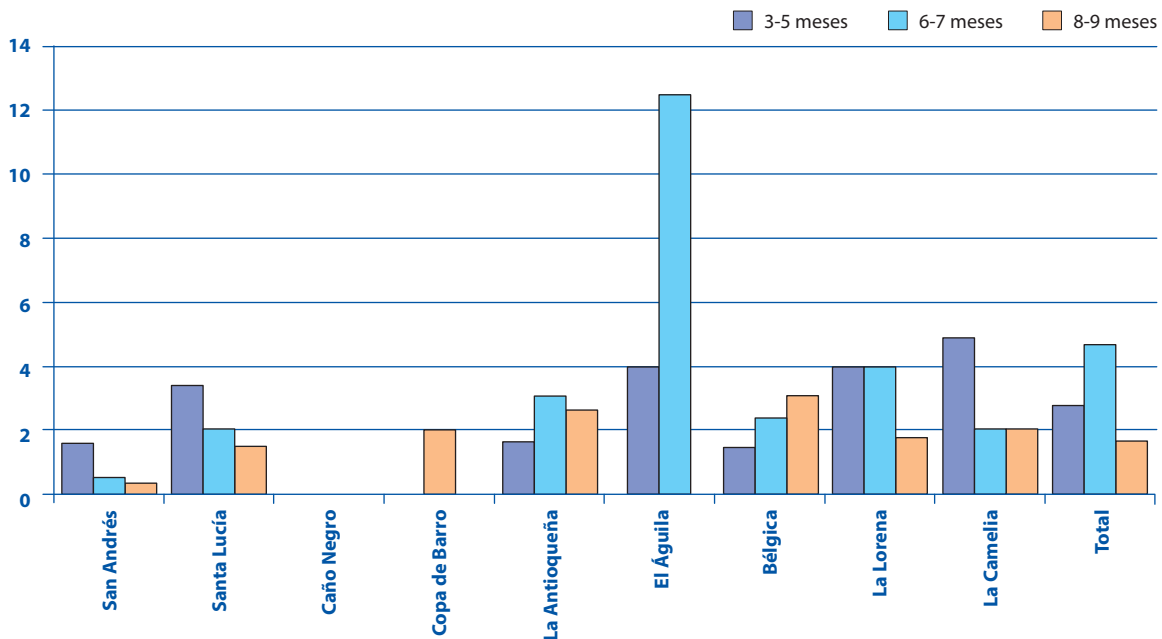


Figura 3. Grado de infestación por grupo de edad de cada hato fue calculado número de garrapatas *R. microplus* colectadas por cada grupo de edad en cada hato/número de bovinos por grupo de edad de cada hato.

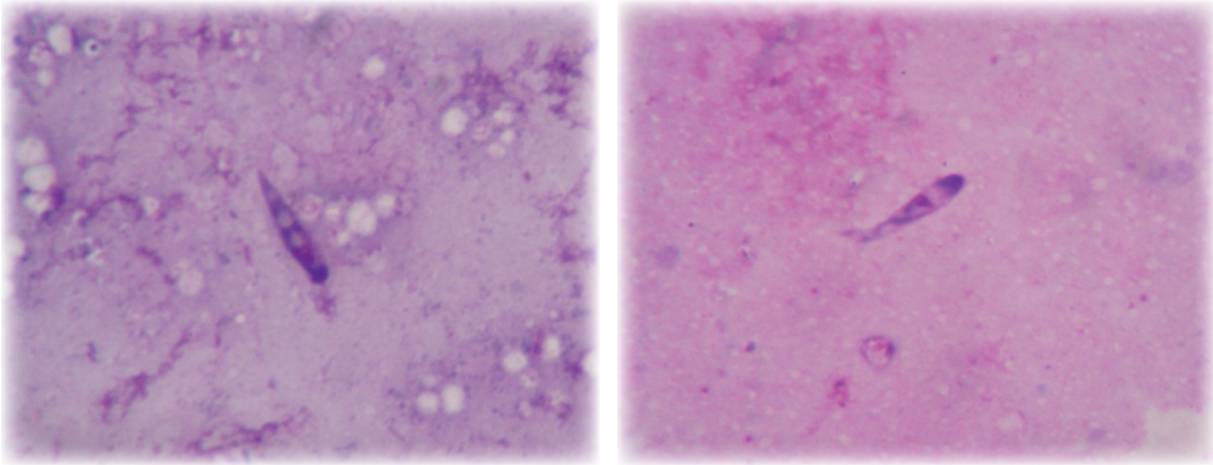


Figura 4. Esporoquineto de *Babesia* spp., obtenido de hemolinfa. Se observan las características del parásito: semicurvo, núcleo excéntrico y vacuola citoplasmática. Aumento 100X, microscopio Nikon Eclipse E200.

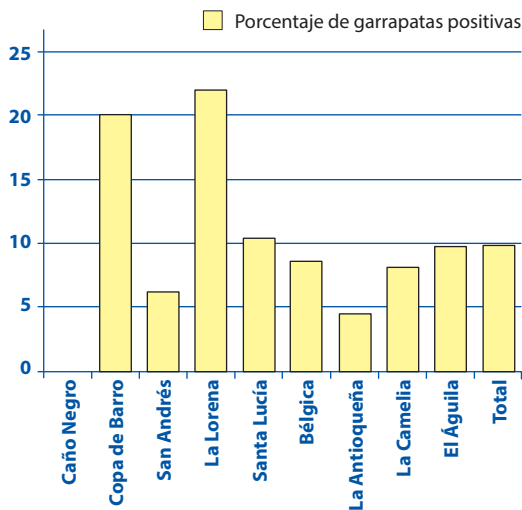


Figura 5. Porcentaje de garrapatas positivas fue calculado número de garrapatas *R. microplus* positivas por hato / número de garrapatas por hato por 100.

El tipo de ganadería en los hatos es de doble propósito (carne y leche), leche o carne. El total de garrapatas de cada hato varió según el tipo de ganadería, para los hatos con ganadería de doble propósito se encontraron 598 garrapatas equivalentes al 78% del total, en los hatos con ganadería lechera se encontraron 106 garrapatas (14%), en hatos con ganadería de

carne no se encontraron garrapatas. Al analizar estas variables se encontró correlación entre la carga parasitaria y el tipo de ganadería: $p=0,04$.

DISCUSIÓN

La zona del Magdalena Medio es considerada enzooticamente estable para la babesiosis bovina, allí se ha demostrado previamente la existencia del parásito,⁸ en estas zonas generalmente los terneros se infectan con *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* en los primeros meses de vida, por lo que es de gran importancia la inmunidad pasiva que perdura hasta los nueve meses de edad, esto acompañado de la exposición a niveles suficientes de garrapatas infectadas asegura una protección natural de éstos durante toda su vida.^{6,8,13}

Los bovinos de la zona de estudio se encuentran pastoreando desde las primeras semanas de vida, situación que facilita una mayor carga de garrapatas y por ende una mayor probabilidad de que los bovinos se infecten con el parásito.¹³ Actualmente existen medidas de control de la babesiosis que se realizan sobre las garrapatas, la medida más comúnmente utilizadas es el uso de acaricidas, este es realizado con una periodicidad variable, algunos hatos aplicaron baños garrapaticidas cada dos semanas otros dependiendo de la presencia acumulada de garrapatas sobre el bovino deciden hacer aspersión para disminuirlas visiblemente.

te, esta variabilidad puede incidir sobre la estabilidad endémica para babesiosis, ya que reducen la población de garrapatas lo que favorece en la industria ganadera el comercio de pieles, pero también impide la transmisión continua de hemoparásitos a temprana edad del bovino facilitando la aparición de brotes en el ganado adulto.

Dado que los parásitos de *Babesia* spp., infectan al vector, y en el mamífero infectan sus eritrocitos, la respuesta adaptativa inmune a infecciones posteriores y la protección contra la enfermedad clínica depende de la presentación de antígenos del parásito al sistema inmunitario del mamífero,⁶ por esto la distribución del protozoario causante de la infección está condicionada por la presencia del vector *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

La presencia de garrapatas puede disminuirse por condiciones climáticas como la temperatura, la humedad relativa y/o estación del año,¹⁴ que dificultan el desarrollo y disminuyen la carga de garrapatas en el bovino, en la temporada lluviosa se disminuye la presencia del vector comparado con la época seca.¹³ El muestreo de animales en este estudio se desarrolló durante la época lluviosa, y se observó presencia disminuida de garrapatas haciendo que los bovinos permanezcan durante este periodo de tiempo sin suficiente contacto con las garrapatas y como consecuencia con niveles de anticuerpos disminuidos. La ausencia de infestación en el hato Caño negro puede ser un factor de riesgo para la aparición de brotes de babesiosis, ya que los terneros no se encuentran expuestos a la inoculación de parásitos ni del reto antigénico que estimula la producción de anticuerpos para contrarrestar la infección.¹³ La implementación de estrategias de control para garrapatas *R. microplus* asociadas a las medidas de manejo en bovinos, han contribuido al establecimiento de áreas enzooticamente inestables con niveles bajos en los títulos de anticuerpos, incrementándose así la aparición de casos clínicos de babesiosis.¹⁵

Por otro lado Ríos y colaboradores (2010),⁸ definieron zonas estables enzooticamente que tenían una serorreactividad para *B. bovis* mayor al 75% en bovinos de tres a nueve meses que recibieron tratamiento garrapaticida con una frecuencia mayor a 90 días, lo cual tiene relación con los hallazgos en el análisis de datos de este estudio, ya que se encontró una correlación positiva entre la carga parasitaria y cuando la

frecuencia del baño garrapaticida se da en periodos mayores de tiempo (Rho: 0,168 y p= 0,010).

Los resultados demuestran la necesidad de realizar estudios analíticos donde la población sea pareada y se controlen las variables implicadas como la edad y la frecuencia de los baños garrapaticidas, además es necesario evaluar la tasa de inoculación (índice h) ya que son indicadores críticos para establecer el comportamiento de la transmisión del parásito en la región.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que en el desarrollo de este trabajo de investigación no se presentaron conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los dueños de los hatos ganaderos por su participación en el estudio, al Comité Regional de Ganaderos de Puerto Berrío (COREGAN) por su apoyo en el desarrollo de este trabajo, al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia por la financiación de la investigación y a la Escuela de Microbiología por su apoyo logístico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ravindran R, Rao JR, Mishra AK.** Detection of *Babesia bigemina* DNA in ticks by DNA hybridization using a nonradioactive probe generated by arbitrary PCR. *Vet Parasitol.* 2006 Oct 10; 141(1-2):181-5.
2. **Meléndez RD.** Revisión integral de los factores epidemiológicos que inciden en la relación *Boophilus microplus* - bovino - *Babesia*. *Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. VIII 1998;* 1:25-34.
3. **Suárez M, Méndez L, Valdez M, Moura S, Camargo A, Vargas N, Ascanio.** En: Control de las infestaciones de la garrapata *Boophilus microplus* en la ganadería Cubana y en regiones de Latinoamérica con la aplicación del inmunógeno Gavac® dentro de un programa de lucha integral [en línea]. Sexta Conferencia Electrónica. Red Electrónica de Garrapatas y Enfermedades Transmitidas por Garrapatas para América Latina y el Caribe, RedEctopar. 2007. [Fecha de consulta: 25 de Febrero

- de 2009]. Disponible en: <http://www.corpoica.gov.co/SitioWeb/Archivos/Conferencias/Vacs1Cuba.pdf>
4. **Vizcaino G.** Anaplasmosis y babesiosis en ganado bovino. En: Control de garrapatas. Compendio N° 39. ICA. Medellín. 1980: 59-79.
 5. **Gómez L.** La Frontera Antioquia-Santander. Las fronteras de Antioquia. Aspectos físicos, jurídicos, históricos, económicos y socioculturales. Departamento Administrativo de Planeación. Gobernación de Antioquia. 1-80 pp. 2005.
 6. **Cardona C, Hoyos J, Tabares J.** Estabilidad enzoótica para Babesiosis bovina desde la Microbiología y el Bioanálisis. Tesis de grado. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín. 2007.
 7. **García D, Álvarez J, Figueroa J, Vega A.** Babesiosis bovina: características relevantes de la respuesta inmune. Ciencia Veterinaria 9 -2003 -4: 105-122.
 8. **Ríos L, Zapata R, Reyes J, Mejía J, Baena A.** Estabilidad enzoótica de babesiosis bovina en la región de Puerto Berrío, Colombia. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XX, N° 5, 485-492, 2010.
 9. **Álvarez V, Bonilla R, Chacón I.** Frecuencia relativa de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos (*Bos taurus* y *B. indicus*) en ocho zonas ecológicas de Costa Rica. Revista de Biología tropical. 2003; 51, (2): 427-434.
 10. **Burgdorfer W.** Hemolymph test a technique for detection of rickettsiae in ticks. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1970; 19(6): 1010-1014.
 11. **Guglielmone A, Gaido A, Mangold A.** Light Microscopy Diagnosis of *Babesia bovis* and *B. bigemina* Kinetes in the Hemolymph of Artificially Infected *Boophilus microplus* Engorged Female Ticks". En: Veterinary Parasitology. 1996; 61 (1-2): 15-20.
 12. **Morzaria SP, Brocklesby DW.** A differential diagnostic criterion for *Babesia major* and *Babesia bigemina* vermicules from tick haemolymph. Z. Parasitenkd. 1977; 52: 241-243.
 13. **Ribera H, Cuéllar A, Barba G, Carrique J, Walker A.** Estudio sobre babesiosis y anaplasmosis en relación con la carga de garrapatas en terneros lecheros del oriente boliviano. En: Vet. Méx. 2000; 31(1): 39-46.
 14. **Solorio – Rivera JL, Rodríguez R.** Epidemiología de la Babesiosis bovina II. Indicadores epidemiológicos y elementos para el desarrollo de estrategias de control. En: Rev Biomed 1997; 8: 95-105.
 15. **Quintão M, Múcio S.** Infection Rate of *Babesia* spp. Sporokinets in Engorged *Boophilus microplus* from an Area of Enzootic Stability in the State of Minas Gerais, Brazil. En: Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2003; 98(08): 999-1002.