

## Estudio de la dinámica integral de *Babesia bigemina* en un bovino infectado experimentalmente

María A. Solari<sup>1</sup>, Felipe Bermudez<sup>1</sup>, Valeria Gayo, Ulises Cuore<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dirección de Laboratorios Veterinarios “Miguel C. Rubino” – MGAP, Casilla de correo 6577, Montevideo, Uruguay.

### Resumen

Dentro de un proyecto marco en el que se analizaron los comportamientos integrados de diferentes poblaciones de hemoparásitos simulando situaciones de transmisión, se estudió específicamente una población autóctona de *Babesia bigemina*.

Dicha población originaria del Departamento de Lavalleja se comportó de una forma en que consideramos de interés, pues en el tiempo la infección fue eliminada quedando el animal limpio y protegido.

Tradicionalmente se utiliza la serología para el diagnóstico de situación del rodeo. Con los datos obtenidos debemos considerar la posibilidad de que no todos los animales negativos estén en riesgo de enfermar pues pueden estar protegidos por infecciones controladas y esterilizadas naturalmente por el propio animal. Si bien estos resultados corroboran la biología de la *B. bigemina*, su evolución puede aplicarse en la interpretación de distintas situaciones epidemiológicas.

En el año 2001, se infectó por un periodo de 250 días a un bovino de sobre año, con larvas de *Boophilus microplus* cada dos meses. A los 15 días de la primera infestación se inoculó con una cepa de *B. bigemina* de características patógenas, haciendo coincidir la primera caída de garrapata con la fase aguda de la parasitemia. Durante el primer año del experimento se registran los valores de hematócrito, temperatura, presencia de parásitos (Giemsa), anticuerpos (IFI) y la dispersión de la garrapata recuperada con infección de babesia (trofozoitos), habiéndose registrado los siguientes resultados:

Valores clínicos del bovino infectado con *B. bigemina* y la relación de garrapata durante el primer año de infección

Días	Menos 3 a 0	6 a 10	72 a 90	132 a 148	202 a 218	248 a 300
n	3	5	11	12	11	19
Hematocrito	36±1	18,6±9	40,8±2,7	39,3±3,4	32,3±2,3	38,8±2,6
Temperatura		40,4±0,6	38,2±0,7	37,5±0,6	38,2±0,5	37,9±0,4
Parasitemia Giemsa		Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Serología IFI	Negativo	Negativo	Posit. 1:810	Post. 1:810	Post. 1:270	Negativo
NºTeleóginas/Dispersión		119 – 78%	80 – 45%	87 – 46%	30 – Negat.	32 – Negat.

n: número de lecturas; Hematocrito: Promedio de hematócrito ± desvío estándar

Temperatura: Promedio de grados centígrados  $\pm$  desvío estándar; IFI: inmunofluorescencia indirecta

En el período agudo durante 3 días seguidos, el hematócrito se redujo al 33% del valor inicial, la orina era oscura y fue necesario administrar un volumen sanguíneo, quedando demostrado la patogenicidad de la cepa utilizada. La presencia de garrapatas con trofozoitos fue alta y de acuerdo a trabajos anteriores en el Departamento, la transmisión por garrapata de esta misma cepa en terneros, provoca una enfermedad grave con posterior muerte ya sea con larvas provenientes de teleóginas obtenidas en la fase aguda como de las caídas a los 80 días de la infección.

En una segunda etapa, a 450 días de la infección con *B.bigemina*, con la finalidad de estudiar el estado de portador de manera complementaria a los resultados de laboratorio (negativo a IFI y PCR), se infestó con garrapata (durante tres semanas) y toda su progenie se utilizó para infestar a un nuevo animal susceptible. Con este mismo fin, también se inoculó sangre del primer bovino a otro bovino. Los resultados obtenidos (negativos a Giemsa, IFI y a PCR) confirman que el bovino original eliminó la infección de *B.bigemina* de manera natural ya que no hubo transmisión de enfermedad en ninguno de los dos terneros. Para tratar de explicar la eliminación de la infección, debemos tener en cuenta la variación individual del vacuno y la labilidad de la cepa. Consideramos de importancia ponderar estos factores ya que su repercusión en la epidemiología de la enfermedad tiene diferentes alcances. Si esta característica es propia de la cepa estudiada, es trascendente por que los resultados de serología se podrían interpretar erróneamente ya que esos animales a pesar de ser negativos no tienen riesgo de enfermar por estar inmunes. Sería interesante poder repetir este ensayo con un mayor número de individuos.

También se debe considerar en la protección artificial del ganado con hemovacuna, pues si bien los controles pueden ser negativos (IFI o PCR) el animal queda protegido de por vida. Para minimizar estas confusiones es interesante maximizar los controles en diferentes etapas de la inmunización.

---

## Introducción

El conocimiento de cómo se interrelacionan los parásitos con sus huéspedes (definitivo e intermediario), contribuye a una mejor interpretación de la situación epidemiológica de las enfermedades.

El país está en una situación marginal para la relación garrapata - hemoparásitos, no solo por los factores climáticos o geográficos, sino que también por causa de mas de 50 años de constante combate, lo que desemboca en poblaciones limitadas y disminuyendo las probabilidades de infestación. Por ello, vale la pena estudiar diferentes escenarios a los efectos de poder pronosticar mejor el riesgo y poder actuar en consecuencia.

Objetivo: En el presente trabajo, se estudió al cabo de un año y medio, la relación entre un bovino infectado con *B.bigemina* y la garrapata *B.microplus*.

## Materiales y Métodos

Animal: Se trabaja con un bovino<sup>1</sup> negativo, de 1 año de edad, mantenido en un box, alimentado con ración y agua *ad libitum*, durante los primeros 250 días y luego se mantiene en campo natural complementado con ración.

También se utilizan dos terneros de 4 meses de edad, los cuales son previamente esplenectomizados.

Garrapata: Se utiliza la cepa "Mozo" (libre de infección), mantenida en el laboratorio desde 1973.

Inóculo: Desde 1996 se mantiene en el laboratorio una cepa pura de *B.bigemina* autóctona del Departamento de Lavalleja. Se trabaja con un inóculo congelado, administrado vía intravenosa,  $10 \times 10^7$  eritrocitos infectados.

### Diseño experimental:

#### En el primer año

- Se infecta al bovino1 con 150 mgr de larvas (repartidas en 3 días a la semana) en 5 oportunidades en el período de 300 días.
- A los 15 días de la primera infestación con garrapatas, se realiza el inóculo de *B.bigemina*.
- Durante el primer año del experimento se registran los valores de hematócrito, temperatura, presencia de parásitos (Giemsa) y anticuerpos (IFI).
- A veinte ejemplares de las garrapatas caídas por oportunidad, se incuban a 29°C y mas de 80% de humedad relativa y al quinto día se le diagnostica en la hemolinfa, presencia de trofozoitos de *B.bigemina* (Giemsa).

En el segundo año. Se comprobó por parasitemia, serología y PCR que el bovino1 era negativo, por lo que se programó confirmar este resultado por medio de xenodiagnóstico.

- Al bovino1 se infectó con 150 mgr de larvas de garrapatas repartido en tres días, por tres semanas sucesivas. Se colectó la progenie de 99 teleóginas caídas y posteriormente todas esas larvas fueron colocadas paulatinamente en un segundo bovino negativo (n° 2) y mantenido en un box por el término de 5 meses. Fue controlada la evolución de este tercer bovino (temperatura, hematócrito, Giemsa, IFI y PCR) durante todo el ensayo.
- Asimismo, se inoculó a un tercer bovino (n° 3) negativo con 100 ml de sangre fresca del bovino1. Fue mantenido en un box, alimentado a ración y agua *ad libitum*, y se siguió la evolución (temperatura, hematócrito, Giemsa, IFI y PCR) por el termino de 30 días.

### Resultados

#### Bovino (n°1) - primer año de infectado

En el período agudo durante 3 días seguidos, el hematócrito disminuyó al 33% del valor inicial, aumentó la temperatura, la orina fue oscura, fue necesario administrar un volumen sanguíneo y un babesicida.

Valores parciales de indicadores de enfermedad en bovino1 en los primeros 30 días

Días	Temperatura	Hematócrito	Parasitemia*
0	37,8	36	
6	39,8	30	
7	41	27	0,09
8	41,3	12	Posit.
9	40,3	12**	0,1
23	39,9	12	Tratam.***
30	37	40	

\* % eritrocitos infectados

\*\* Transfusión de 450 ml sangre

\*\*\*Diameoaceno aceturato 3,5 mg/Kpv

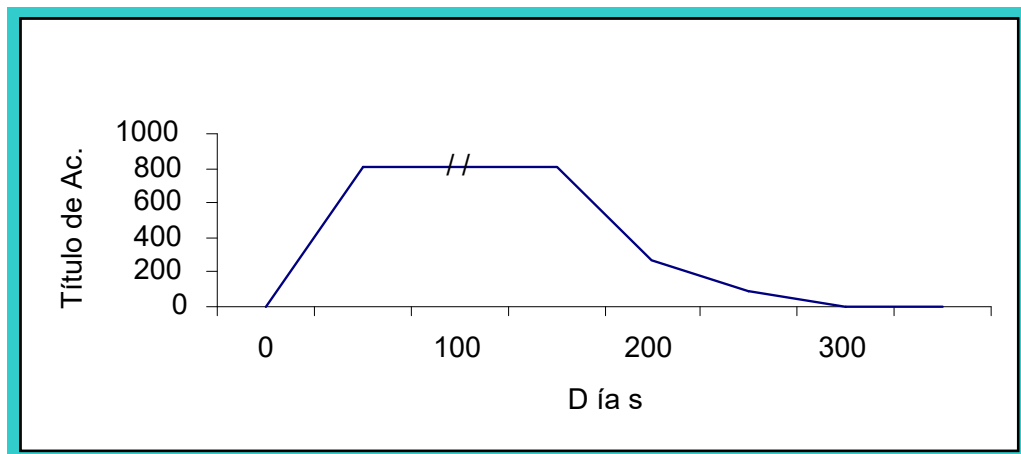
Luego, el animal se recuperó y los valores clínicos registrados en 53 oportunidades fueron normales sin encontrar parásitos en sangre. En el siguiente cuadro se detalla observaciones parciales.

Valores parciales de indicadores de enfermedad en bovino1 en el período crónico

Días post infección	Temperatura	Hematócrito	Parasitemia
72	37,8	39	Negativo
90	38,8	37	"
132	36,3	44	"
148	38,5	42	"
222	38,4	34	"
351	38	38	"

Los resultado serológicos positivos corresponden a un período activo de la *B.bigemina* hasta los 220 días y luego se torna negativo hasta los 530 días post-infección (ver figura). Esta tendencia coincide con el perfil de la dispersión de garrapatas infectadas.

Curva de anticuerpos (IFI) del bovino infectado (máximo título estudiado 1:810)



Siguiendo la evolución de caída de garrapatas, este animal evidenció una marcada resistencia, siendo cada vez mayor en las sucesivas nuevas infestaciones. Las teleóginas colectadas durante el primer año fueron 119, 80, 87, 30, 32 sucesivamente. El porcentaje de garrapatas parasitadas con *B.bigemina* fue alto (78%) en la primera generación de teleóginas (Giemsa), en las dos siguientes la dispersión disminuyó al 45% y en las últimas desapareció la presencia en hemolinfa (negativo). De acuerdo a trabajos anteriores en el Departamento, la transmisión por garrapata de esta misma cepa en terneros, provoca una enfermedad grave con posterior muerte ya sea con larvas provenientes de teleóginas obtenidas en la fase aguda como de las caídas a los 80 días de la infección.

Bovino (segundo año de infectado)

Las teleóginas colectadas durante el segundo año fueron 47, 32 y 20 quedando en evidencia la resistencia del bovino1 a la infestación con garrapatas.

El segundo y el tercer ternero resultaron negativos durante los 5 meses de prueba en el primer caso y el mes en el segundo. Ambos presentaron valores normales de temperatura, hematócrito y fueron negativos a la presencia de parásitos (Giemsa-sangre central y capilar y PCR). La serología resultó siempre negativa.

## Discusión

El primer bovino al cabo de un año y medio, eliminó la infección de *B. bigemina* de manera natural ya que se tornó negativo a las técnicas diagnósticas y no hubo transmisión de enfermedad en ninguno de los dos terneros desafiados.

Para tratar de explicar la eliminación de la infección, se debe tener en cuenta la variación individual del vacuno y la labilidad de la cepa. Consideramos de importancia ponderar estos factores ya que su repercusión en la epidemiología de la enfermedad tiene diferentes alcances. Si esta característica es propia de la cepa estudiada, es trascendente por que los resultados de serología se podrían interpretar erróneamente ya que esos animales a pesar de ser negativos no tienen riesgo de enfermar por estar inmunes. Sería interesante poder repetir este ensayo con un mayor número de individuos y de confirmarse se debería ubicar en el contexto de que el Uruguay está en una zona de garrapata netamente marginal, y los futuros desafíos pueden ser escasos en la vida de ese animal y seguramente que el sistema huésped – parásito – huésped quede interrumpido.

También se debe considerar en la protección artificial del ganado con hemovacuna, pues si bien los controles pueden ser negativos (IFI o PCR) el animal queda protegido de por vida. Para minimizar estas confusiones es interesante maximizar los controles en diferentes etapas de la inmunización.