

IDENTIFICACIÓN DE GARRAPATAS EN UNA EXPLOTACIÓN DE OVINOS

✉ José Juan Lira-Amaya¹, Nadia Florencia Ojeda-Robertos², Jesús Antonio Álvarez-Martínez¹, Carmen Rojas-Martínez¹, Carlos Ramón Bautista-Garfias¹, Julio Vicente Figueroa-Millán¹.

¹CENID-PAVET, INIFAP. Km 11.5 Carretera Fed. Cuernavaca-Cuatla Col. Progreso, C.P. 62550 Jiutepec, Morelos, México. Tel. (777)319-28-60 ext.115.

²UNIVERSIDAD JUAREZ AUTONOMA DE TABASCO.

✉ Correo: lira.juan@inifap.gob.mx.

RESUMEN. El interés por el presente estudio surgió cuando uno de los coautores tuvo oportunidad de visitar una explotación pecuaria de borregos pelibuey en la región centro del Estado de Tabasco, en donde observó que los animales se encontraban en un estado nutricional pobre, y durante el periodo de visitas se detectó la presencia de garrapatas en las ovejas. Con el objeto de identificar el género y la especie de garrapatas presentes en una explotación de ovinos, se colectaron 102 garrapatas y 77 muestras de sangre de borregas infestadas fueron obtenidas. El análisis morfológico de las garrapatas colectadas permitió identificarlas como *Amblyomma maculatum*, la garrapata de la Costa del Golfo. Mediante la técnica de microhematocrito se determinó anemia moderada en 24 (39.3%) y leve en 12 (19.6%) de los animales muestreados de acuerdo a los criterios establecidos. Microscópicamente se encontraron formas sugerentes de *Mycoplasma* sp. y *Anaplasma* sp. La seroprevalencia para *Anaplasma* sp. resultó ser de 6.5% del total de las muestras incluidas en el estudio.

Palabras Clave: Garrapatas, *Mycoplasma* sp., Pelibuey, Sangre.

Identification of ticks in a breeding sheep

ABSTRACT. The interest for this study came out when one of the authors had the opportunity to visit a pelibuey sheep farm of in the central region of the State of Tabasco, where it was observed that the animals were in poor nutritional status, and during the visits animals infested with ticks were detected. In order to identify the genus and species of ticks present in a sheep farm, 102 tick specimens and 77 blood samples were collected from infested sheep. Morphological analysis of the collected ticks allowed to identifying them as *Amblyomma maculatum*, the Gulf Coast tick. By using the microhaematocrit technique moderate anemia was determined in 24 (39.3%) and mild anemia in 12 (19.6%) of the sampled animals according to established criteria. Microscopically, suggestive forms of *Mycoplasma* sp. and *Anaplasma* sp. were found. The seroprevalence for *Anaplasma* sp. was found to be 6.5% for the samples included in the study.

Key Words: Ticks, *Mycoplasma* sp., Pelibuey, Blood

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son parásitos hematófagos obligados y los más importantes vectores de diferentes patógenos a los animales domésticos y salvajes (Jongejan y Uilenberg, 2004). Globalmente, las enfermedades transmitidas por garrapatas tienen un gran impacto económico en la producción ganadera, particularmente en los bovinos y pequeños rumiantes (Jongejan y Uilenberg, 2004). Las garrapatas pueden transmitir la mayor variedad de microorganismos patógenos (protozoarios, rickettsias, espiroquetas y virus), que cualquier otro grupo de vectores artrópodos. En general, las enfermedades transmitidas por garrapatas causadas por protozoarios (por ejemplo theileriosis y babesiosis) y rickettsias (por ejemplo, anaplasmosis y cowdriosis) son

el problema preeminente de los bovinos y pequeños rumiantes que afectan la subsistencia de la producción ganadera en comunidades de África, Asia y América Latina (Jongejan y Uilenberg, 2004; Ristic, 1981a, 1981b; Uilenberg, 1981a, 1981b).

En México no existe evidencia científica relacionada con la presencia de garrapatas en pequeños rumiantes, incluyendo borregos y cabras (Quiroz, 1984). Con el objeto de identificar el género y la especie, se obtuvieron especímenes de garrapatas a partir de algunos animales infestados. En el presente estudio también se incluyeron muestras sanguíneas de los ovinos para determinar el volumen celular aglomerado (VCA).

MATERIALES Y MÉTODO

Ubicación del área de estudio. El trabajo se realizó en un rancho de la región Centro del Estado de Tabasco, que se localiza entre los paralelos 17°42' y 18°21' latitud norte; los meridianos 92°34' y 93°16' longitud oeste; altitud entre 0 y 100 m. El clima predominante en la región es (Aw) cálido húmedo con abundantes lluvias durante el verano, con una precipitación media anual de 254.31 mm (66.6-345.62) y temperatura media de 26.9 °C (21.9-31.8). La explotación cuenta con una población de 350 ovinos de pelo de las razas Pelbuey, Blackbelly y sus cruza, el fin zootécnico es el pie de cría. La base de la alimentación es el pastoreo diurno y encierro nocturno. Los animales pastorean de 8 a 10 horas en potreros de pastos como el tanzania (*Panicum maximun cv. tanzania*), estrella (*Cynodon plectostachyus*), remolino (*Paspalum notatum*), chontalpo (*Brachiaria decumbens*) e insurgente (*Brachiaria brizantha*).

Descripción del estudio. Se incluyeron hembras elegidas por conveniencia, realizando 3 muestreos en los meses de abril, agosto y octubre del 2013. De los animales infestados, se colectaron garrapatas ingurgitadas de distintas partes del cuerpo, incluyendo el pabellón de la oreja, brazos, entrepierna, y perineo. Se obtuvieron muestras de sangre directamente de la vena yugular con la ayuda de tubos evacuados conteniendo EDTA como aditivo, a partir de los animales infestados o con presencia de lesiones ocasionadas por garrapatas. Las muestras fueron identificadas y conservadas en refrigeración para posteriormente ser enviadas al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Procesamiento de muestras sanguíneas. Un total de 77 muestras de sangre fueron procesadas en el CENID-PAVET del INIFAP en Jiutepec, Morelos. Se realizaron extendidos de sangre en portaobjetos los cuales fueron fijados con metanol, para ser teñidos con colorante de Giemsa, así mismo se determinó el volumen celular aglomerado (VCA) con la técnica de microhematocrito. La observación microscópica de los frotis teñidos se realizó a partir de aquellas muestras con un VCA \leq 20%, y cada una de las muestras fue analizada durante al menos 30 minutos. El paquete celular conteniendo glóbulos rojos y blancos fue separado del plasma mediante centrifugación a 4,000 rpm en centrífuga clínica y almacenado a -20°C hasta su utilización.

Prueba de ELISA. Para esta prueba se emplearon 77 muestras de plasma de ovinos que fueron mantenidas en congelación hasta su uso para la detección de anticuerpos circulantes anti-*Anaplasma marginale*. En este estudio se utilizó un kit comercialmente disponible basado en la técnica inmunoenzimática ELISA competitiva (cELISA) de acuerdo al protocolo recomendado por el fabricante. La lectura de las microplacas se realizó en un espectrofotómetro utilizando un

filtro de 650nm. La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo al porcentaje de inhibición, considerando negativas aquellas con $\leq 30\%$ y positivas aquellas con $\geq 30\%$.

Identificación de garrapatas. Se colectaron un total de 102 garrapatas de 51 animales infestados, incluyendo todos los estadios (larvas, ninfas y adultos machos y hembras), la identificación se realizó de acuerdo a las claves taxonómicas disponibles (Quiroz, 1984).

RESULTADOS

Los animales muestreados pertenecían a un grupo de hembras alojado en una enfermería del rancho y, previamente, se habían determinado las cargas de nematodos gastrointestinales arrojando valores promedio de ≤ 1000 HPG. En total se colectaron 102 garrapatas en 51 ovinos infestados, el promedio de la carga de ectoparásitos que se estimó fue de 2 de garrapatas por individuos. El resultado del análisis morfológico de las garrapatas utilizando claves taxonómicas disponibles demostró que todas las garrapatas colectadas (incluyendo larvas, ninfas y adultos machos y hembras) fueron identificadas como *Amblyomma maculatum*, la garrapata de la Costa del Golfo (Quiroz, 1984).

El Volumen Celular Aglomerado (VCA) se determinó a partir de 61 muestras de los animales utilizando la técnica del microhematocrito, los resultados mostraron diferentes grados de anemia, de acuerdo a los parámetros establecidos, 12 de las muestras resultaron con anemia leve (VCA= $\leq 20\%$), anemia moderada en 24 (VCA 21-30%) y 25 de ellas dentro de un rango aceptable (VCA= $\geq 30\%$) (Grafica 1).

La técnica ELISA es considerada actualmente como una de la más confiables para estudios epidemiológicos de hemoparásitos y otros agentes infecciosos, con el kit comercialmente disponible que se utilizó (cELISA) basado en la detección de anticuerpos circulantes contra el epitope MSP5 de *Anaplasma* sp., 5 animales resultaron positivos, 3 durante el primer muestreo y un animal por cada uno de los muestreos restantes, representando el 6.5 % de seroprevalencia del total de muestras analizadas (Cuadro 1).

El examen microscópico de los frotis sanguíneos demostró la ausencia de formas intraeritrocíticas con morfología compatible de *Babesia* spp. Sin embargo, se observó la presencia de cuerpos de Howell-Jolly y, en algunas muestras analizadas, cuerpos de inclusión intraeritrocíticos redondeados de aproximadamente 1 μm de diámetro, con disposición marginal y compatible morfológicamente con *Anaplasma* sp., además de pequeños cuerpos redondeados adosados o presentes en la periferia del eritrocito, sugiriendo la presencia de *Mycoplasma* sp. (Anteriormente conocida como *Eperythrozoon*) (Figura 1).

Cuadro 1. Resultados de los valores obtenidos del volumen celular aglomerado (VCA) y en la prueba de cELISA en 9 animales que fueron incluidos en los 3 muestreos realizados en el estudio. Nd= No determinado.

ID	MUESTREO 1		MUESTREO 2		MUESTREO 3	
	VCA (%)	cELISA	VCA (%)	cELISA	VCA (%)	cELISA
1014	Nd	-	25.8	-	15	-
16860	Nd	-	36.8	-	Nd	-
16872	Nd	-	24.1	-	"	-
16977	Nd	-	24.3	-	"	-
5569	Nd	-	31.4	-	26.5	-
8705	Nd	-	35.8	-	27.4	-
16907	Nd	-	33.5	-	17.7	-
16937	Nd	-	36	+	21.9	+
17023	Nd	-	33	-	20	-

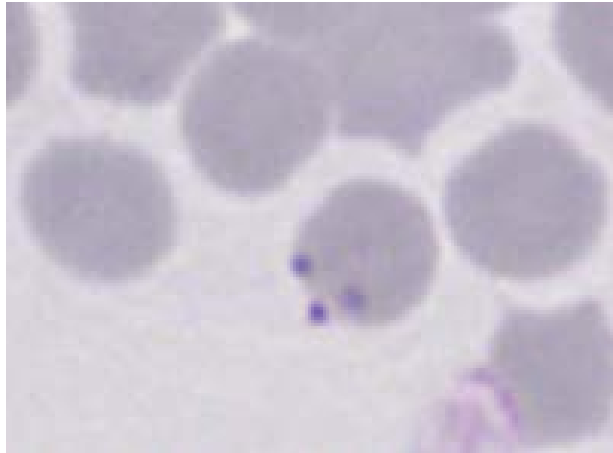
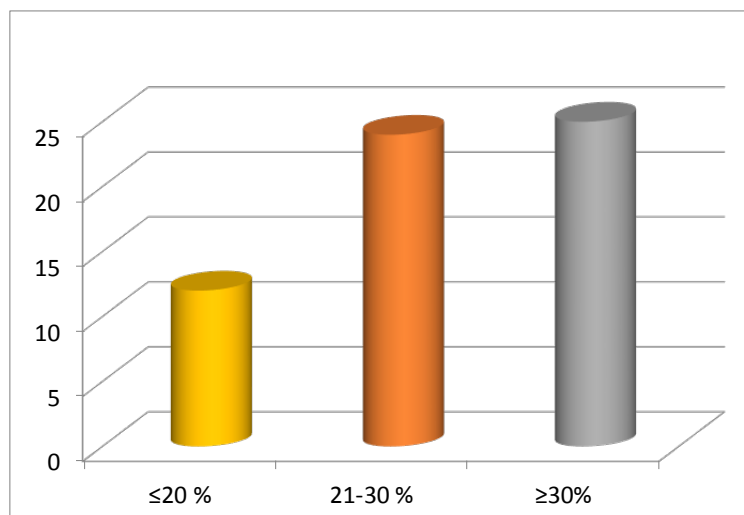


Figura 1. Cuerpos esféricos sugerentes de *Mycoplasma* sp. adosados a la superficie de un eritrocito de ovino
Imagen.



Grafica 1. Resultados obtenidos por la técnica de microhematocrito para la determinación del volumen celular aglomerado (VCA) en las muestras de borrego analizadas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con el objeto de identificar las garrapatas presentes en las borregas infestadas y que fueron analizadas en el presente estudio, con base en las claves taxonómicas reportadas, la identificación de todos los estadios colectados corresponden a *Amblyomma maculatum*, la garrapata de la Costa del Golfo (Quiroz, 1984), no asociada a la transmisión de hemoparásitos en pequeños rumiantes, incluyendo ovinos (Quiroz, 1984; Habela, 2003; Jongejan y Uilenberg, 2004).

Derivado del análisis microscópico, la sugestiva presencia de *Anaplasma* sp. en algunos animales del rebaño en estudio, propició la utilización de una prueba de ELISA competitiva basada en el antígeno recombinante MSP5 de *Anaplasma marginale* para identificar anticuerpos hacia *Anaplasma*. Este hallazgo demuestra la exposición previa de algunos animales del rebaño al agente patógeno *Anaplasma* sp. sin poder confirmar si se trata de *A. marginale* o *A. ovis*, dado que la prueba no permite diferenciar especies (de la Fuente *et al.*, 2005) y *A. marginale* puede infectar tanto bovinos como ovinos (Ristic, 1981b). Por otro lado, el papel que *A. maculatum*

pueda jugar en la transmisión del patógeno en los animales de este rebaño no puede ser dilucidado con los resultados obtenidos, ya que se necesita realizar experimentos de transmisión con los distintos estadios de *A. maculatum* para determinar, en caso de transmitirse por esta garrapata, si ésta se realiza mecánica o biológicamente. Es conveniente recordar, sin embargo, que prácticamente todos los artrópodos hematófagos, incluyendo las garrapatas de los géneros *Boophilus*, *Amblyomma* y *Dermacentor*, pueden transmitir *Anaplasma* sp. (Preciado *et al.*, 2004), y en este estudio no se hizo una búsqueda exhaustiva de infestación por moscas, mosquitos y otras garrapatas.

Los micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) son pequeñas bacterias en forma redonda, de bastoncillo o anulares, sin pared, y que tienen un tropismo para los glóbulos rojos del hospedero. Tienen una distribución mundial e infectan una variedad de vertebrados, incluyendo los ovinos. Conocidos anteriormente como *Eperythrozoon* y *Haemobartonella*, los microorganismos fueron reclasificados en el género *Mycoplasma* basado en las secuencias del gen del RNA ribosomal 16S. *M. ovis* (*Eperythrozoon ovis*) ha sido descrito en ovejas, cabras y ciervos (Neimark *et al.*, 2004; Aguirre *et al.*, 2009). '*Candidatus Mycoplasma haemovis*' fue identificado en ovejas (Hornok *et al.*, 2009) y en cabras (Hornok *et al.*, 2012) y se ha reportado la co-infección en ovejas con *M. ovis* y '*Candidatus M. haemovis*' (do Nascimento *et al.*, 2011; Tagawa *et al.*, 2012). En general, *M. ovis* y '*Candidatus M. haemovis*' son poco patógenos en los animales adultos sanos y con buenas condiciones de manejo. Sin embargo, se puede presentar una anemia hemolítica aguda en animales jóvenes o en las ovejas gestantes cuando cursan por un plan nutricional bajo. En las infecciones crónicas los animales pueden tener una anemia leve, con disminución de la ganancia de peso, y los signos clínicos agudos pueden sobrevenir con el estrés, las enfermedades concurrentes o un estado de inmunosupresión (Messick, 2004). Se ha descrito que la bacteria se transmite por artrópodos hematófagos como garrapatas (*Haemaphysalis plumbeum* y *Rhipicephalus bursa*) y mosquitos (*Aedes camptorhynchus* y *Culex annulirostris*) así como por fómites (Neimark *et al.*, 2004). Si la garrapata *A. maculatum* está involucrada en la transmisión de *Mycoplasma* sp. a los animales del rebaño, está por demostrarse. Actualmente se están realizando los estudios para identificar molecularmente *Anaplasma* sp. y *Mycoplasma* sp. en las garrapatas colectadas en el rancho.

En conclusión, aparentemente una serie de factores propició la infección con estos microorganismos en el rebaño de estudio, dado que los animales se encontraban en un estado nutricional pobre, con condición corporal de 1. La principal problemática del rancho estaba relacionada con la presencia de una carga animal muy alta, y durante el periodo de visitas se detectó la presencia de garrapatas por lo que se decidió a realizar este estudio, y la obtención de las muestras a partir de animales infestados con garrapatas. Secundariamente, existían problemas graves de falta de alimento, por lo tanto los animales se encontraban más susceptibles. Finalmente, los animales muestreados pertenecían a un grupo de animales que estaban en una enfermería y tenían cargas de nematodos gastrointestinales en promedio de ≤ 1000 HPG. Se considera como infestación elevada con parásitos gastrointestinales cuando las cargas son de >800 hpg (Morales *et al.*, 2002).

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Francisco Martínez Ibáñez del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) por confirmar la identificación de las garrapatas en el presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, D. H., Thompson, C., Neuman, R. D., Salatin, A. O., Gaido, A. B. and S. Torioni de Echaide. 2009. Brote de micoplasmosis clínica por *Mycoplasma ovis* en ovinos de Salta, Argentina. Diagnóstico clínico, microbiológico y molecular. *Rev. Argentina Microbiol.* 41: 212-214.
- de la Fuente, J., Torina, A., Caracappa, S., Tumino, G., Furla, R., Almazan, C. and K. M. Kocan. 2005. Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animal and ticks from Sicily. *Vet. Parasitol.* 133: 357-362.
- do Nascimento, N. C., Santos, A. P., Guimaraes, A. M., Breur, G. J. and J. B. Messick. 2011. PCR detection of *Mycoplasma ovis* and '*Candidatus Mycoplasma haemovis*' in sheep. *Vet. Clin. Pathol.* 40(4):610.
- Hornok, S., Meli, M. L., Erdos, A., Hajtós, I., Lutz, H. and R. Hofmann. 2009. Molecular characterization of two different strains of haemotropic mycoplasmas from a sheep flock with fatal haemolytic anaemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. *Vet. Microbiol.* 136 (3-4):372-377.
- Hornok, S., Hajtós, I., Meli, M. L., Farkas, I., Gonczi, E., Meili, T. and L. R. Hofmann. 2012. First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and '*Candidatus Mycoplasma haemovis*' from goat, with lack of haemoplasma PCR-positivity in lice. *Acta Vet. Hung.* 60(3): 355-360.
- Jongejan, F. and G. Uilenberg. 2004. The global importance of ticks. *Parasitol.* 129 (Suppl): S3-S14.
- Messick, J. B. 2004. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Vet. Clin. Pathol.* 33(1): 2-13.
- Morales, G., Pino, L. A., León, E., Rondón, Z., Guillén, A., Balestrini, C, y M. Silva. 2002. Relación entre los parámetros hematológicos y el nivel de infestación parasitaria en ovinos de reemplazo. *Veterinaria Trop.* 27(2): 87-98.
- Neimark, H., Hoff, B. and M. Ganter. 2004. *Mycoplasma ovis* comb. nov. (formerly *Eperythrozoon ovis*), an eperythrocytic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54(2): 365-371.
- Preciado-de la Torre, J. F., Rojas, R. E. E., García, M. A, y S. D. Rodríguez. 2004. Control y tratamiento de la anaplasmosis bovina. Publicación técnica no. 1. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP.
- Quiroz, R. H. 1984. Babesiosis en ovinos y caprinos. En: *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. 1ª Ed.. Editorial Limusa, México.
- Ristic, M. 1981a. Babesiosis. En: M. Ristic, I. McIntyre (Eds), *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff, Boston, MA, pp. 443-468.
- Ristic, M. 1981b. Anaplasmosis. En: M. Ristic, I. McIntyre (Eds), *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff, Boston, MA, pp. 327-344.
- Tagawa, M., Takeuchi, T., Fujisawa, T., Konno, Y., Yamamoto, S., Matsumoto, K., Yokoyama, N. and H. Inokuma. 2011. A clinical case of severe anemia in a sheep coinfecting with *Mycoplasma ovis* and '*Candidatus Mycoplasma haemovis*' in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 74(1): 99-102.
- Uilenberg, G. 1981a. Heartwater disease. En: M. Ristic, I. McIntyre (Eds), *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff, Boston, MA, pp. 345-360.
- Uilenberg, G. 1981b. *Theileria* infections other than East Coast Fever. En: M. Ristic, I. McIntyre (Eds), *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff, Boston, MA, pp. 411-427.