

CICLO BIOLÓGICO DE *BABESIA* EN LA GARRAPATA

R. D. SMITH * D.V.M., M.S., Ph.D .

. *Departamento de Hemoprotzoarios*
Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. SARH.
México, D. F.

1. Introducción	234
11. Clasificación de <i>Babesia</i>	235
III. Ciclo evolutivo en la garrapata	236
1. <i>Babesia bigemina</i> y <i>Babesia argentina</i> en <i>Boophilus microPlus</i>	236
2. Ciclo evolutivo de otras babesias	241
3. Comparación y significado de las formas evolutivas de <i>Babesia sp.</i>	245
4. Microestructura	247
IV. Relación vector-parásito-huésped	249
1. Parásitos y huéspedes	249
2. Factores que influyen la infectividad y la patogenicidad de <i>Babesia</i> para la garrapata	249
a) Sincronización y porcentaje de parasitemia en el huésped vertebrado	249
b) Efecto de la temperatura. ambiental	251
c) Efecto de la cepa de garrapatas	251
d) Patogenicidad de <i>Babesia</i> para la garrapata	251
3. Factores que influyen la infectividad y la patogenicidad de <i>Babesia</i> para el huésped vertebrado	253
a) Porcentaje de infección en el vector	253
b) Transmisión de <i>Babesia</i> al huésped vertebrado	253
c) Patogenicidad y virulencia de la babesiosis ocasionada por garrapatas	255

* Department of Veterinary Pathology and Hygiene. College of Veterinary Medicine. University of Illinois. Urbana, Illinois, 61801.

4. Epizootiología	257
V. Mantenimiento de <i>B. argentina</i> en <i>Boophilus microplus</i> bajo condiciones de laboratorio	257
1. Cría de <i>Boophilus microplus</i>	257
2. Alimentación e infección de <i>Boophilus microplus</i> con <i>B. argentina</i>	258
3. Detección de babesias en la garrapata	260
Referencias	260

1. Introducción

Según Levine (1) hay 71 especies de *Babesia*, algunas de las cuales han sido incluidas dentro de los géneros *Achromaticus*, *Aegyptianellfl*, *Apiosoma*, *Babesiella*, *Francaielli*, *Haematococcus*, *Luhisia*, *Microbabesia*, *Nicollia*, *Nuttallia*, *Pattonella*, *Piroplasma*, *Plasmodium*, *Pyrosoma*, *Rangelis*, *Rossiella*, *Smithia*, *Sogdionella* y *Theileria*. De estas 71 especies, de *Babesias* se conocen los vectores de menos de 15 (2, 3).

Todos los vectores identificados hasta el momento, son garrapatas duras, de la familia *Ixodidae*. La transmisión entre huéspedes vertebrados está interrumpida siempre por una fase de reproducción en la garrapata. La transmisión a un vertebrado por una forma de desarrollo de la garrapata de la misma generación a la que se infectó originalmente (*i. e.*, larva-ninfa o ninfa-adulta) se denomina transmisión trans-estadial. En cambio, cuando es la subsiguiente generación la que transmite la *Babesia* se denomina transmisión trans-ovárica. La importancia de estos dos modos de transmisión, depende mucho del ciclo biológico de la garrapata. La transmisión trans-ovárica es indispensable para *Babesias* transmitidas por garrapatas de un sólo huésped, y ejemplos son, la transmisión de *Babesia bigemina* y *Babesia argentina* (*bovis*) por *Boophilus microplus* y *Boophilus annulatus*. En cambio, la transmisión trans-estadial puede tener un papel importante en la epizootiología de las *Babesias* transmitidas por garrapatas de 2 o 3 huéspedes. Un ejemplo es el ciclo biológico de *Babesia canis* en *Rhipicephalus sanguineus*. En este caso ocurre la transmisión trans-estadial y trans-ovárica.

Hasta el presente, no conocemos a los vectores de la mayoría de las especies de *Babesia*, sin embargo, es probable que éstos sean garrapatas y que el ciclo biológico sea una variación de la transmisión transestadial y/o trans-ovárica que ya se conoce.

Como la babesiosis bovina es quizá de mayor interés para veterinarios en América Latina, se presentará el ciclo de *B. bigemia* y *B. argentina* en la garrapata *Boophilus micraplus* como ejemplo. Los ciclos de otras babesias serán comparados con el de *B. bigemina* y *B. argentina*.

II. Clasificación de Babesia

En 1968 Riek (3) revisó el desarrollo de *Babesia* en la garrapata presentando como ejemplo el ciclo de *B. bigemina* en *Boophilus micraplus*. Una gran parte del trabajo fue dedicado a la clasificación de *Babesia* y su relación con las coccidias y *Plasmodium*. Riek concluyó que ciertos detalles del ciclo biológico de *Babesia* en la garrapata, cuyo significado era anteriormente desconocido, mostraron que las babesias, plasmodias y coccidias eran sólo variantes de un ciclo básico que consiste en fases asexuales y sexuales. Esta hipótesis seguramente causó inquietud entre muchos taxonomistas que consideraban a las babesias, parientes cercanos a las amibas (4).

Poco después Levine (1,5,6,7) propuso un cambio radical en los criterios de clasificación de los *esporozoos*. La presencia de un órgano bastante complejo en el extremo anterior de *Babesia Plasmodium Toxoplasma, Sarcocystis* y las coccidias dio origen a una nueva subrama; *Apicomplexa*. Este órgano, -el "complejo apical", sólo se observa bajo el microscopio electrónico y por ello, su significado fue anteriormente desconocido. Los aspectos morfológicos de este órgano y sus dimensiones varían entre los géneros (8, 9, 10).

En esta forma, la observación de ciertos detalles morfológicos de *Babesia* -estableció la relación cercana entre éste hemoprotozoario, *Theileria, Plasmodium Toxoplasma Sarcocystis* y las coccidias. Sin embargo, los distintos ciclos biológicos de estos parásitos, ocasionan marcadas diferencias en la epizootiología de sus respectivas enfermedades. *Babesia* y *Theileria* cumplen parte de sus ciclos biológicos sólo en determinadas especies de garrapatas, y por lo mismo, la distribución y biología de éstas, determinan la distribución de enfermedades ocasionadas por los hemoprotozoarios que transmiten. *Plasmodium* se transmite exclusivamente por mosquitos, donde se cumple parte de su ciclo evolutivo. Las coccidias, en cambio, no tienen vectores. Últimamente se han descubierto que los quistes de *Toxoplasma, Sarcocystis* y *Besnoitia* Son fases del ciclo biológico de varias coccidias en sus huéspedes intermediarios (11, 12, 13). El siguiente es el sistema de clasificación propuesto por Levine (1):

Clasificación de *Babesia sp.* Levine (1)

Rama	<i>Protozoa</i>
Subrama	<i>Apicomplexa</i>
Clase	<i>Piroplasmiasida</i>
Orden	<i>Piroplasmorida</i>
Familia	<i>Theileriidae</i>
Familia	<i>Dactyolosomatidae</i>
Familia	<i>Babesiidae</i>
Género	<i>Entopolypoides</i>
Género	<i>Echinozoon</i>
Género	<i>Babesia</i>

III. Ciclo evolutivo en la garrapata

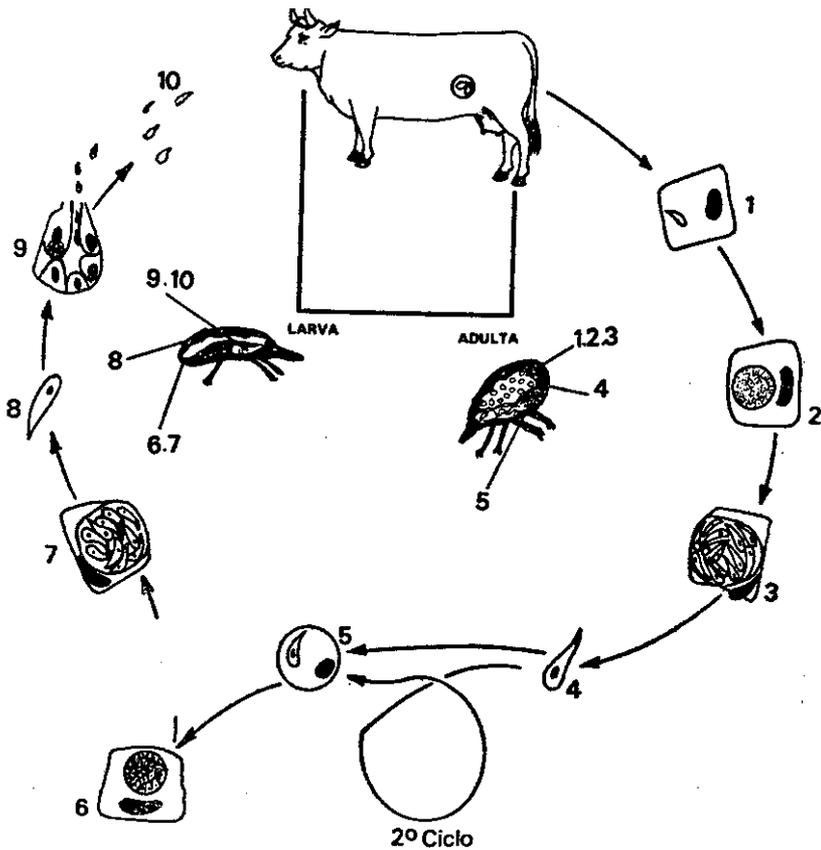
1. *Babesia bigemina* y *Babesia argentina* en *Boophilus microplus*

Hace más de 70 años que Koch estudió el ciclo biológico de *B. bigemina* en garrapatas de los géneros *Boophilus*, *Rhipicephalus* y *Myalomma* (14). Hace poco, Riek (3, 15, 16) sugirió que ciertos aspectos del ciclo de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus*, especialmente la fase inicial en el lumen del intestino de la garrapata, todavía eran un misterio desde el punto de vista morfológico y de su significado. Lo siguiente es un resumen del ciclo de *Babesia sp.* delineado por Riek, e interpretado de acuerdo a los hallazgos recientes de otros investigadores, y así, la figura 1, es una representación gráfica del ciclo en el bovino y la figura 2 presenta algunas de las formas de *B. bigemina* en *Boophilus microplus*.

Después de que una garrapata ha ingerido sangre infectada de bovino, hay destrucción rápida de los eritrocitos, liberando así las formas intracelulares de *Babesia* en el lumen del intestino de la garrapata (figuras 2a, 2b y 2c), y aunque pueden detectarse eritrocitos intactos hasta 72 horas después de la ingestión ninguna *Babesia* queda reconocible. El hecho de que sólo una pequeña proporción de las formas sanguíneas sobreviven a la digestión intestinal para continuar el ciclo dentro de la garrapata, ha dado origen a la hipótesis de que existe una fase sexual de *Babesia*.

Riek logró identificar 3 formas iniciales de *Babesia* durante las primeras 24 horas dentro del intestino de *Boophilus microplus*. Ellas consistieron en 1) Una forma elongada con el núcleo en el centro (figura 2d); 2) Una forma anillada con una vacuola en el centro

CICLO BIOLÓGICO DE *Babesia argentina* EN
Boophilus microplus



- 1) Babesia dentro de una célula del epitelio intestinal.
- 2) Esquizonte inmaduro.
- 3) Esquizonte maduro lleno de venticulos.
- 4) Vermículo libre en la hemolinfa.
2º Ciclo dentro de hemocitos y células del túbulo excretor.
- 5) Penetración de los huevos dentro del ovario.
- 6) Esquizonte inmaduro dentro de una célula intestinal de la larva.
- 7) Esquizonte maduro lleno de venticulos.
- 8) Vermículo libre en la hemolinfa.
- 9) Desarrollo de. esquizontes y formas infecciosas dentro de células. de la' glándula Saliva!.
- 10) Formas infecciosas libres en la secreción saliva!.

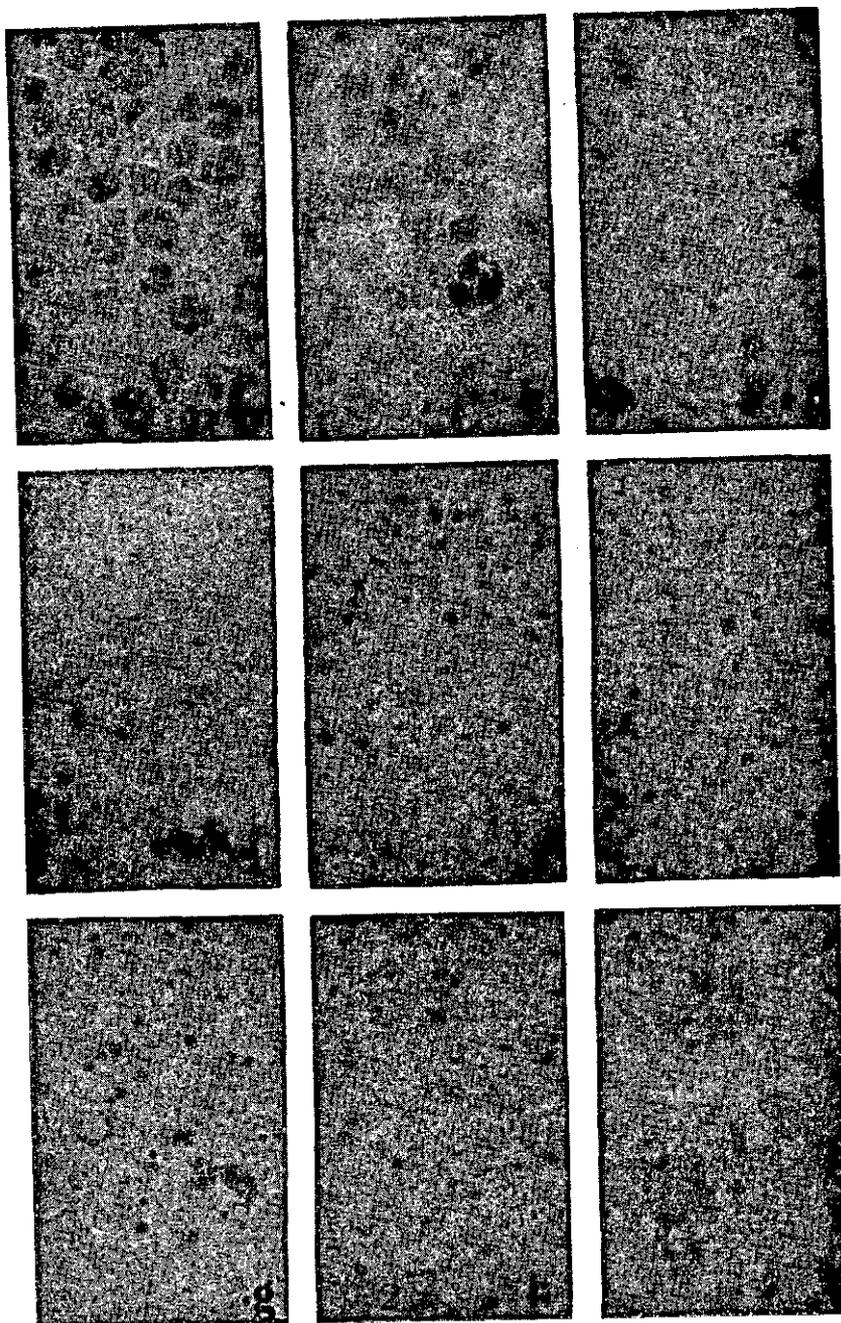


Fig. 2. Formas de *Babesia bigemina* en *Boophilus microplus*. X 1000

FIGs. 2a a 2i.

- a) Piroplasmas intra-eritrocíticos de *B. bigemina* (1) y un cuerpo de *Ana. Plasma marginale* (2) en la sangre del bovino.
- b) Piroplasmas intra-eritrocíticos de *B. bigemina* dentro del himen del intestino de *Boophilus microplus* (0 hrs.).
- e) Piroplasmas exo-eritrocíticos de *B. bigemina* dentro del lumen del intes. tino de *Boophilus microplus* (0 hrs.).
- d) Formas elongadas de *B. bigemina* en el intestino de *Boophilus microplus* (0-24 hrs.).
- e) Esferoides de *B. bigemina* en el intestino de *Boophilus microplus* (0. 24 hrs.).
- f) Forma como de cigarro de *B. bigemina* en el intestino de *Boophilus mi. roplus* (24-48 hrs.).
- g) Esferoide grande de *B. bigemina* en el intestino de *Boophilus microPlus* (24-48 hrs.).
- h) Esferoides (1) y vermículos (2) de *B. bigemina* liberados de un esquizonte en el intestino de *Boophilus microplus* (72 hrs.).
- i) Vermículos de *B. bigemina* libres en la hemolWa de *Boophilus microplus* (72 hrs.).

y el material nuclear distribuido en el margen (figura 2e), y 3) Otra forma anillada con dos núcleos. Aunque no fue posible observar una relación directa entre las tres formas, posiblemente representan el macrogameto y el cigote, respectivamente.

Recientemente, los estudios de microscopía óptica y electrónica en garrapatas altamente infectadas, confirmaron la existencia y morfología de fases probablemente sexuales de *B. bigemina* en el lumen del intestino de *Boophilus microPlus* (17, 18). Su morfología fue muy parecida a las formas sexuales de *Theileria annulata* y *T. parva* en *Hyalomma anatolicum excavatum* (19, 20, 21, 22). Entre 24 y 36 horas, aparece una forma como de cigarro que aumenta su tamaño hasta alcanzar de 3 a 14 μm de largo (figura f), que luego se convierte en un esferoide con la cromatina distribuida en el margen y un diámetro de 9 a 12 μm . (figura 2g). Es probable que estas formas representen la primera fase intracelular de *Babesia*, y correspondan a la maduración del cigote.

La forma esferoide se convierte en un "cuerpo de fisión", o esquizonte, en el cual ocurre fisión múltiple con la producción de numerosos núcleos y una fragmentación del citoplasma. El esquizonte logra un tamaño de 60 x 90 μm y contiene hasta 200 formas individuales. A los 3 o 4 días, estas formas conocidas como vermículos, son liberadas del esquizonte y de la célula intestinal hacia el lumen del intestino (figura 2h).

Los vermículos atraviesan el epitelio intestinal y empiezan a emigrar en la hemolinfa (figura 2i), alcanzando a penetrar los óvulos del ovario antes de que éstos elaboren una cubierta de quitina, e invadiendo las células del intestino del embrión y / o la larva, se convierten en esferoides, y forman otro esquizonte aparentemente igual al que ocurrió en la hembra. Los vermículos son liberados y continúan su multiplicación en las células de las glándulas salivales. En el caso de *B. argentina*, esto ocurre en la larva y en *B. bigemina*, en la ninfa. Aquí los vermículos se convierten otra vez en esquizontes, pero la cromatina se distribuye más al centro. El resultado es miles de cuerpos anulares que se transforman en peras o piroplasmas. Estas son las formas infecciosas de *Babesia* que inoculan las larvas o ninfas, al bovino.

Puede ocurrir un ciclo secundario de *B. bigemina* dentro de las células del túbulo excretor y los hemocitos de la hembra. Aunque *B. argentina* también invade estas células, parece que se inicia al mismo tiempo que el ciclo en las células intestinales y, por lo tanto, no constituye un ciclo secundario_

El periodo en que aparecen las etapas del ciclo de *Babesia* depende mucho de la especie de *Babesia*, de la garrapata, de la temperatura y del nivel de infección en el huésped y las garrapatas. El cuadro 1 es un análisis del ciclo de *B. bigemina* en *Boophilus microplus* a 28°C. Los vermículos de *B. argentina* aparecen en la hemolinfa un poco más tarde (aprox. 24 horas) que las de *B. bigemina*. También hay diferencias morfológicas entre las dos especies. En el cuadro 2 se comparan el tamaño de los vermículos y la presencia o no de una vacuola (figura 3) en las dos especies.

2. Ciclo evolutivo de otras babesias

Las formas morfológicas de otras especies de *Babesia* en sus respectivos vectores, son muy parecidas a las de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus*. Sin embargo, al comparar los ciclos que han sido estudiados, se revelan diferencias significativas entre especies de *Babesia* y autores (3).

Anocentor (Dermacentor) nitens es un vector de *Babesia caballi* en regiones tropicales del mundo (23, 24). Esta garrapata es de un solo huésped como es *Boophilus sp.*, pero hay pequeñas diferencias en el ciclo evolutivo de sus respectivas babesias. Holbrook *et al.*, (25) observaron destrucción masiva de la mayoría de los parásitos ingeridos por esta garrapata. A las 48 y 72 horas, sólo persistieron esferoides de 4 a 6 μm en diámetro con 2 o 3 masas nucleares en el margen. Estos, cambiaron a formas elongadas y un ciclo de fisión múltiple ocurrió en el epitelio intestinal con la producción de vermículos. Ciclos secundarios de fisión múltiple, ocurrieron en los hemocitos, las células del túbulo excretor y en el ovario. La multiplicación continúa en los tejidos del embrión y la larva, después de alimentarse. La producción de formas infecciosas ocurrió generalmente en las glándulas salivales de la ninfa.

Riek (15) observó una preferencia de cada fase de *B. bigemina* para determinados órganos de *Boophilus microplus*. Al efectuar la transmisión de *Babesia* al huésped vertebrado, no hubo evidencia de una infección residual en otros órganos de la larva o ninfa. Callow (26) confirmó que la infección continua de *Boophilus microplus* alimentada sobre huéspedes no bovinos, se debía a la reinfección de garrapatas por una infección ligera en estos huéspedes y no por la persistencia de *Babesia* en la garrapata.

En cambio, Holbrook *et al* (25) detectaron ciclos sucesivos de *B. caballi* en el intestino y otros órganos de cada fase (larva, ninfa, adulta) de *Anocentor nitens*. Aparentemente estas infecciones eran

CUADRO 1

APARICION DE FORMAS EVOLUTIVAS DE *BABESIA BIGEMINA* EN
ORGANOS DE *BOOPHILUS MICROPLUS* A 28° C

<i>Tiempo</i>	<i>Intestino</i>	<i>H emolinfa</i>	<i>Túbulo excretor</i>	<i>Ovario'</i>
0 hrs.	piroplasmas	—	—	neg.
24 hrs.	pocos anillos	—	—	neg.
48 hrs.	anillos, cuerpos de fisión	neg.	—	neg.
72 hrs.	anillos, vermiculos	vermiculos	—	neg.
96 hrs.	anillos, vermiculos	vermiculos	pocos vermiculos	pocos vermiculos
120 hrs.	pocos anillos, vermiculos	vermiculos	pocos vermiculos	anillos, vermiculos

CUADRO 2

CARACTERISTICAS DE LOS VERMICULOS DE *BABESIA ARGENTINA* y
BABESIA BIGEMINA EN LA HEMOLINFA
DE *BOOPHILUS MICROPLUS*

<i>Especie</i>	<i>N'</i>	<i>Presencia de Vacuola</i>	<i>(um) de larga</i>	<i>(um) de ancho</i>
<i>B. argentina</i>	20	10	13.85 ± 1.66*	3.60 ± 0.71*
<i>B. bigemina</i>	20	0	11.76 ± 1.25	3.09 ± 0.68

* Promedio ± desviación, estándar.

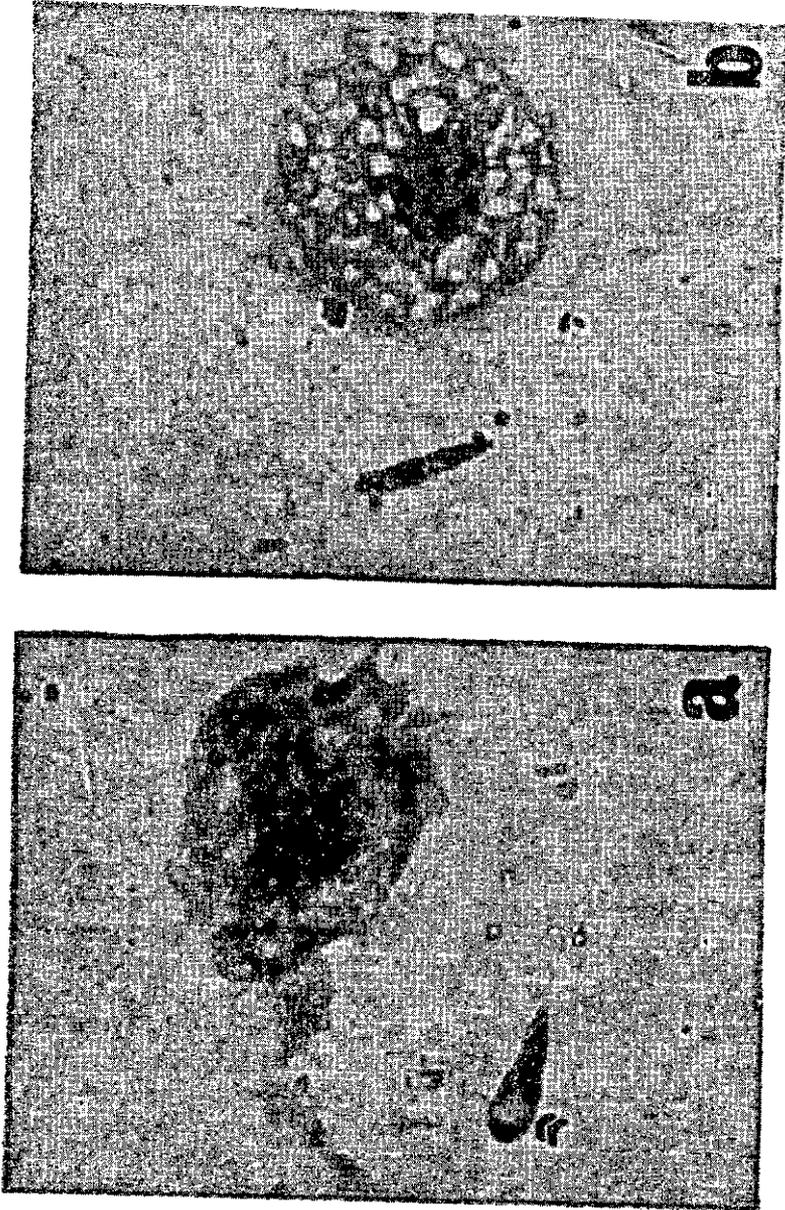


FIG. 3. Vermículos de *Babesia argentina* (a) y *Babesia bigemina* (b) en la hemolinfa de *Boophilus microplus*. Se puede apreciar una vacuola (flecha) en *B. argentina*.

consecuencia de una infección que persistía en el vector durante mudas sucesivas, y no de infecciones nuevas, por ingerir sangre infectada. Este fenómeno podría tener importancia epizootiológica cuando se trata de la erradicación de babesiosis equina mediante la prevención de infecciones en el equino. Aunque las garrapatas no ingieran sangre infectada, la infección permanece en ellas, generación tras

generación.

Rhipicephalus sanguineus es una garrapata de 3 huéspedes y los 3 son perros. El ciclo evolutivo de *B. canis* en *R. sanguineus* elaborado por Shortt (27, 28) demuestra importantes diferencias con las babesias anteriormente mencionadas. Estas diferencias se deben seguramente a la necesidad de *B. canis* para adaptarse a la transmisión transestádial y trans-ovárica.

Como en el caso de *B. bigemina*, *B. argentina* y *B. caballi*, Shortt detectó destrucción masiva de la mayoría de las formas sanguíneas de *B. canis* ingeridas por garrapatas. Una proporción pequeña de los parásitos lograron establecerse en cada fase de *R. sanguineus*, larva, ninfa y adulta. Sin embargo, el ciclo evolutivo de las infecciones iniciadas en cada fase fue característico para cada una de ellas.

En la larva se encontraron unas formas parecidas a las de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus*. Shortt observó multiplicación por fisión múltiple y también fisión binaria. No está claro si las babesias se multiplicaron en las células del epitelio intestinal, pero se encontraron en la hemolinfa de la ninfa al mudar. Shortt, consideró que estas formas se transformaron a parásitos móviles que alcanzaron las glándulas salivales al alimentarse la ninfa (28).

El ciclo evolutivo de las infecciones de *B. canis* que se iniciaron en la ninfa, fue distinto al de la larva. Shortt observó, que después de la destrucción inicial de babesias se podían detectar formas elongadas libres en el intestino. Después de 2 o 3 días, éstas formas atravesaron el epitelio intestinal y penetraron las células de la epidermis subcuticular. Aquí se desarrolló 10 que Shortt designó como un "seudoquistes", en el cual la cromatina se divide continuamente produciendo hasta 200 núcleos. El seudoquistes alcanzó de 25 a 30 μm de diámetro. El citoplasma se organizó alrededor de cada núcleo para dar origen a parásitos llamados "esporoblastos primarios", y cada esporoblasto se convirtió en un cuerpo elongado, que seguramente corresponde a un vermículo de otras babesias. Los vermículos, eran móviles y al entrar a la hemolinfa, demostraron una "quimotaxis" hacia los músculos, que luego invadieron.

En los músculos de la forma adulta, y antes de alimentarse, los vermículos desarrollaron formas esferoides y se multiplicaron intensiva-

mente mediante división binaria hasta producir numerosos parásitos. Shortt (28) designó a estas formas "esporoblastos secundarios". Cuando la garrapata adulta comenzó a alimentarse, los esferoides, se convirtieron en vermículos que salieron de los músculos y penetraron en las células de las glándulas salivales. Otra vez, se formaron esferoides que por fisión binaria, produjeron miles de anillos pequeños, que Shortt identificó como "esporozoítos". Estos esporozoítos son las formas infecciosas para el perro.

Cuando una garrapata adulta se alimenta sobre un perro con parasitemia, la mayoría de las babesias son destruidas en el intestino de la misma. Los parásitos que sobreviven, demuestran características morfológicas, que en algunos casos son parecidas a las encontradas por Riek (3, 15, 16). Parece que *B. canis* no se multiplica en las células del epitelio intestinal, pero atraviesa el intestino y alcanza los ovarios desde la hemolinfa. Las babesias comienzan un proceso de división binaria en los óvulos que sigue durante el desarrollo del embrión dentro del huevo. La larva puede transmitir la infección, pero las babesias persisten en los tejidos de la ninfa.

3. Comparación y significado de las formas evolutivas de *Babesia* sp.

Hay muchos detalles del ciclo biológico de *Babesia* sp'. en la garrapata y el huésped vertebrado que quedan por aclararse. Sin embargo, sería oportuno relacionar las fases evolutivas de *Babesia* con las de otros miembros de la Subrama *Apicomplexa*.

El ciclo evolutivo de estos parásitos, incluye fases sexuales y asexuales (7). La fase sexual consiste en la unión de gametos que dan origen al cigote. La multiplicación asexual comprende 3 procesos distintos, pero cada uno es una forma de esquizogonia (fisión múltiple). *Esporogonia*, describe el proceso por el cual un cigote da origen a esporozoítos. Generalmente, se considera al esporozoíto la forma infecciosa para el huésped vertebrado. Mediante la *merogonia* el esporozoíto produce merozoítos. Los merozoítos pueden producir más merozoítos o, mediante la *gametogonia*, dan origen a los gamontos que maduran a gametos.

Si aceptamos que existe una fase sexual en el ciclo biológico de *B. bigemina* en *Boophilus microplus* (17, 18), entonces el anillo o esferoide con más de un núcleo y la forma como de cigarro (15), probablemente son formas evolutivas de un cigote, u ookinete (3, 15), Y al penetrar una célula intestinal, el cigote se transformaría en un esporonto y mediante la esporogonia, da origen a numerosos esporozoítos. En el caso de *B. bigemina* y *B. argentina*, esta fase sería la de vermícu-

los (3). El vermículo, aparentemente repite éste ciclo en las células del intestino de la larva y a veces, en el túbulo excretor y los hemocitos de la garrapata. Al invadir las células de las glándulas salivales de la larva o ninfa, el vermículo se convierte en un esferoide, o meronto, que mediante la merogonia da origen a los merozoítos. Los merozoítos en las glándulas salivales son las formas infecciosas para el vertebrado. Hay cierta inconsistencia en este esquema. Según Levine (7), el esporozoíto es la forma infecciosa de la *Apicomplexa*, y no el merozoíto. Sin embargo, esta definición es funcional y su origen es de las coccidias y *Plasmodium*. Riek (3) sugirió que la multiplicación de *Babesia* en las glándulas salivales de la garrapata podría ser el equivalente del ciclo exo-eritrocítico de *Plasmodium* en el vertebrado. En este caso, la forma infecciosa de *Babesia* sería merozoíto. Se ha comprobado que no existe un ciclo exoeritrocítico de *B. bigemina* en huéspedes vertebrados (29, 30).

Riek (3) señaló que en el caso de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus* existe un ciclo extra. Este ciclo corresponde a la producción de vermículos en los tejidos extraintestinales de la hembra, y el epitelio intestinal de la larva. Riek consideró que éste era otro ejemplo de la adaptación de una coccidia a un huésped intermediario y/o invertebrado, como otros miembros de la *Apicomplexa*.

Todo lo arriba mencionado para *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus*, también se puede decir de *B. caballi* en *A. nitenr*. Sin embargo, Holbrook *et al* (25) reportaron que *B. caballi* persistió en los tejidos intestinales y ováricos de ninfas y adultas y es probable que éste represente una infección crónica que se transmite entre generaciones sin la intervención de un caballo enfermo.

El ciclo de *B. canis* en *R. sanguineus*, según Shortt (27, 28), no conforma con el modelo de garrapatas de un s610 huésped. Aparentemente se trata de las mismas formas morfológicas que en otras babesias, pero el ciclo biológico en *R. sanguineus* es distinto. Más bien, parece que coexisten dos ciclos; uno para asegurar que las subsiguientes generaciones de garrapatas sigan infectadas y el otro, para lograr la infección de cada fase de la garrapata que ingiere sangre infectada.

También es difícil relacionar el "seudoquiste", los "esporoblastos primarios" y "secundarios" y los "esporozoítos" descritos por Shortt con el ciclo de *Babesia* en garrapatas de un solo huésped. Aunque los "esporoblastos" dieron origen a una forma idéntica a la de vermículo de otras babesias, Shortt reserva el nombre de "esporozoíto" para las formas infecciosas de las glándulas salivales. El problema de la fisión binaria, *versus* fisión múltiple, debe aclararse también.

Seguramente muchas de las inconsistencias podrían resolverse mediante la aplicación de una terminología uniforme junto con estudios comparativos para asegurar que las formas de *B. eanis*, en realidad corresponden a las de otras babesias en la garrapata. Es probable que el estudio del ciclo biológico de otras babesias en sus respectivos vectores revele más variaciones.

4. Microestructura

Casi todo lo que está publicado sobre las fases de *Babesia sp.* en la garrapata tiene base en sus características bajo el microscopio Óptico. Los estudios con el microscopio electrónico han revelado la estructura fina de las formas esferoides y vermículos (identificados como trofozoítos" o "merozoítos") de *B. ovis* en el ovario y glándulas salivales de *Rhipieephalus bursa*, *B. bigemina*, en el ovario de *Boophilus micro .. plus* y *B. major*, en el intestino y ovario de *HaemaPhysalis punctata* (31, 32, 33, 34) . La revelación e identificación de los organelos, han demostrado la relación cercana entre *Babesia sp.* y otros miembros de la¹ subrama *Apicomplexa*, y justifica el empleo de un sistema uniforme de terminología morfológica. La caracterización del complejo apical, anillo polar y del sistema de microtúbulos, podría ser importante en la clasificación taxonómica de especies y géneros de *Babesia*, como ha sido para otros miembros de la subrama *Apicomplexa* (8, 9, 10).

Es quizá más importante el estudio del ciclo de multiplicación, (sea por fisión múltiple o binaria), la manera en que se transforman las formas esferoides a vermículos, y viceversa, y la relación de las formas parecidas que se encuentran en órganos o fases distintas de la garrapata.

Es interesante notar que sólo con el microscopio electrónico han podido demostrarse diferencias morfológicas entre los merozoítos exo-eritrocíticos y los trofozoítos intra-eritrocíticos de *Babesia*, en la sangre del vertebrado (35, 36). Últimamente se ha demostrado la utilidad de la microscopía electrónica en la identificación de formas, posiblemente sexuales, de *B. bigemina* en *Boophilus microplus* (17, 18) .

En la figura 4 se puede apreciar la estructura de un vermículo de *B. bigemina* en *Boophilus microplus* y la identidad de sus organelos principales.



FIG. 4. Microestructura de un vermículo de *Babesia bigemina* dentro de una célula del epitelio intestinal de *Boophilus microplus*. (N-núcleo, eA-complejo apical, V-vacuola, RE-retículo endoplasmático, M-micronemas).

IV. Relación vector-parásito-huésped

1. *Parásitos y huéspedes*

Levine (1) revisó la taxonomía de IO. piroplasmas y reconoció 71 especies de *Babesia*. Muchas de las babesias son de animales silvestres y por la falta de pruebas de transmisión en el laboratorio, los vectores son desconocidos. Killick-Kendrick (37) reconoció 54 especies de babesias en 57 especies de roedores. Neitz (2) Y Riek (3) publicaron una lista de babesias de animales domésticos y sus respectivos huéspedes invertebrados.

Desde 1957 se han reportado casos de babesiosis en seres humanos ocasionados por 3 o 4 especies de *Babesia* (38, 39). En Nantucket Island, Massachusetts, USA, ha habido por lo menos 9 casos de babesiosis ocasionados por *B. microti*, un parásito de roedores silvestres que también parasita hámsters en el laboratorio (40, 41). Pruebas de transmisión con *Dermacentor andersoni* (42) y *Rhipicephalus appendiculatus* (43) han resultado negativas. SpieIman (41) logró transmitir *B. microti* transstadialmente con ninfas de *Ixodes scapularis*. La identificación del vector de *B. microti* tiene mucha importancia tanto médica como científica. Aún se desconoce el ciclo biológico de esta *Babesia* en su huésped invertebrado, pero el sistema podría ser muy útil en el laboratorio para estudiar algunos aspectos de la relación vector-parásito-huésped de *Babesia*, Sin ocasionar gastos económicos relacionados con otros huéspedes vertebrados.

2. *Factores que influyen la infectividad y patogenicidad de Babesia para la garrapata*a) *Sincronización y porcentaje de parasitemia en el huésped vertebrado*

Mediante el empleo de drogas babesiacidas, Callow (44) estudió la relación entre la parasitemia con *B. bigemina* en el bovino, el estado de plétora de *Boophilus microPlus* y la infección de la garrapata. Quedó demostrado que casi todas las infecciones de esta garrapata ocurren durante las últimas 24 horas de sus 21 días sobre el huésped. Este es el periodo en que la garrapata adulta ingiere la mayor cantidad de sangre del huésped vertebrado. Casi no hubo infección en las larvas, ni en las ninfas o adultas que ingirieron la sangre con parasitemia alta antes de las últimas 24 horas. Es posible que durante otros periodos, la destrucción de los componentes de la sangre, incluso las

babesias, sea tan intensa que no permita la infección de la garrapata.

La fase de la infección en la que se alimenta la garrapata también es importante. Callow (44) logró infectar hembras, en 13 de 13 intentos, utilizando becerros con infecciones agudas. En cambio, se establecieron infecciones sólo 7 de 18 veces, empleando becerros portadores de *Rabiesia*. Riek (15) comentó que la mayoría de *Roophilus microplus* que se alimentaron sobre portadores de *B. bigemina*, resultaron negativas para *Babesia* y las larvas no transmitieron el parásito. Es probable que el grado y porcentaje de infección de garrapatas con *Babesia* esté directamente relacionado con el grado de parasitemia en el bovino (3, 15, 16). También es posible que ciertas formas de *Babesia*, quizá sexuales, sólo están presentes en la sangre durante la fase aguda de alta parasitemia.

Riek (15, 16) observó que las garrapatas alimentadas sobre bovinos con infecciones ocasionadas por sangre, resultaron menos infectadas que las garrapatas sobre bovinos infectados mediante garrapatas. Este fenómeno fue más notable con *B. bigemina* que con *B. argentina*. Este efecto se debe posiblemente, a algunos cambios en la cepa de *Babesia*, ocasionados por pases en serie con sangre infectada (45, 46).

Es posible que haya una relación entre parasitemia del huésped vertebrado e infección de *A. nitens* por *B. caballi*, pero no se han llevado a cabo estudios para investigarla. Parece que *B. canis* puede establecerse en cualquier fase, sea larva, ninfa o adulta, de *R. sanguineus*. Esto sugiere que existen importantes diferencias en la relación vector-parásito-huésped entre garrapatas de un solo huésped y las de 2 o 3 huéspedes.

Callow (44) no pudo demostrar ningún efecto babesiácida, del sulfato de quinuronina, sobre babesias en *Boophilus microplus*. En carobio, Kuttler *et al* (47) reportaron que el Imidocarb* si previno la infección de *Boophilus microplus* por *Babesia sp.* Sin embargo, no fue claro si el periodo de parasitemia alta en los becerros, coincidió con el periodo de engorde rápido de las hembras (*í. e.*, las últimas 24 horas).

Smith y Juárez (resultados no publicados, 1975) encontraron en México una cepa de *Boophilus microplus* infectada con *B. bigemina*. La generación F₁ transmitió el parásito a un becerro esplenectomizado. A pesar de encontrar infecciones masivas en el epitelio intestinal y vermículos en la hemolinfa y el ovario de las hembras F₁, las larvas de la subsiguiente generación F₂ no transmitieron babesias a 2 becerros esplenectomizados. El becerro original fue tratado con Ganaseg,**

* Burroughs Wellcome and Company, Inc., Raleigh, North Carolina, USA.
** E. R. Squibb and Sons, México 20, D. F.

1 día antes de que empezaran a caer hembras repletas, las cuales siguieron cayendo durante 7 días después del tratamiento. El hecho de que las babesias hayan logrado desarrollarse en las garrapatas, algunas de las cuales cayeron días después del tratamiento, hace difícil comprender por qué las larvas subsiguientes no estaban infectadas. Posiblemente la droga ejerció algún efecto sobre las babesias después de la oviposición. Este fenómeno nunca ha ocurrido con *B. argentina* en *Boophilus microPlus*.

b) *Efecto de la temperatura ambiental*

Las condiciones ambientales pueden ejercer un efecto indirecto sobre el desarrollo y la transmisión de las babesias en la garrapata mediante su efecto sobre la viabilidad del vector. También, parece que la temperatura puede ejercer un efecto directo sobre el desarrollo de la babesia. Riek (3, 15, 16) reportó que *B. bigemina* y *B. argentina* no completaron su desarrollo en hembras que se mantuvieron a 20° C, aunque las hembras ovipositaron y los huevos eclosionaron. En cambio, la babesia sobrevivió en huevos infectados, mantenidos a 20° C y en larvas a 5°C, las cuales transmitieron la babesia al huésped vertebrado. Además, la babesia persistió en hembras mantenidas a 20° C durante 7 días y luego a 28° C. Por lo tanto, parece que la fase de la babesia más sensible a las bajas temperaturas, es la que se encuentra en la hembra.

c) *Efecto de la cepa de garrapatas.* *

Riek (3, 15, 16) identificó 3 cepas de *Boophilus microplus*, caracterizada cada una por una susceptibilidad característica a *B. bigemina* y *B. argentina*, según un frotis de hemolinfa de garrapatas adultas repletas. Es interesante que la cepa de las garrapatas más susceptibles a *B. bigemina* lo fue también a *B. argentina*.

d) *Patogenicidad de Babesia para la garrapata*

Las especies de *Babesia* pueden ser patógenas no sólo para el huésped vertebrado sino también para la garrapata. Cuando *Boophilus microplus* ingirió sangre con una parasitemia mayor al 5% con *B. argentina* y 20% con *B. bigemina* hubo un alto porcentaje de hembras

Línea de garrapatas de una especie, aisladas de una misma región y con características particulares que resultaron de su experiencia con el medio nativo.

mueras (3, 15, 16). La hemolinfa asimiló el color de la hemoglobina debido a la perforación del epitelio intestinal por la babesia. Anrhone y Holbrook (48) observaron que las hembras de *A. nitens* que se desprendieron de caballos infectados con *B. caballi*, pesaron menos, ovipositaron menor cantidad de huevos y sufrieron mayor mortalidad, que las hembras, de caballos sanos. Además, el porcentaje de eclosión de huevos infectados fue mucho menor.

En la figura 5 se puede observar la relación entre la parasitemia del bovino, el porcentaje de la infección y la mortalidad de las hembras de *Boophilus microplus* infectadas primero con *B. bigemina* y

INFECCION DE UN BECERRO ESPLENECTOMIZADO y GARRAPATAS BOOPHIUJS MICROPLUS CON BABESIA BIGEMINA y BABESIA ARGENTINA.

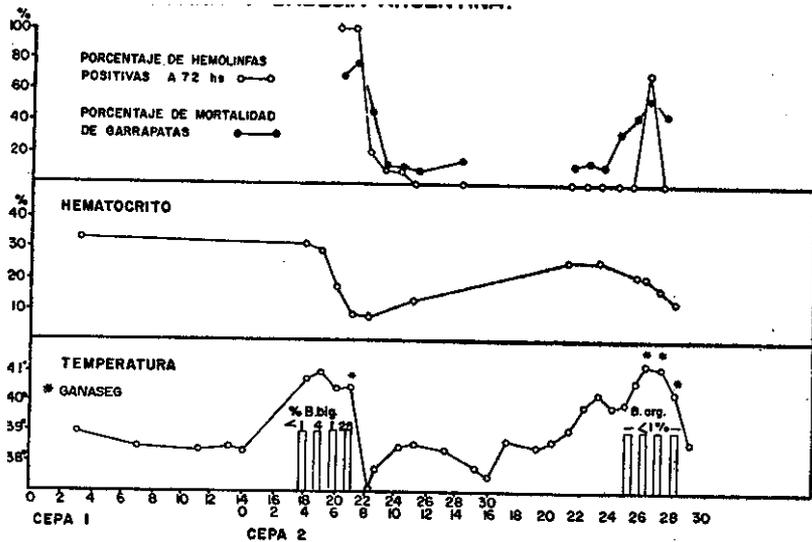


FIG. 5. Relación entre parasitemia con *Babesia bigemina* y *Babesia argentina* en el bovino y porcentaje de infección y mortalidad de *Boophilus microplus*.

luego con *B. argentina*. Mientras mayor fue la infección en las hembras, mayor fue la mortalidad. Se puede notar también, que casi no hubo infecciones en las garrapatas que se desprendieron de un animal portador.

3. *Factore' que influyen en lainfectividad y la patogenicidad de Babesia para el huésped vertebrado*

a) *Porcentaje de infección en el vector*

La presencia y grado de infección con *Babesia sp.* en las glándulas salivales de una fasevectora, sea larva, ninfa o adulta, depende: 1) Del porcentaje e intensidad de la infección en la fase(s) anterior(es), 2) De la eficiencia de traspaso de babesias a través del huevo o de la muda (*i. e.*, metalarva o metaninfa); 3) Del porcentaje de individuos infectados de la fase vectora; 4) Del grado de infección en los acini de las glándulas salivales, y 5) Del porcentaje de individuos infectados que logran alimentarse sobre el huésped vertebrado.

Es muy difícil recolectar datos confiables sobre los aspectos 4 y 5, especialmente en individuos tan pequeñas como son las larvas. Es más fácil determinar el porcentaje de infección en adultas, mediante exámenes de hemolinfa, o de huevos mediante el examen de especímenes aplastados.

Generalmente se determina la presencia de infección en garrapatas adultas mediante exámenes de hemolinfa. Como fue mencionado anteriormente, la detección de vermículos en la hemolinfa depende mucho del grado de infección en la hembra y del periodo desde que se desprendió la garrapata. La figura 6 es una representación gráfica de la relación entre porcentaje de hembras infectadas y el tiempo transcurrido antes de sacar la hemolinfa.

Mahoney y Mirre (49) compararon la utilidad de los exámenes de las formas adultas y larvianas de *Boophilus microplus* para detectar infecciones con *B. bigemina* y *B. argentina*. El grado real de la infección fue determinado mediante la exposición de becerros, a larvas infectadas. Ellos consideraron que el examen de larvas a 24 y 48 horas después de ponerlas sobre los becerros, reveló el verdadero nivel de la infección en una colonia.

b) *Transmisión de Babesia al huésped vertebrado*

En el caso de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus*, es necesario poner larvas infectadas sobre becerros por un periodo corto para estimular el desarrollo de la babesia en los tejidos, facilitando así la búsqueda de parásitos (49). En experimentos empleando acaricidas, el traspaso de ninfas o adultas a un segundo animal y los exámenes microscópicos de las glándulas salivales, han demostrado que la larva de *Boophilus mī&roplus* efectúa la transmisión de *B. argen-*

INFECCION DE GARRAPATAS BOOPHILUS MICROPLUS
CON BABESIA ARGENTINA (Becerro intacto)

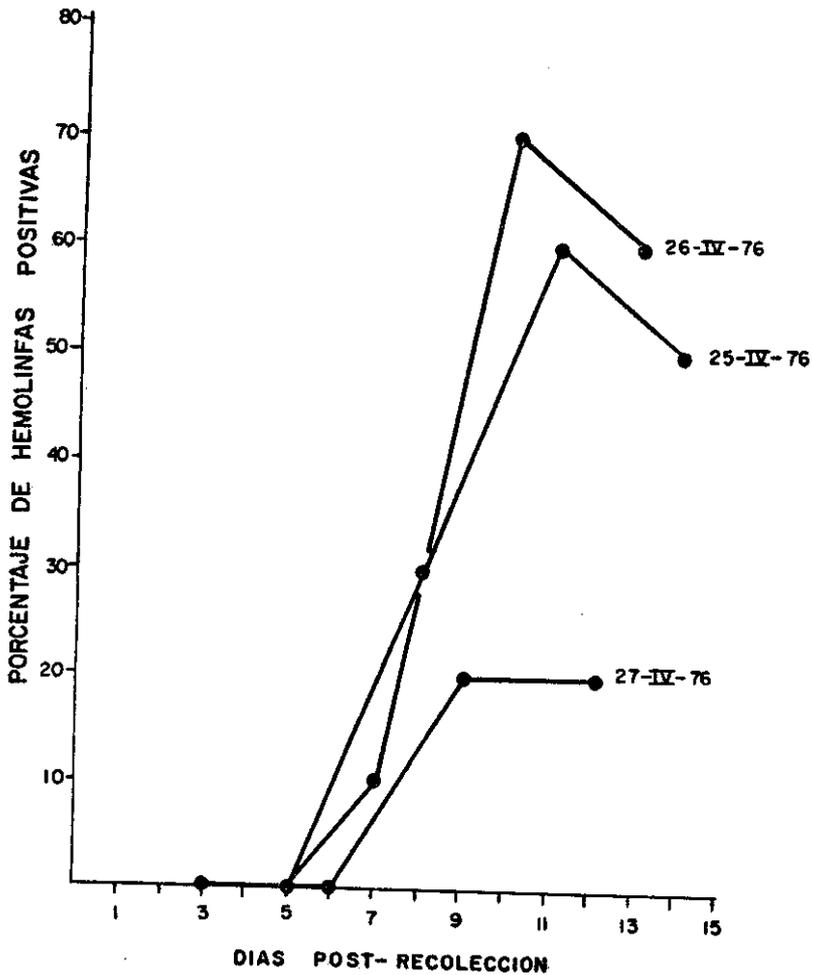


FIG. 6. Relación entre el tiempo de examen de la hemolinfa de *Boophilus micropilus* y detección de *Babesia argentina*.

tina y que la ninfa y/o adulta transmiten *B. bigemina* (15, 16, 29,49, 50).

Es posible infectar animales con babesias mediante la inyección de homogeneizados de las respectivas fases de la garrapata. Mahoney y Mirre (51) y Potgieter y Van Vuuren (52) efectuaron la transmisión de *B. argentina (bavis)* con extractos de larvas de *Baaphilus micraPlus* que se habían alimentado durante 3 o 4 días, sobre un becerro no infectado. Morzaria *et al* (53) lograron infectar un becerro con *B. major* mediante un extracto de ninfas de *Haemaphysalis punctata* alimentadas 4 días sobre las orejas de un conejo.

Los estudios sobre la transmisión de *B. caballi* por *A. nitens* prueban que la ninfa y / o larva transmiten el parásito al caballo y que la ninfa o adulta de la misma generación que efectuó la infección, puede volver a infectarse (24, 48). Shortt (28) reportó que las tres fases de *R. sanguineus*, larva, ninfa y adulta, podían transmitir *B. canis* al perro. Neitz (2) y Riek (3) revisaron las transmisiones de babesias por las garrapatas de animales domésticos.

Hoy te (29, 30) demostró *B. bigemina* en la sangre del bovino 24 horas después de la inoculación del parásito por *Baaphilus micraplus*. Por lo tanto, él consideró que no hubo un ciclo exo-eritrocítico de la babesia antes de invadir la corriente sanguínea.

e) Patogenicidad y virulencia de la babesiosis ocasionada por garrapatas

Bajo condiciones normales basta una sola garrapata infectada para producir la infección al bovino con *B. bigemina* y probablemente con *B. argentina* (49). También, sólo basta el 0.70/0 de las babesias extraídas de una larva de *Boophilus microplus*, para infectar un becerro con *B. argentina* por vía intravenosa (51). Esto sugiere que cada garrapata infectada inocula numerosas dosis infecciosas de babesias durante su periodo de alimentación sobre el huésped vertebrado.

El cuadro 3 compara la reacción clínico-patológica a *B. argentina* en becerros inoculados con sangre de portador (reacción "leve") y becerros expuestos a un determinado número de larvas de *Boophilus microplus*.

Podemos apreciar, que aun cuando no hubo suficientes larvas para infectar a todos los becerros, la reacción en los infectados fue igual a la de los becerros expuestos a un mayor número de larvas. La incapacidad de transmistrar la babesia a un 100% de 10s becerros con 500 larvas, fue el resultado del porcentaje de larvas infectadas y del número de larvas que lograron alimentarse. Los resultados sugieren que no

CUADRO 3

RESPUESTA DE BECERROS SANOS HOLSTEIN AL DESAFIO CON *BABESIA ARGENTINA*
 MEDIANTE SANGRE Y GARRAPATAS INFECTADAS (*BOOPHILUS MICROPLUS*)

Desafío	Nº	Morbilidad	Mortalidad	Periodo de incubación*	Temp. máx.	Reducción de hematocrito (% Máx.)
Controles	10	0.0%	0.0%	—	39.3° ± .1**	26.8% ± 2.4**
10 ml sangre portador IM	20	90.0%	0.0%	14.6 ± .2**	39.9° ± .1	41.1% ± 1.6
500 larvas	8	62.5%	20.0%	13.2 ± .5	41.2° ± .1	62.2% ± 3.3
1000 larvas	4	100.0%	25.0%	9.0 ± .0	41.3° ± .1	65.8% ± 1.8
2000 larvas	10	100.0%	40.0%	9.9 ± .4	41.1° ± .1	61.9% ± 2.7

* El periodo de incubación se inicia cuando incrementa la temperatura rectal a más de 39.5° C y se encuentran babesias en frotis sanguíneos.

** Promedio ± error estándar.

hay reacciones "subclínicas" a *B. argentina* cuando la transmisión se efectúa por garrapatas, siempre que los becerros no tengan inmunidad al parásito (*í. e.*, por calostro o infecciones anteriores).

4. Epizootiología

El desarrollo de técnicas para la identificación de *B. bigemina* y *B. argentina* en *Boophilus microplus* (49) ha hecho posible los estudios de campo para relacionar el grado de infección en bovinos con el porcentaje y número de garrapatas infectadas en los potreros. En Australia, las zonas de babesiosis se identifican como zonas marginales o zonas enz0óticas (54,55,56). La incidencia de babesiosis clínica en cada región, depende de la "taza de inoculación" de *B. argentina* a bovinos por *Boophilus microplus*. La taza de inoculación depende del número de garrapatas presentes y del porcentaje de ellas que están infectadas. Se ha determinado que en zonas. enzoóticas, donde todos los animales están expuestos a babesiosis antes de los 9 meses de edad, sólo el 0.04% de larvas están infectadas con *B. argentina* y el 0.23 % con *B. bigemina* (49). En zonas marginales, donde ocurren brotes esporádicos de babesiosis, el porcentaje de infección en las larvas varía de acuerdo con el nivel de parasitemia en el hato. ~

Parece que las infecciones de *Boophilus microplus* por *B. argentina* y *B. bigemina*, no persisten generación tras generación sin la intervención de un huésped infectado (26). Esto quiere decir que mediante la eliminación de las babesias en el bovino, se le podría eliminar de las garrapatas. En cambio, hay evidencia de que infecciones de *B. caballi* en *A. nitens* y *B. canis* en *R. sanguineus*, persisten sin la intervención de un huésped infectado (25, 28, 29).

V. Mantenimiento de *B. argentina* en *Boophilus microplus* bajo condiciones de laboratorio

Cría de Boophilus microPlus

Boophilus microplus, y otras garrapatas, pueden desarrollarse dentro de rangos de temperaturas bastante amplios. La velocidad del desarrollo está ~relacionada directamente con la temperatura. En cambio, cada especie de garrapata tiene un requerimiento mínimo de humedad para su desarrollo. *Rhipicephalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis*, se mantienen en excelentes condiciones por mucho tiempo a aproximadamente 80% de humedad relativa. En cambio, *Amblyomma cajennense* y *Boophilus microplus* requieren aproximadamente 90%

de humedad relativa para su desarrollo. A 80% de humedad, los huevos no eclosionan y las larvas se deshidratan rápidamente. Estos requerimientos se reflejan en la distribución geográfica de las especies de garrapatas. Por ejemplo, *B. annulatus* se encuentra en zonas más áridas que *Boophilus microplus*.

El sistema para criar *Boophilus microplus* que hemos seguido en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias en México, D. F., es el siguiente: las garrapatas (huevos, larvas, adultas) se mantienen aisladas en frascos de vidrio (de alimentos "Gerber") tapados con tela de nylon fijada con una liga de hule. Como es una garrapata de un solo huésped, no hay necesidad de mantener ninfas en el laboratorio. Cuando es necesario manejar las fases pequeñas, como las larvas, se coloca el frasco dentro de un refrigerador a 4° C o directamente sobre hielo hasta que se inmovilizan las larvas. Al colocarlas de nuevo a la temperatura del ambiente, las larvas empiezan a moverse de nuevo.

Los frascos generalmente se colocan dentro de una campana de desecación que contiene en el fondo una solución saturada de sal. Para *Boophilus sp.*, se puede emplear una solución saturada de nitrato de potasio. Es importante que la solución sea saturada y que sobren cristales de sal una vez preparada. Cuando la campana de desecación esté tapada, la humedad relativa será de aproximadamente 93%. El cuadro 4 es una relación de soluciones saturadas y los porcentajes de humedad relativa que proporciona cada sal.

Las campanas de desecación se mantienen a 28° C dentro de una estufa de baja temperatura que contiene elementos de calefacción y refrigeración. Es importante considerar que ciertas especies de garrapatas, por ejemplo *Dermacentor variabilis*, requieren una fotoperiodicidad de más o menos 14 horas de luz y 10 horas de obscuridad. Sin luz, algunas especies de garrapatas entran en la diapausa y rehusan alimentarse hasta que se establezcan las condiciones de luz que requieren. En el caso de *Boophilus microplus*, siempre hemos proporcionado 14 horas de luz dentro de la estufa, mediante un reloj de cocina. Cuando se coloca un foco dentro de una estufa sin refrigeración hay que asegurarse de que la temperatura no suba más de 28° C.

2. Alimentación e infección de *Boophilus microplus* con *B. argentina*

El huésped preferido de *Boophilus sp.* es el bovino. Esta garrapata prefiere alimentarse en áreas de la piel que estén protegidas de la luz y el frío. Por lo tanto, el rendimiento de *Boophilus sp.* siempre será mayor cuando las garrapatas estén libres para escoger su sitio preferi-

do. Generalmente las larvas se establecen alrededor del pliegue de la cola 2 o 4 semanas después de haber eclosionado. Rápidamente se dispersan y a las 24 horas están adheridas. A los 21 días, las hembras pléoras empiezan a desprenderse, pudiéndoseles recoger del piso o de la piel del bovino, siempre que estén completamente repletas.

CUADRO 4

PORCENTAJE DE HUMEDAD RELATIVA QUE PROPORCIONAN SOLUCIONES SATURADAS DE VARIAS SALES EN UNA CAMPANA DE DESECACIÓN A 28' C

<i>Sal</i>	<i>Humedad relativa aprox.</i>
	%
HOH	100%
K ₂ S ₀ 4,	98%
KNO _s *	93%
KCl**	85%
NH ₄ ,Cl**	79%
NaCl**	73%
NaBr	58%
Mg(NO _s),	53%
K,CO,	43%
MgCl,	33%
LiCl	13%

* Puede emplearse para *B. microplus* y *A. cajennense*. **
Puede emplearse para *R. sanguineus*.

La cantidad de huevos que pone una garrapata, es proporcional a la cantidad de sangre que ingiere. Las hembras empiezan a ovipositar a los 3 días' después de caerse. Es conveniente mantener separadas las hembras de acuerdo con el día de su recolección.

La infección de garrapatas con *B. argentina*. se efectúa exponiendo un becerro sano y esplenectomizado, a larvas infectadas, o a sangre de portador, 10 días después de haberle puesto larvas "limpias". Como el periodo de incubación de *B. argentina* es aproximadamente de 10 días, la iniciación de la parasitemia coincide con el periodo de engorde rápido de *Boophilus* (últimas 24 horas sobre el bovino) y la caída de las hembras inicialmente libres de babesias. Ellas se infectarán y transmitirán la infección a las larvas a través de los huevos.

Es necesario mantener una colonia de garrapatas "-limpias" (*i. e.*, libres de babesias) sobre un animal libre de infección, ya que cualquier garrapata que se alimente sobre un bovino infectado, podría infectarse, hasta de un animal portador de babesias.

3. Detección de babesias en la garrapata

La prueba de la hemolinfa (57) es fácil de hacer. Simplemente arrancando un segmento de cualquiera de las 8 patas, sale una gota de hemolinfa. Esta gota se aplica a una laminilla de vidrio y mediante la tinción de Giemsa, se pueden detectar vermículos de *Babesias*. Generalmente se realiza una prueba de hemolinfa de 10 hembras cada 2 o 3 días, comenzando desde el tercer día después de la recolección de las hembras. El porcentaje de infección es el número de hemolinfas infectadas sobre un número de 10. Los vermículos pueden aparecer desde los primeros 3 días en adelante. Sin embargo, la prueba no es 100% eficiente. Aunque unas hembras salgan negativas en todas las pruebas, las larvas pueden salir infectadas (49). La prueba sólo sirve para indicar si la colonia está infectada, y en forma relativa, el grado de la infección.

* Este trabajo es el resultado de un programa cooperativo entre el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias en México, y la Universidad de Illinois, USA, y financiado con fondos de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos del Gobierno Mexicano y la Fundación Rockefeller (Bee RF-44-44-30-362) New York, N. Y.

REFERENCIAS

1. Levine. N. D. Taxonomy of the Piroplasms. *Trans. Amer. Micros. Soc* 90, 1:2-33, 1971.
2. Neitz. W. O. Classification. Transmission and Biology of Piroplasms of Domestic Animals. *Ann. New York Acad. Sci.* 64:56-111, 1956.
3. Riek. R. F. Babesiosis. In *Infectious Blood Diseases of Man and Animals* . . D. Weinman and M. Ristic, Eds. New York. Academic Press, Vol. 2: 219-268, 1968.

4. Cheissinl E. M. Tax~noinics of Piroplasmae and some peculiarities of their developroent in the vertebrat~ and invertebrate hosts. *Acta Proto.. 2001.* 3: 103-109, 1965.
5. Levine, N. D. Uniform Terminology for Sporozoan Protozoa. *Prog. Protozool.* IIT. Internat. Congr. Protozool., Leningrad: 340, 1969.
6. Levine, N. D. Taxonocmy of the Sporozoa. *J. Parasitol.* 56 (sec. IT): 208-209, 1970.
7. Levine, N. D. Unifonn Terminology for the Protozoan *Subphylum Apicomplexa.* *J Protozool.* 18, 2:352-355, 1971.
8. Scholtyseck, B., Mehlhorn, H., and Friedhoff, K. The Fine Structure of the Conoid of Sporozoa and Related Organisms. *Z. Parasitenk.* 34: 68-94, 1970.
9. Scholtyseck, E., Mehlhorn, H., and Müller, B. G. Identifikation von Merozoiten der vier cystenbildenden Coccidien (*Sarcocystis, Toxoplasma, Besnoitia, Frenkelia*) auf Grund feinstruktureUer Kriterien. *Z. Parasitenk.* 42: 185-206, 1973.
10. Scholtyseck, E. In *The Coccidia.* D. M. Hammond and P. L. Long, Eds. Baltimore, University Park Press. 81-144, 1973.
11. Wallace, G. D., and Frenkel, J. K. *Besnoitia sp. (Protozoa, Sporozoa, Toxoplasmatidae):* Recognition of cyclic transmission by cats. *S ciencia.* 188: 369-371, 1975.
12. Heydorn, A. O., Gestrich, R., Mehlhorn, H., and Rommel, M. Proposal for a New Nomenclature of the *Sarcosporidia.* *Z. Parasitenk.* 48:73-82, 1975.
13. Fayer, R., Johnson, A. J., and Hildebrandt, P. K. Oral infection of mammals with *Sarcocystis fusiformis* *Bradizoites* from cattle and Sporocysts from dogs and coyotes. *I. Parasitol.* 62, 1: 10-14, 1976.
14. Koch, R. Beitrage zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen. *Z. Hyg. Infektionskr.* 54: 1-9, 1906.
15. Riek, R. F. The Life Cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilbome, 1893) in the Tick Vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.* 15, 5:802.821, 1964.
16. Riek, R. F. The Life Cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the Tick Vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agrie. Res.* 17:247-254, 1966.
17. Friedhoff, K. T., and BUScher, G. Ligth Microscopic Studies on Koch's "StranhEnkorper" of *Babesia bigemina.* *Int. Conf. Tick-Borne Dis. and Their Vectors.* Edinburgh, Scotland. Sept. 27-Oct. 1, 1976.
18. Weber, G., and Friedhoff, K. T. Preliminary Observations on the Ultrastructure of Proposed Sexual Stages of *Babesia bigemina.* *Int. Conf. Tick-Borne Dis. and Their Vectors.* Edinburgh, Scotland. Sept. 27Oct. 1, 1976.
19. Schein, E. ,On the Life Cycle of *Theileria, annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) in the Midgut and Hemolymph of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). *Z. Parasitenk.* 47: 165-167, 1975.
20. Schein, E., Buscher, G., and Friedhoff, K. T. Lichtmikroskopische Untersuchungen iiber die Entwicklung von *Theileria annulata* (Dschunkowsky und Luhs, 1904) in *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). I. Die Entwicklung im Darm vollgesogener Numphen. *Z. Parasitenk.* 48: 123-136, 1975.

21. Mehlhorn, H., Weber, G., Schein, E., and Büscher, G. Elektronenmikroskopische Untersuchung an Entwicklungsstadien von *Theileria annulata* (Dschunkowsky, Luhs, 1904) im Darm und in der Hiemolymphe von *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). *Z. Parasitenk.* 48: 137-150, 1975.
22. Mehlhorn, H., and Schein, E. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Theileria parva* (Theiler, 1904) im Darm der Überträgerzecke *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). *Tropenmed. Parasitenk.* 27, 2: 182-191, 1976.
23. Roby, T. O., and Anthony, D. W. The transmission of equine piroplasmiasis by the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. *J. A. V. M. A.* 142:768-769, 1963.
24. Roby, T. O., Anthony, D. W., Thornton, C. W., Jr., and Holbrook, A. A. The Hereditary Transmission of *Babesia caballi* in the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. *Am. J. Vet. Res.* 25, 105: 494-499, 1964.
25. Holbrook, A. A., Anthony, D. W., and Johnson, A. J. Observations on the development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the tropical horse tick *Dermacentor nitens* Neumann. *J. Protozool.* 15, 2:391-396, 1968.
26. Callow, L. L. *Babesia bigemina* in ticks grown on non-bovine hosts and its transmission to those hosts. *Parasitology.* 55: 375-381, 1965.
27. Shortt, H. E. Life-history and morphology of *Babesia canis* in the dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Ind. J. Med. Res.* 23: 885-920, 1936.
28. Shortt, H. E. *Babesia canis*: The life cycle and laboratory maintenance "in its arthropod and mammalian hosts. *Int. J. Parasitol.* 3: 119-148, 1973.
29. Hayte, H. M. D. Initial development of infections with *Babesia bigemina*. *J. Protozool.* 8, 4:462-466, 1961.
30. Hoyte, H. M. D. Further observations on the initial development of infections with *Babesia bigemina*. *J. Protozool.* 12, 1: 83-85, 1965.
31. Friedhoff, K. T., and Scholtyseck, E. Fine structure of *Babesia ovis* Trophozoites in *Rhipicephalus bursa* Ticks. *J. Parasitol.* 54, 6: 1246-1250, 1968.
32. Friedhoff, K. T., and Scholtyseck, E. Feinstrukturen der Merozoiten von *Babesia bigemina* im Ovar von *Boophilus microplus* und *Boophilus decoloratus*. *Z. Parasitenk.* 32:266-283, 1969.
33. Friedhoff, K. T., and Scholtyseck, E. *Progress in Protozoology.* IV Internat. Congr. Protozool., Ctermant Ferrand: 146, 1973.
34. Morzaria, S. P., Bland, P., and Brocklesby, D. W. Ultrastructure of *Babesia major* in the tick *Haemaphysalis punctata*. *Res. Vet. Sci.* 21: 1-11, 1976.
35. Langreth, S. G. Feeding mechanisms in extracellular *Babesia microti* and *Plasmodium lophurae*. *J. Protozool.* 23, 2:215-223, 1976.
36. Rudzinska, M. A. Ultrastructure of Intraerythrocytic *Babesia microti* with emphasis on the feeding mechanism. *J. Protozool.* 23, 2: 224-233, 1976.
37. Killick-Kendrick, R. Parasitic protozoa of the blood of rodents. 11. Haemogregarines, malaria parasites and piroplasms of rodents: An Annotated checklist and host Index. *Acta Tropica. Separatum.* Vol. 31: 26-69.
38. Ristic, M., Siwe, S., Healy, G. R., Smith, A. R., and HuxsoII, D. L.

- Babesia* species Isolated from a Woman with Clinical Babesiosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 20, 1: 14-22, 1971.
39. Andersan, A. E., Cassaday, P. B., and Healy, G. R. Babesiosis in man Sixth documented case. *Amo J. Clin. Pathol.* 62:612-618, 1974.
 40. Healy, G. R., Spielman, A., and Gleason, N. Human Babesiosis: Reservoir of infection 'en Nantucket Island. *Science.* 192:479-480, 1976
 41. Spielman, A. Human Babesiosis on Nantucket Island: Transmission by nymphal *Ixodes* tick., *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25, 6: 784-787, 1976.
 - 420 Genga, U. Eo, and Kreier, J. P. Transmission experiments with *Babesia microti* (Gray strain) using *Dermacentor andersoni* Stiles as a vector. *Ohio J. Science.* 76, 4: 188-189, 1976.
 42. Irvin, A. D., and Brocklesby, D. W. Attempts to transmit *Babesia (N'Ut-tallia) microti* in laboratory mice by the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Int. J. Parasitolo* 2:99-103, 1972.
 43. Callow, L. Lo The Infection of *Boophilus microplus* with *Babesia bigemina*. *Parasitol.* 58:663-670, 1968.
 - 450 Callow, Lo L., and Mellors, Lo T. A new vaccine for *Babesia argentina* Infections prepared in splenectomized calves. *Aust. Vet. J.* 42: 464-465, 1966.
 46. Brocklesby, D. Wo, Sellwood, So A., Harradine, D. L., and Young, E. Ro *Babesia major* in Britain: Blood-induced infection in splenectomized and intact calves. *Int. J. Parasitol.* 3:671-680, 1973.
 - 470 Kuttler, K. L., Graham, Oo H., and Trevino, J. L. The effect of imidocarb treatment on *Babesia* in the bovine and the tick (*Boophilus microplus*). *Res. Vet. Se.* 18: 198-200, 1975.
 48. Anthony, D. W., and Holbrook, A. A. The experimental transmission of *Babesitt caballi* (Nuttall) by *Dermacentor nitens* Neumann and some interrelationships between the parasite and the vector. *Prac. 2nd Inter- nat. Congr. Acarol.* 1967:621-622, 1969.
 49. Mahaney, D. F., and Mine, G. B. Bovine Babesiosis: Estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ann. Tropo Med. Parasitolo* 65, 3:309-317, 1971.
 50. Callow, L. J., and Hay te, Ho M. D. Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*~ *Borrelia* sp. and the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 37:381-390, 1961.
 51. Mahoney, Do Fo, and Mirre, Go B. *Babesia argentina*: The infection of splenectomized calves with extracts of larval ticks (*Bvophilus microplus*). *Res. Vet. Se.* 16:112-114, 1974.
 - 520 Potgieter, Fo T., and Van Vuuren, A. So The transmission of *Babesia bovis* using frozen infective material obtained from *Boaphilus microplus* larvae. *Onderstepoort Jo Vet. Reso* 41:79-80, 1974.
 - 530 Morzaria, S. Po, Brocklesby, D. W., Harradine, D. L., and Barnett, S. Fo *Babesia major* in Britain: Infectivity of suspension derived from groundup *Haemaphysalis punctata* Nymphs. *Int. J. Parasitol.* 4:437-438, 1974.
 - 540 Mahaney, D.F. The epidemiology of Babesiosis in cattleo *Aust. J. Sci.* 24: 310-313, 1962.
 55. Mahoney, D. F., and Ross, D. R. Epizootiological facton in the control of bovine Babesiosis. *Aust. Vet. J.* 48:292-298, 1972.
 - 560 Ross, D. R. • and Mahoney, D. F. Bovine Babesiosis: Computer simulation

- of *Babesia argentina* parasite rates in *Bos taurus* cattle. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 68:385-392, 1974.
57. Burgdorfer, W. Hemolymph Test. A technique for detection of Rickettsiae in ticks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 19, 6: 1010-1014, 1970.