

RIA, 33 (3): 123-133
Diciembre 2004
INTA, Argentina

ISSN edición impresa 0325-8718
ISSN edición en línea 1669-2314

BABESIOSIS CLÍNICA EN EQUINOS DE CERRILLOS, SALTA, ARGENTINA*

AGUIRRE, D.H.¹; CAFRUNE, M.M.²; RADA, M.³ y
TORIONI de ECHAIDE, S.⁴

RESUMEN

Las babesiosis equinas son consideradas endémicas en el noreste argentino desde hace unas nueve décadas. En la región noroeste la situación epidemiológica es desconocida, pese al hallazgo ocasional de equinos seroreactivos a *Babesia*. Aun así, en esta región no se informaron casos clínicos de babesiosis equinas durante décadas. Este trabajo describe dos casos clínicos ocurridos en sendos establecimientos cercanos a Cerrillos, Salta, Argentina, en diciembre de 2002 y enero de 2003. Fueron afectadas hembras jóvenes (≤ 3 años) que murieron en alrededor de 24 horas. El diagnóstico parasitológico (tinción de Giemsa) reveló la presencia de *Babesia equi* y de *Babesia caballi*, respectivamente, en cada caso. El último se confirmó además por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En este caso también se recuperaron ejemplares de *Dermacentor (Anocentor) nitens* de las orejas de la yegua afectada. Este representa el tercer hallazgo de esta garrapata en la Argentina y el primer registro local concomitante con un caso clínico de babesiosis equina.

1. Méd. Vet. M. Sc., ². Lic. en Biol. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Salta, C.C. 228, CP 4400, Salta, Argentina. ³. Méd. Vet. Actividad privada. Nueve de Julio 19, Rosario de Lerma, CP 4405, Salta, Argentina. ⁴. Méd. Vet. M. Sc. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, C.C. 22, CP 2300, Rafaela, Santa Fe, Argentina. E-mail: daguirre@correo.inta.gov.ar
*Trabajo presentado (parcialmente) en el 10º Simposio Internacional de Epidemiología y Economía Veterinaria, Viña del Mar (Chile), 17-21 de noviembre de 2003.

Palabras clave: equinos, babesiosis clínica, *Babesia equi*, *Babesia caballi*, *Dermacentor (Anocentor) nitens*, Salta, Argentina.

SUMMARY

CLINICAL BABESIOSIS IN HORSES OF CERRILLOS, SALTA, ARGENTINA

Since at least nine decades equine babesiosis are considered endemic in northeast Argentina. Despite occasional findings of seroreactors to *Babesia*, epidemiological status of the northwestern region remains unknown. In this region no cases of equine babesiosis have been reported in the last decades. This work describes two clinical cases occurred at different farms near Cerrillos, province of Salta, Argentina, in December 2002 and January 2003. Single young female horses (≤ 3 years old) became ill in each farm and died in about 24 hours. The parasitological diagnosis (Giemsa stain) showed presence of *Babesia equi* and *Babesia caballi*, respectively, in each case. The latter was also confirmed by the polymerase chain reaction (PCR) method. Specimens of *Dermacentor (Anocentor) nitens* were also found in the ears of the mare in this case. This is the third report of this tick species in Argentina and the first local record concomitant with a clinical case of equine babesiosis.

Key words: horses, clinical babesiosis, *Babesia equi*, *Babesia caballi*, *Dermacentor (Anocentor) nitens*, Salta, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Las babesiosis equinas causadas por *Babesia caballi* y *Babesia equi* son infecciones ampliamente difundidas en las regiones tropicales y subtropicales. Son transmitidas por varias especies de garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* y –quizás- *Boophilus* (De Waal, 1992; Stiller y Coan, 1995; Friedhoff y Soulé, 1996). Las infecciones pueden cursar en forma inaparente o bien originar casos de enfermedad aguda, subaguda o crónica. En pocas ocasiones se han comunicado brotes severos de estas noxas (Friedhoff y Soulé, 1996) con mayor

124 *Babesiosis clínica en equinos de Cerrillos, Salta, Argentina*

incidencia de *B. equi* que de *B. caballi* (De Waal, 1992). La muerte es un final habitual en estos casos.

Los estudios serológicos en equinos de Latinoamérica revelan que ambas Babesias prevalecen en grado variable en casi toda la región, excepto el sur de Chile y de Argentina. Las prevalencias de *B. equi* y de *B. caballi* son muy altas en países como Colombia y Brasil, donde los equinos sufren intensa parasitación por garrapatas, entre ellas el *Dermacentor (Anocentor) nitens* (Friedhoff y Soulé, 1996). Esta especie se reconoce como el principal vector americano de *B. caballi* (Stiller y Coan, 1995). En cambio, poco se sabe sobre la transmisión de *B. equi* en América (Stiller y Coan, 1995). Aun así, cabe destacar su transmisión por fomites, rasgo que -entre otros- la distingue de sus congéneres, ubicándola en posición taxonómica incierta (Melhorn y Schein, 1998).

En la Argentina, las babesiosis equinas se reconocen como enzoóticas en la región noreste desde hace unas nueve décadas (Bachman *et al.*, 1923; Brihuega *et al.*, 1993), en tanto los únicos hallazgos del *D. (A.) nitens* corresponden al noroeste del país (Mangold *et al.*, 1983, 1986). En este trabajo se comunican dos casos clínicos de babesiosis equina ocurridos en sendas tropas de la provincia de Salta, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ambas tropas se ubicaban cerca de Cerrillos (24°55'S, 65°29'W), en el Valle de Lerma, cuya altitud media es de 1.250 m.s.n.m. El área corresponde a los Valles Templados, zona perteneciente a la provincia Chaqueña del Dominio Chaqueño (Cabrera, 1976). En otros términos, responde a un clima subtropical de estación seca invernal. Las lluvias ocurren entre noviembre y abril, con una media anual de 698,5 mm. El área es enzoótica para las babesiosis de los bovinos por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (Späth, 1986).

Las dos tropas se integraban por una treintena de equinos, la primera de raza Peruano de Paso y la segunda sin biotipo racial definido. La primera tropa era cerrada, aunque convivía en cierto grado con bovinos lecheros, mientras que la segunda se

encontraba aislada de todo tipo de ganado, pero tenía ingreso permanente de equinos de distintas áreas. Los casos fueron únicos para cada tropa y afectaron a hembras jóvenes. El primero se produjo en diciembre de 2002 en una potranca de dos años que fue hallada en decúbito lateral, con hipotermia (37,2 °C), taquipnea, edema perineal, ictericia en mucosas conjuntival y vulvar y hemoglobinuria. El segundo caso ocurrió en enero de 2003 en una yegua Cuarto de Milla de tres años, que también fue encontrada en decúbito lateral, con fiebre (40,1 °C), sudoración, taquipnea, congestión de mucosas y signos nerviosos. Ambos casos culminaron en la muerte, acaecida al día siguiente de los signos iniciales. En la potranca sólo pudieron ser inspeccionados los restos dejados por los animales carroñeros, mientras que en la yegua se realizó una necropsia completa.

En la fase clínica se tomaron extendidos de sangre (finos y gruesos) de cada equino que se colorearon con Giemsa al 10% y fueron examinados al microscopio con objetivo de inmersión para determinar la presencia de hemoparásitos. En el segundo caso se obtuvieron además muestras de sangre con distintos anticoagulantes (EDTA, citrato de Na al 5%) para establecer respectivamente el índice hematocrito y la identidad genómica de *Babesia* sp., mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para esta prueba se extrajo ADN a partir de 400 µl de sangre citratada de la yegua afectada y de un equino sano (control negativo), usando el kit comercial QIAGEN para muestras de sangre. Como control positivo se utilizó ADN de una cepa de *B. caballi* de los Estados Unidos de Norteamérica y se agregó además un control de reactivos, sin ADN (negativo). Se emplearon los cuatro juegos de 'primers' detallados en la Tabla 1, dos específicos para *B. caballi* y dos para *B. equi*.

Cada reacción de PCR se realizó en forma independiente para cada juego de 'primers', en un volumen final de 50 µl de agua bidestilada y esterilizada; 5 µl de buffer PCR 10X; 2,2 µl de MgCl₂; 1 µl de 20 mM de cada deoxinucleótido; 0,25 µl de Taq polimerasa (2,5 U); 2,5 µl de 10 pM de cada 'primer' y 5 µl de ADN purificado. Para la amplificación del ADN se programaron 5 minutos iniciales a 94°C y 40 ciclos: 94°C, 59 seg; 58°C, 59 seg y 72°C, 59 seg, con una extensión final a 72°C, 5 minutos. El producto de PCR se

126 Babesiosis clínica en equinos de Cerrillos, Salta, Argentina

Tabla 1. 'Primers' utilizados para la identificación de ADN de *Babesia caballi* y/o *Babesia equi* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Especie de <i>Babesia</i>	Nombre del 'primer'	Secuencia de oligonucleótidos 5'3' ('primers')	Tamaño del producto de PCR en pares de bases (bp)	Referencia
<i>B. caballi</i>	BC 48 F1	ACG AAT TCC CAC AAC AGC CGT GTT	530 bp	Ikadai et al, 1999 Battsetseg et al, 2001
	BC 48 R3	ACG AAT TCG TAA AGC GTG GCC ATG		
<i>B. caballi</i>	BC 48 F11	GGG CGA CGT GAC TAA GAC CTT ATT	430 bp	Battsetseg et al, 2001
	BC 48 R31	GTT CTC AAT GTC AGT AGC ATC GC		
<i>B. equi</i>	EMA -5 (F)	TCG ACT TCC AGT TGG AGT CC	268 bp	Battsetseg et al, 2001
	EMA-6 (R)	AGC TCG ACC CAC TTA TCA CC		
<i>B. equi</i>	EMA 7 (F)	ATT GAC CAC GTC ACC ATC GA	218 bp	Battsetseg et al, 2001
	EMA 8 (R)	GTC CTT CTT GAG AAC GAG GT		

visualizó en un gel de agarosa al 1,5%, teñido con 0,5 µg/ml de bromuro de etidio.

Por último, en cinco de las garrapatas hembras halladas se tomaron muestras de hemolinfa los días 4 y 5 post-recolección que se colorearon y examinaron como los extendidos de sangre para establecer la presencia de quinetos de *Babesia* sp. (Guglielmone et al., 1985).

RESULTADOS

El diagnóstico parasitológico reveló la presencia de *B. equi* para el primer caso y de *B. caballi* para el segundo. La distinción específica de los protozoarios se efectuó en los extendidos gruesos de sangre, debido a la baja parasitemia (< 0,5%) observada en los dos equinos.

En el segundo caso la PCR mostró bandas visibles de 530 bp y 430 bp, confirmando el diagnóstico de *B. caballi*, mientras que no se observaron bandas específicas para *B. equi* (268 y 218 bp).

El índice hematocrito de este caso fue de 0,40. Por otra parte, la necropsia reveló marcada esplenomegalia (bazo = 3,9 kg) como principal rasgo anatomopatológico, además de una congestión generalizada y severa gastritis hemorrágica. En este equino se hallaron también 17 ejemplares de garrapatas (8 adultos, 9 ninfas) fijados en sus orejas, los que se identificaron como *D. (A.) nitens*, acorde a los rasgos morfológicos descritos por Mangold *et al.* (1983). Una minuciosa inspección indicó ausencia de otros ixódidos. La hemolinfa de las garrapatas estudiadas no mostró presencia de quinetos de *Babesia* sp.

Previamente el examen de restos equinos del primer caso permitió confirmar ictericia generalizada del tejido subcutáneo y ausencia de garrapatas en las orejas.

DISCUSIÓN

El trabajo pionero de Bachman *et al.* (1923) aportó el primer indicio sobre la existencia de babesiosis equina en nuestro país. Sin embargo, recién en los años '70 Ibáñez *et al.* (1973, 1974) confirmaron la presencia local de *B. equi* y de *B. caballi* mediante diagnóstico parasitológico. A ello sucedió una serie de estudios serológicos, particularmente en las provincias del noreste argentino. Los resultados (Tabla 2) permitieron establecer el carácter enzoótico de las babesiosis equinas en esa región, aunque rara vez se comunicó la ocurrencia de casos clínicos. La investigación local sobre estas noxas se discontinuó más tarde, según refleja la falta de aportes bibliográficos durante la última década.

La situación epidemiológica de la región noroeste permaneció desconocida, pese al hallazgo ocasional de equinos seroreactores a *Babesia*. Tampoco las formas clínicas de babesiosis equinas se informaron para esta región en varias décadas. Ello podría adjudicarse en principio a una situación de estabilidad enzoótica de las infecciones, resultante de tasas elevadas de inoculación de *Babesia*. No obstante, Brihuela *et al.* (1993) informaron, para equinos de Salta, una prevalencia de seroreactores a *Babesia* sp. de apenas el 3,8%, lo que desvirtúa aquella hipótesis. Por su parte,

Tabla 2. Prevalencia serológica de babesiosis equina en provincias del norte argentino (prueba de inmunodifusión en gel de agar).

Provincia	Nº equinos	Nº equinos reactivos	Prevalencia (%)	Especie de <i>Babesia</i>	Referencia
Chaco	610	100	16,4	<i>B. equi</i>	Bakos, 1981
Chaco	231	34	14,7	<i>B. equi</i>	Bakos <i>et al.</i> , 1981
Formosa	1049	342	32,6	<i>B. equi</i>	Colman <i>et al.</i> , 1982
Formosa	1958	567	28,9	s/d*	Miranda <i>et al.</i> , 1985
Misiones	31	8	25,8	s/d	Brihuega <i>et al.</i> , 1993
Corrientes	693	18	2,6	s/d	Brihuega <i>et al.</i> , 1993
Salta	711	27	3,8	s/d	Brihuega <i>et al.</i> , 1993

* Sin datos

Kerber *et al.* (1999) demostraron una prevalencia serológica significativamente menor de ambas infecciones en las áreas subtropicales que en las tropicales del Brasil. Según estos precedentes, podría inferirse entonces que los casos actuales sean sólo esporádicos. Ello es acorde con la improbabilidad de que una alta incidencia de babesiosis clínicas haya pasado desapercibida hasta ahora considerando la relevancia de la equinotecnia salteña. Aun así, no puede descartarse un subregistro de estas noxas si - como en los casos actuales- la afección de individuos únicos por tropa fuera un patrón habitual. En definitiva, si estos casos son esporádicos o índices de otros posteriores es una cuestión que solo podrá dilucidarse en el futuro.

La literatura sobre babesiosis equinas no informa sobre una estacionalidad en la forma clínica de las afecciones. Si bien estos casos no alcanzan para establecer una tendencia, su ocurrencia coincidió con la época de los brotes de babesiosis bovina en el área, los cuales en un 91% se presentan entre noviembre y junio (Späth, 1986). Para el caso específico de *B. caballi* se espera una casuística asociada a la mayor abundancia primavera-estival de su principal vector (Mangold *et al.*, 1983; Borges *et al.*, 2000).

Los diagnósticos parasitológicos permitieron confirmar la presencia de los dos agentes de la babesiosis equina en el noroeste argentino. Para estos análisis resultó crucial la técnica de la gota gruesa de sangre (Mahoney y Saal, 1961). Al respecto, De Waal (1992) había sugerido su confección tras observar muy bajas parasitemias ($< 0,1\%$) aun en casos agudos de babesiosis equina - particularmente por *B. caballi*- que dificultan el diagnóstico en

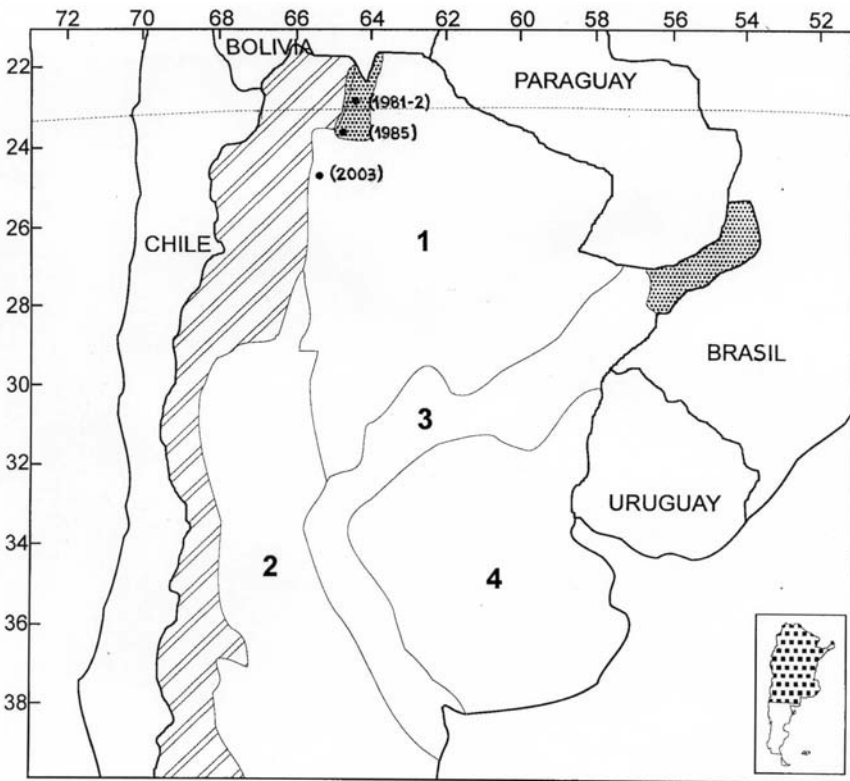


Figura 1. Sitios y (entre paréntesis) años de hallazgo de *Dermacentor* (*Anocentor*) *nitens* en distintas áreas fitogeográficas de la Argentina (adaptado de Ragonese, 1967, y de Cabrera, 1976). ▨ Dominio Andino-Patagónico ▩ Dominio Amazónico □ Dominio Chaqueño: 1) Provincia Chaqueña, 2) Provincia del Monte, 3) Provincia del Espinal, 4) Provincia Pampeana

130 Babesiosis clínica en equinos de Cerrillos, Salta, Argentina

extendidos finos de sangre. Esta limitación podría ser superada mediante el uso de la PCR.

Por otra parte, es este el primer informe para el país de babesiosis clínica (*B. caballi*) con presencia concomitante de su principal vector americano. Los únicos dos hallazgos previos del *D. (A.) nitens* en la Argentina datan de hace dos décadas y se efectuaron en las provincias limítrofes de Salta y Jujuy (23°05'S 64°25'W y 23°50'S 64°47'W, respectivamente), en el área tropical del Dominio Amazónico, donde el ixódido está muy difundido (Mangold *et al.*, 1983; 1986). Este representa el primer informe de la garrapata para un área subtropical de la Argentina (Figura 1) en un hecho que podría interpretarse como resultado de un proceso de dispersión relativamente reciente. En efecto, el último hallazgo local del *D. (A.) nitens* está datado hace 18 años (Mangold *et al.*, 1986) y se concretó a 115 km al norte del presente. La eventual continuación del proceso de expansión de esta garrapata es incierta. No obstante, cabe advertir que el hallazgo actual está cercano al posible límite de dispersión meridional del ixódido, considerando que el *D. (A.) nitens* no se encuentra en los estados brasileños de Santa Catarina y Rio Grande do Sul, situados al sur del paralelo 26°S (Borges *et al.*, 1999).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. A. Guglielmone la matriz del mapa adjunto y la lectura crítica del texto.

BIBLIOGRAFÍA

- Bachman, A.; Dios, R.L. y Oyarzábal, J. 1923. Sobre la presencia de la *Nuttallia equi* en los caballos del Chaco. Rev. Asoc. Med. Arg. (Bs. As.) 4, pp 288-289.
- Bakos, E. 1981. Prevalencia de la piroplasmosis equina (*Babesia equi*) en la provincia del Chaco, por medio de la inmunodifusión. Gac. Vet. 43, pp 773-774.
- Bakos, E.; Legal, V. y Bustamante, A. 1982. Prevalencia serológica de enfermedades anemizantes en equinos de la provincia del Chaco. Veterinaria (UNNE) 2, pp 85-90.
- Battsetseg, B.; Xuan, X.; Ikadai, H.; Rodríguez Bautista, J.L.; Byambaa, B.; Boldbaatar, D.; Battur, B.; Battsetseg, G.; Batsukh, Z.; Igarashi, I.; Nagasawa, H.; Mikami, T.

- and Fujisaki, K. 2001. Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* adult ticks. Int. J. Parasitol. 31, pp 384–386.
- Borges, L.M.F.; Oliveira, P.R. and Ribeiro, M.F.B. 1999. Seasonal dynamics of the free-living phase of *Anocentor nitens* at Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brazil. Vet. Parasitol. 87, pp 73-81.
- Borges, L.M.F.; Oliveira, P.R. and Ribeiro, M.F.B. 2000. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. Vet. Parasitol. 89, pp 165-171.
- Brihuega, J.M.; Vizio, E.A. y Dale, J. 1993. *Babesiosis equina*: prevalencia serológica en la República Argentina, años 1990/1993. Rev. Med. Vet. (Bs. As.) 74, pp 212-215.
- Cabrera, A.L. 1976 Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Fasc. 1. Regiones fitogeográficas argentinas. 2ª Edición. Editorial ACME, Buenos Aires, 85 p.
- Colman, O.L.R.; Bobadilla de Mendoza, N.Y.; Brunel, C.M. y Bulman, M. 1982. Primera cita de la tasa de prevalencia serológica de babesiosis (piroplasmosis) equina (*Babesia equi*, Laveran 1901) en la provincia de Formosa (República Argentina) con el simultáneo análisis comparativo de la tasa de anemia infecciosa equina (AIE). Rev. Militar Vet. 30, pp 29-34.
- De Waal, D.T. 1992. Equine piroplasmosis: a review. Br. Vet. J. 148, pp 6-14.
- Friedhoff; K.T. and Soulé, C. 1996. An account on equine babesioses. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 15, pp 1191-1201.
- Guglielmone, A.A.; Mangold, A.J.; Bermúdez, A.C. y Hadani, A. 1985 Detección de merozoitos grandes (vermiculos) de *Babesia* en teleoginas de *Boophilus microplus* alimentadas sobre terneros con distintos niveles de parasitemia de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* (= *Babesia argentina*). Rev. Ibér. Parasitol. 45: 303-311.
- Ibáñez, E.; Moretti, R.; Giménez, R. y Moreira, R. 1973. Piroplasmosis equina en Corrientes. Comunicación previa. Gac. Vet. 35, pp 14-16.
- Ibáñez, E.A.; Bettinotti, C.M.; Moretti, O.F.; Giménez, R.L.; Moreira, R.; Bargardi, S. y Benítez, M.C. 1974. Piroplasmosis equina. Comprobación de su existencia en la República Argentina (Corrientes), por observación del parásito, pruebas inmunológicas y transmisión experimental. Gac. Vet. 36, pp 65-85.
- Ikadai, H.; Xuan, X.; Igarashi, I.; Tanaka, S.; Kanemaru, T.; Nagasawa, H.; Fujisaki, K.; Suzuki, N. and Mikami, T. 1999. Cloning and expression of a 48 kDa *Babesia caballi* merozoite rhoptry protein and potential use of the recombinant antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 37: 3475–3480.
- Kerber, C.E.; Ferreira, F. and Pereira, M.C. 1999. Control of equine piroplasmosis in Brazil. Onderstepoort J. Vet. Res. 66, pp 123-127.
- Mahoney, D.F. and Saal, J.R. 1961. Bovine babesiosis: thick blood films for the detection of parasitaemia. Aust. Vet. J. 37, pp 44-47.
- Mangold, A.J.; Bermúdez, A.C. y Guglielmone, A.A. 1983. Hallazgo de *Anocentor nitens*, Neumann 1897 (Ixodoidea-Ixodidae), en la República Argentina. Rev. Med. Vet. (Bs. As.) 64, pp 140-143.
- Mangold, A.J.; Guglielmone, A.A. y Hueda, R.C. 1986. Hallazgo de *Anocentor*

132 *Babesiosis clínica en equinos de Cerrillos, Salta, Argentina*

- nitens* Neumann, 1897, en la provincia de Jujuy. Comunicación previa. Vet. Arg. 3: 880-881.
- Melhorn, H. and Schein, E. 1998. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Melhorn, Schein 1998. Parasitol. Res. 84, pp 467-475.
- Miranda, A.O.; Colman, O.L.R.; Bobadilla de Mendoza, N.Y. y Brunel, C.M. 1985. Anemia infecciosa y babesiosis equina: Prevalencias serológicas en la provincia de Formosa y su evolución en el quinquenio 1979-1983. Vet. Arg. 2, pp 711-720.
- Ragonese, A.E. 1967. Vegetación y ganadería en la República Argentina. Col. Científica, Vol. 5, INTA, Buenos Aires, 208 p.
- Späth, E.J.A. 1986. Un estudio epidemiológico de babesiosis y anaplasmosis bovina en el Valle de Lerma, provincia de Salta. Rev. Méd. Vet. (Bs. As.) 67: 274-281.
- Stiller, D. and Coan, M.E. 1995. Recent development in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmosis. Vet. Parasitol. 57, pp 97-108.

Original recibido el 14 de julio de 2004