

Histología del intestino de la garrapata (*Boophilus microplus*) en estado de semiingurgitamiento

Carlos R. Cruz-Vázquez*, **
Zeferino García-Vázquez***
Ma. Teresa Quintero-Martínez**
Esteban Miranda-Miranda***

Abstract

The objective of the present study was to identify the histological structure of the midgut in semi-engorged adult females of *B. microplus* ticks in a reference strain in Mexico. Tick and gut's pieces were processed for paraffin embedding and frozen sections. Longitudinal sections were made and stained with haematoxylin and eosin. Observations were made in light microscope. Similar histological structures were found in epithelial gut cells between studied ticks and the ones described previously in the literature. Cells identified were basophilic and digestive ones like: earliest digestive-, intermediate digestive and digestive cells (mature 1). All of these cells are described and compared to their equivalent ones reported in the literature.

Key words: *BOOPHILUS MICROPLUS*, HISTOLOGY, MIDGUT.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue identificar las estructuras histológicas del intestino de hembras adultas semiingurgitadas de la garrapata *Boophilus microplus* en una cepa de referencia en México. Se procesaron garrapatas y piezas de intestino de garrapatas hembras semiingurgitadas para su inclusión en parafina y por congelación, se practicaron cortes longitudinales que se tiñeron con hematoxilina y eosina y se realizaron las observaciones en microscopio compuesto. Se encontraron diferentes tipos de células epiteliales en el intestino, éstas resultaron similares entre la cepa estudiada y las descritas previamente en la literatura, las células identificadas fueron: células basofílicas y células digestivas en serie, integradas por células digestivas iniciales, células digestivas tardías y células digestivas maduras 1, todas ellas son descritas y se indica su equivalencia con las que se notificaron previamente en la literatura.

Palabras clave: *BOOPHILUS MICROPLUS*, HISTOLOGIA, INTESTINO.

Introducción

La garrapata *Boophilus microplus* es un ectoparásito hematófago que se encuentra presente en diversas regiones del mundo.¹ En México se le encuentra en 51.5% del territorio nacional,² en especial en las zonas altamente ganaderas del centro, sur y sureste del país.³

Esta garrapata es responsable de múltiples problemas de salud animal por los daños directos que provoca, además de que es eficiente vector de la Babesiosis bovina, así como de otros patógenos.⁴

La importancia sanitaria de este ectoparásito ha dado origen a múltiples estudios acerca de su biología, pero

Recibido el 18 de febrero de 1997 y aceptado el 7 de julio de 1997.

* Becario de la Secretaría de Educación Pública, Instituto Tecnológico Agropecuario 20. Apartado Postal 1439, Central Camionera, 20270, Aguascalientes, Aguascalientes, México.

** Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR), Apartado Postal 206, CIVAC, 62500, Jiutepec, Morelos, México.

Cuadro 1
TIPOS DE CELULAS IDENTIFICADAS EN EL INTESTINO DE GARRAPATAS *Boophilus microplus*, HEMBRAS SEMIINGURGITADAS EN UNA CEPA DE REFERENCIA MEXICANA Y SU EQUIVALENCIA CON LAS NOTIFICADAS POR OTROS AUTORES. ^a

<i>Células identificadas</i>	<i>Equivalencias^b</i>
Células digestivas en serie (cd):	Células digestivas en serie (dcs):
* Células digestivas tempranas (cdt)	* Células digestivas primarias (de)
* Células digestivas intermedias (cdi)	* Células digestivas maduras (dm)
* Células digestivas maduras I (cdm1)	* Células digestivas con hemoglobina (dhv).
* Células basofílicas (cb)	* Células basofílicas (b)

^a: Agbede y Kemp.⁵

^b: Entre paréntesis aparece la abreviatura original en inglés.

existe poca información relacionada con la estructura y función de su aparato digestivo.^{5,6,7}

El intestino de *B. microplus* resulta ser un tejido en el que suceden eventos fisiológicos muy importantes para la economía del parásito, además tiene un papel protagónico en la relación hospedero-parásito, y en el desarrollo, como hospedero intermediario, de hemoparásitos y otros agentes infecciosos.^{4,8,9,10} Por otra parte, recientemente se ha planteado la necesidad de estudiar la posibilidad de que existan diferencias estructurales o funcionales a este nivel, entre garrapatas ubicadas en diferentes zonas geográficas.¹⁰

Debido al renovado interés en la investigación en este ectoparásito, que brinda atención a diversos aspectos relacionados con su aparato digestivo, resulta oportuno generar información básica que aporte elementos para apoyar diferentes líneas de investigación al respecto en México.

El objetivo del presente trabajo fue identificar las estructuras histológicas del intestino de hembras de la garrapata *B. microplus* adultas semiingurgitadas en una cepa de referencia en México.

Material y métodos

Se utilizaron garrapatas hembras adultas de *B. microplus* en estado de semiingurgitamiento,¹¹ procedentes de la cepa "Zapata", libre de *Babesia* spp y sensible a ixodicidas, la cual ha sido mantenida por pase en bovinos¹ desde 1992, en el Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR).

Las garrapatas se colectaron en forma manual y directamente del bovino entre los 19 y 20 días después de la infestación con larvas viables, se colocaron en cajas de Petri limpias y de inmediato se trasladaron al laboratorio

para su procesamiento. Para el presente estudio se realizaron tres primoinfestaciones en bovino y se colectaron aproximadamente 60 garrapatas en cada infestación para ser procesadas como se indica posteriormente.

Las garrapatas colectadas se lavaron con agua destilada y se formaron tres grupos, el primero para realizar su inclusión en parafina (ip), el segundo para llevar a cabo su inclusión por congelación (ic), y el tercero para ser fijadas en una placa de cera y proceder a disecar piezas grandes de intestino, las cuales se depositaron en solución amortiguadora de fosfatos fría con pH 7.2 (SAF) antes de proceder a su inclusión; las piezas de intestino se procesaron para su inclusión por (ip) e (ic) de la misma forma que las garrapatas.

Para la inclusión en parafina, las garrapatas y piezas de intestino se fijaron en solución acuosa de Bouin's* por 24 horas.⁵ Posteriormente se deshidrataron y aclararon por pasos de gradiente en etanol absoluto-aceite de cedro, en la siguiente relación porcentual: 90-10, 70-30, 50-50, 25-75, 10-90, 0-100, dando 20 minutos en los 5 primeros pasos y posteriormente tres tiempos de una hora cada uno para el 100% de aceite de cedro. Una vez realizada esta etapa, se procedió a llevar a cabo la inclusión de las muestras en Paraplast regular.*

Los cortes histológicos se realizaron en un microtomo de rotación con navaja de acero inoxidable,** los cortes fueron longitudinales de 4 micrómetros.

En el caso de la inclusión por congelación, las garrapatas y piezas de intestino (estas últimas contenidas en SAF), se refrigeraron por dos horas y posteriormente se fijaron en un bloque de gelatina al 12%, después se procedió a congelar los bloques mediante su paso de 4 a -20°C.¹² Los cortes histológicos se realizaron el mismo día de su procesamiento en un microtomo de congelación-criostato,** los cortes fueron longitudinales de 6 micrómetros.

En ambos procedimientos (ip) e (ic), los cortes se tiñeron con hematoxilina y eosina.¹³ Las laminillas se observaron en microscopio compuesto con la finalidad de identificar los componentes celulares por comparación con los notificados en el trabajo de Agbede y Kemp.⁵

* Sigma Chemical, Co. St. Louis Missouri, USA.

**American Optical Co. San Francisco, California, USA.

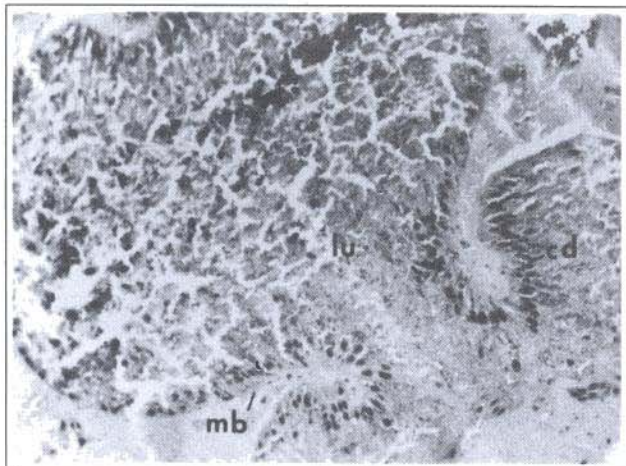


Figura 1. Corte histológico de garrapata *Boophilus microplus*, hembra semiingurgitada. Ciego intestinal en donde se identifican: el lumen (lu), la membrana basal (mb) y el epitelio intestinal con una capa de células digestivas (cd). Corte longitudinal en parafina, tinción de hematoxilina y eosina (aumento 10X).

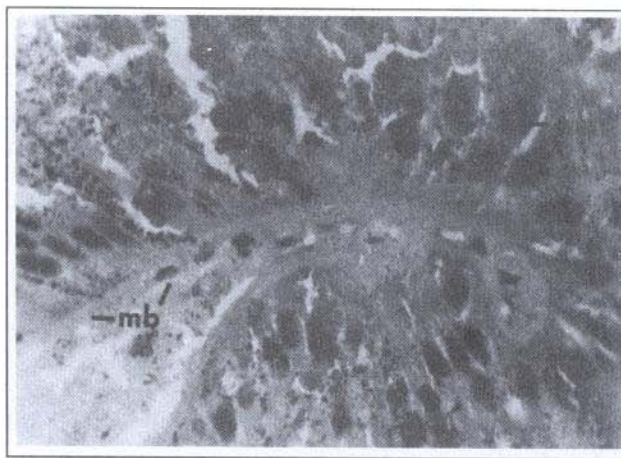


Figura 2. Corte histológico de garrapata *Boophilus microplus*, hembra semiingurgitada. Ciego intestinal donde se identifican: el lumen (lu), la membrana basal (mb) y el epitelio intestinal con células digestivas intermedias (cdi). Corte longitudinal en parafina, tinción de hematoxilina y eosina (aumento 40X).

Resultados

Los cortes histológicos realizados en garrapatas y piezas intestinales de estas últimas, permitieron identificar los tipos de células que se indican en el Cuadro 1, en el mismo se pueden apreciar las equivalencias con lo notificado en la literatura.

En la Figura 1 se puede apreciar el corte de un ciego intestinal (10X), en el cual se observa su configuración general: el lumen (lu), con contenido intestinal en digestión y la membrana basal (mb), además del epitelio intestinal en el que se observa una capa de células digestivas en serie (cd).

La Figura 2 muestra un acercamiento de un ciego intestinal (40X) en donde se identifica a la membrana

basal (mb), el lumen (lu) y al epitelio intestinal con una capa de células digestivas en serie en la cual se reconocen células digestivas intermedias (cdi).

En la Figura 3 se observa el corte histológico de una pieza intestinal (10X), en el cual se identifican a las células basofílicas (cb), células digestivas tempranas (cdt), células digestivas maduras 1 (cdm1) y al lumen (lu).

En la Figura 4 se observa un acercamiento (40X) de otro corte de una pieza intestinal en donde es posible identificar las siguientes estructuras: (cb), (cdi), (cdt) y (cdm1).

Las células digestivas tempranas (cdt) se ubican en la base del epitelio intestinal, son redondeadas con forma que asemeja un globo y tienen pequeñas vacuolas digestivas (Figuras 3 y 4). Las cdi se ubican en una capa inmediata a las cdt y son más alargadas, en ellas se pueden

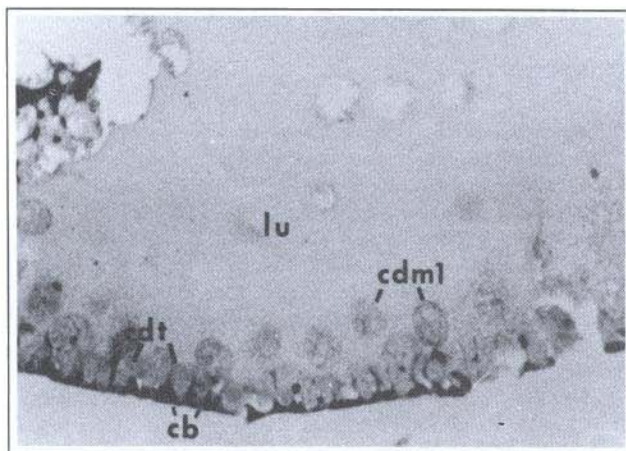


Figura 3. Corte histológico de intestino de garrapata *Boophilus microplus*, hembra semiingurgitada. Se identifican: el lumen (lu), células basofílicas (cb), células digestivas tempranas (cdt) y células digestivas maduras 1 (cdm1). Corte longitudinal en parafina, tinción de hematoxilina y eosina (aumento 10X).

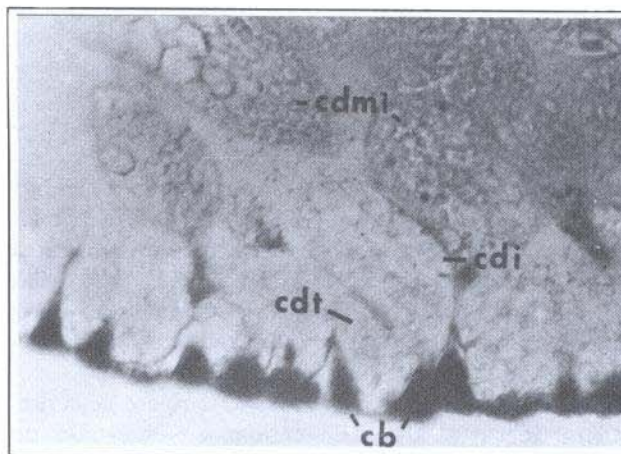


Figura 4. Corte histológico de intestino de garrapata *Boophilus microplus*, hembra semiingurgitada. Se identifican: células digestivas tempranas (cdt), células digestivas intermedias (cdi), células digestivas maduras 1 (cdm1) y células basofílicas (cb). Corte longitudinal en parafina, tinción de hematoxilina y eosina (aumento 40X).

observar vacuolas en mayor cantidad y de diferente tamaño, estas últimas presumiblemente contienen alimento (hemoglobina y otros constituyentes sanguíneos) en proceso de digestión intracelular (Figuras 3 y 4). Las células digestivas maduras 1 (cdm1), se localizan en un estrato superior a las cdt y cdi e intercaladas con estas últimas, son de forma alargada y de mayor tamaño que las anteriores y contienen también numerosas vacuolas digestivas que presumiblemente llevan hemoglobina en proceso de digestión intracelular (Figuras 3 y 4).

Las células basofílicas (Figuras 3 y 4) se localizan a nivel de la membrana basal, son de forma triangular y se observan de color púrpura intenso en la preparación histológica, estas células se encuentran intercaladas entre las células digestivas (cd).

Discusión

Al igual que sucede con otros ácaros, las garrapatas ixódidas, incluyendo a *B. microplus*, se caracterizan por cubrir en tres fases su proceso digestivo; en términos generales éste es lento, y definido, se compone por una fase de digestión externa, otra intrainestinal y finalmente una intracelular.^{7,9,14}

El intestino está compuesto por varios pares de largos divertículos ciegos que forman una intrincada madeja de túbulos que ocupan la mayor parte de la cavidad interna del cuerpo. La digestión intracelular sucede mediante la acción programada de un grupo de células localizadas en el epitelio intestinal. Las células digestivas, por medio de un proceso de pinocitosis, engloban el contenido intestinal y ya dentro de las células, realizan la digestión final del mismo.^{14,7}

La garrapata *B. microplus* realiza su proceso digestivo de manera similar a la que ya indicó, pero debido a que es garrapata de un solo hospedero, posee algunas singularidades en este proceso. A nivel estructural, el intestino de esta garrapata presenta algunas coincidencias en cuanto al tipo de células observadas en otros ixódidos, pero también posee diferencias importantes que han sido notificadas en la literatura.^{5,6,9,12}

En la cepa estudiada en el presente trabajo, los componentes histológicos identificados han resultado ser equivalentes a los descritos previamente en la literatura,^{5,6,12} para el estado evolutivo estudiado (Cuadro 1). Se observaron pequeñas diferencias, particularmente en cuanto a la apreciación de la forma de las células en el caso de las cdt, que la literatura describe como alargadas y que en este estudio se identificaron como redondeadas asemejando la forma de un globo (Figuras 2 y 3).

El proceso digestivo en *B. microplus* requiere de la presencia de varios tipos de células en el estado de semiingurgitamiento; sin embargo, cada garrapata puede avanzar hacia el ingurgitamiento total a diferente velocidad dentro de cierto rango;¹¹ hacia el final de los días 20 y 21 de edad en fase parásita, aparecen otros tipos de células digestivas y las células secretoras 1 y 2, las cuales se

localizan en estratos superficiales al lumen intestinal.⁵ En el presente estudio estas células no fueron identificadas en las garrapatas estudiadas y esto pudo deberse posiblemente a dos razones: la primera, a que la cepa utilizada haya tenido una evolución más lenta que en la usada por Agbede y Kemp,⁵ situación que tendría que confirmarse mediante estudios apropiados; la segunda, que la técnica histológica empleada hubiera provocado la destrucción de las células digestivas más superficiales al lumen.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que se encontraron equivalencias estructurales en el tipo de células del epitelio intestinal de hembras de *B. microplus* semiingurgitadas a las notificadas por Agbede y Kemp⁵ en una cepa de referencia australiana. Por otra parte, se puede decir que la idea planteada por Opdebeeck¹⁰ respecto de la posibilidad de la existencia de polimorfismo entre cepas de diverso origen geográfico, hasta donde lo permite el presente estudio y cuando menos a nivel histológico, parece que no existe.

Sin embargo, es necesario realizar estudios complementarios acerca de la fisiología de la digestión y de los cambios histoquímicos inherentes, que permitan aclarar las diferencias observadas en estudios de inmunización en ganado bovino hacia esta garrapata y que puedan, asimismo, servir de apoyo a otro tipo de investigaciones en esta materia que se desarrollan actualmente en México.

Agradecimientos

Este trabajo tuvo financiamiento del Programa de Apoyo a la Investigación de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los autores desean expresar su reconocimiento a la TLC Maribel Acosta P. y al Dr. Celso Ramos G., del Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, del Instituto Nacional de Salud Pública, por su apoyo en el desarrollo de este trabajo.

Referencias

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. El control de las garrapatas y enfermedades que transmiten. Manual práctico de campo. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1987.
2. Castellanos JL, Solís SS. La campaña contra la garrapata en México. Memorias del 2° Seminario Internacional de Parasitología Animal; 1991 octubre 9-11; Oaxtepec, Morelos, México. México (DF): Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1993:111-115.
3. Solís, SS. Epidemiología de las garrapatas *Boophilus microplus* y *Amblyomma* spp en México. Memorias del 2° Seminario Internacional de Parasitología Animal. 1991 octubre 9-11; Oaxtepec, Morelos, México. México (DF): Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1993:19-30.
4. Ristic, M, Kreier, JP. Babesiosis. New York: Academic Press, 1981.
5. Agbede RIS, Kemp, DH. Digestion in the cattle tick *Boophilus microplus*. Light microscope study of the gut cells in nymphs and females. Int J Parasitol 1985;15:147-157.

6. Agyei AD, Runham NW, Blackstock N. Histochemical changes in the midgut of two ixodid tick species *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus appendiculatus* during digestion of blood meal. *Exp Appl Acarol* 1992;13:187-212.
7. Coons LB, Rosell-Davis R, Tarnowski BI. Blood meal digestion in ticks. In: Saver, JR, Hair, JA, editors. *Morphology, physiology and behavioural biology of ticks*. New York: Ellis Horwood/John Wiley, 1986:248-279.
8. Kemp DH, Pearson RD, Gough JM, Willadsen P. Vaccination against *Boophilus microplus*: Localization of antigens on tick gut cells and their interaction with the host immune system. *Exp Appl Acarol* 1989;7:43-58.
9. Núñez JL, Muñoz CM, Moltedo, HL. *Boophilus microplus*. La garrapata del ganado vacuno. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1982.
10. Opdebeeck JP. Vaccines against blood-sucking arthropods. *Vet Parasitol* 1994;54:205-222.
11. Roberts JA. Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). I. Development of ticks of *Bos taurus*. *J Parasitol* 1968;54:663-666.
12. Agyei AD, Herbert IV, Runham NW. Histochemical localization of acid phosphatase and nonspecific esterase in the midguts of two species of tick, *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus appendiculatus*, as determined by light microscopy. *Parasitol Res* 1991;77:629-634.
13. Backer FJ, Silvertone, RE. *Introduction to medical laboratory technology*. London: Butterworths, 1976.
14. Balashov YS. Blood sucking ticks (Ixodoidea) -vectors of diseases of man and animals. *Misc Public Entomol Soc Am* 1972;8:161-376.