

Hemogregarinas en serpientes de Costa Rica

por

E. Moreno* y R. Bolaños*

(Recibido para su publicación el 6 de diciembre de 1976)

Abstract: Thirty-three percent of 216 venomous and non-venomous captive snakes of Costa Rica were parasitized with hemogregarines (Protozoa: Sporozoa). The species most affected were *Lachesis muta*, *Crotalus durissus* and *Boa constrictor* with scores above 50%. None of the arboreal species harbored hemogregarines.

Five morphological blood types were demonstrated and frequently more than one type occurred in a single host.

Lung and liver sections of the parasitized snakes showed cysts similar to those of schyzogonic forms, and sporozoite-like forms were observed in the general cavity of a tick (*Amblyoma dissimile*) from a parasitized snake.

Parasitism and life span were not correlated in snakes kept in captivity.

Las hemogregarinas son parásitos heteroxenos (Levine, 1973), distribuidos ampliamente en el Reino Animal. Posiblemente los seres más afectados sean los reptiles, como parecen indicar los muchos trabajos en donde se describen estos coccidios parasitando tanto la sangre como los órganos internos, con índices elevados de parasitismo (Hull y Camin, 1960; Pessoa, 1967; Stehbens y Johnston, 1968; McKinstry, 1973) y por períodos prolongados (Ball et al., 1967). Por estas razones, Hull y Camin (1960) consideran que juegan un papel importante en la economía de la naturaleza dentro del equilibrio biológico de estos vertebrados.

Por mucho tiempo existió confusión e ignorancia en su taxonomía, así como en el establecimiento del ciclo de vida de cada especie, principalmente debido al hecho que la mayoría de ellas han sido definidas únicamente con base en la morfología de las formas sanguíneas (Dobell, 1908; Sambon y Seligmann, 1908; Redington y Jachowsky, 1971). Hull y Camin (1960) llegan a la conclusión de que es imposible clasificar las diferentes especies de *Hepatozoon* con sólo la morfología de las formas sanguíneas. Igualmente, Pessoa y Biasi llegan a similares conclusiones estudiando tanto los quistes esquizogónicos (1973a) como los esporogónicos (1973b) de diferentes especies de serpientes brasileñas.

En los últimos años se han realizado importantes progresos debido a los adelantos en el campo de la microscopía (Stehbens y Johnston, 1968); como

* Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica. Las separatas deben solicitarse a R. Bolaños.

también al establecimiento *in vitro* de líneas celulares de artrópodos que permiten cultivar estos parásitos y estudiar algunos aspectos de su ciclo de vida (Grace, 1966; Chao y Ball, 1972; Ball y Chao, 1973).

El uso combinado de la morfología, tanto en el huésped vertebrado como en el invertebrado, aspectos de ultraestructura, así como el espectro de infección, podrían, en conjunto, llevarnos a una taxonomía más racional de este grupo.

Es nuestro propósito mostrar en este trabajo la presencia de hemogregarinas en las diferentes especies de serpientes venenosas de Costa Rica y en algunas no venenosas, así como algunos parámetros geográficos y ecológicos de los reptiles parasitados, y el efecto del parasitismo en su promedio de vida en condiciones de cautiverio. Por el momento no pretendemos clasificar taxonómicamente a los parásitos observados, pues la metodología utilizada no lo permite.

Otros parásitos observados, como *Plasmodium* y microfilarias, no serán considerados en este estudio.

MATERIAL Y METODOS

Especímenes: Se incluyó en este estudio 216 ejemplares adultos de serpientes mantenidos en cautiverio en cajas individuales y a una temperatura aproximada de 22-26°C. Fue llevado a cabo un registro cuidadoso de la fecha de ingreso y de muerte de los reptiles de las especies *Bothrops asper*, *Crotalus durissus* y *Lachesis muta*, con el fin de analizar el efecto del parasitismo en su promedio de vida en cautiverio.

También fueron colectadas todas las garrapatas que se encontraron parasitando los diferentes ejemplares objeto de este estudio.

Dos camadas de serpientes recién nacidas, procedentes de ejemplares de *B. asper* parasitados, así como dos de huevos de *L. muta* embrionados en el laboratorio, también fueron incluidos en este trabajo.

Toma de muestras: De cada ejemplar se practicaron extensiones de sangre mediante punción de la cola con una lanceta estéril uno o pocos días después de su arribo al serpentario y se prepararon varias láminas que se colorearon con Giemsa para examinarlas por hemoparásitos.

De algunos ejemplares se obtuvo sangre por punción cardíaca, con el fin de obtener formas vermiculares de los parásitos sanguíneos mediante su liberación de los glóbulos. Para ello la sangre se puso en contacto con una solución de la siguiente fórmula: citrato de sodio 5,0g, ácido cítrico 1,8g, glucosa 10g, agua destilada c.s.p. 100 ml (ACD). La proporción fue de 0,1 ml de la solución por cada mililitro de sangre.

Se hicieron cortes histológicos de órganos procedentes de algunos ejemplares parasitados, así como de los ectoparásitos y se colorearon con hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

En el Cuadro I podemos ver la prevalencia de hemogregarinas en sangre de 16 especies de serpientes comunes en nuestro medio. Los ejemplares utilizados son representantes de prácticamente todas las áreas geográficas en que puede dividirse el país de acuerdo con Tosi (1969).

Solamente una especie venenosa, *Agkistrodon bilineatus*, no fue incluida en el estudio, dada su rareza en nuestro territorio.

Puede observarse una ausencia total de parásitos en nuestras tres especies arborícolas, a pesar de que el número total de ellas, 28 ejemplares, es

suficientemente alto para ser significativo.

No se logró demostrar correlación alguna del parasitismo, cualitativa o cuantitativamente, con el área geográfica de procedencia de las serpientes.

CUADRO 1

Prevalencia de hemogregarinas en 16 especies de serpientes de Costa Rica

Especie	Total de ejemplares examinados	Parasitados	%	No parasitados
<i>Lachesis muta</i>	50	37	74	13
<i>Crotalus durissus</i>	15	9	60	6
<i>Bothrops asper</i>	46	16	35	30
<i>B. picadoi</i>	7	3	43	4
<i>B. nummifer</i>	5	1	20	4
<i>B. godmani</i>	9	1	16	8
<i>B. nasutus</i>	7	0	0	7
<i>B. ophryomegas</i>	4	0	0	4
<i>B. lateralis*</i>	13	0	0	13
<i>B. schlegelii*</i>	11	0	0	11
<i>B. nigroviridis*</i>	4	0	0	4
<i>Micrurus nigrocinctus**</i>	29	1	3,5	28
<i>M. mipartitus**</i>	3	0	0	3
<i>M. alleni**</i>	2	0	0	2
<i>Clelia clelia***</i>	7	2	29	5
<i>Boa constrictor***</i>	4	2	50	2
TOTALES	216	72	33,3	144

* arborícolas

** corales

*** no venenosas

Un elevado porcentaje de las serpientes recién nacidas de *B. asper* estaba parasitado con formas sanguíneas de hemogregarinas. Por el contrario, todos los ejemplares de *L. muta* recién nacidas fueron negativos por hemoparásitos, a pesar de que la madre estaba parasitada.

Con ejemplares de *L. muta*, *C. durissus* y *B. asper*, las pruebas estadísticas de significancia no demostraron ninguna diferencia entre los promedios de vida de serpientes parasitadas o no (Cuadro 2) en cautiverio.

Solamente un pequeño porcentaje de todas las serpientes estudiadas (5,5%) tenía garrapatas, todas de la especie *Amblyoma dissimile*. Todas aquellas garrapatas provenientes de serpientes parasitadas poseían hemogregarinas en su tracto intestinal.

Los parásitos intraeritrocitarios en las nueve especies de serpientes parasitadas se presentaron fundamentalmente en dos tipos morfológicos, encontrándose ambos, casi siempre, en el mismo huésped:

- a) Forma de salchicha, ligeramente curva y de extremos redondeados debido a un doblez sobre sí misma (Fig. 1). Este tipo no deforma notoriamente el eritrocito. Su núcleo es compacto y con frecuencia se desplaza del centro de la célula tanto en sentido longitudinal como transversal y su citoplasma muestra granulaciones discretas. Entre los distintos especímenes examinados la

CUADRO 2

Valores de T y promedios de vida (días) de tres especies de serpientes en cautiverio parasitadas o no con hemogregarinas

Especie	Parasitadas			No parasitadas			Totales		
	No. ejemplares	\bar{x} vida	S	No. ejemplares	\bar{x} vida	S	No. ejemplares	\bar{x} vida	T
<i>L. muta</i>	37	65,8	33,07	13	55,9	27,8	50	63,2	0,73
<i>B. asper</i>	16	70,8	39,4	30	79,6	41,87	46	76,54	0,5
<i>C. durissus</i>	9	54,4	23,3	6	53,2	16,3	15	53,92	0,08

principal diferencia, dentro de este tipo morfológico es el tamaño, sugiriendo diferentes fases de maduración (Hull y Camin, 1960). En la mayoría de los casos el parásito se encuentra encapsulado, principalmente en sus formas adultas. Cuando los eritrocitos parasitados se ponen en contacto con ACD, los parásitos salen mediante movimientos activos, tornándose vermiformes (Fig. 2) y una vez libres se ven reptando. Como Pessoa (1967), les llamaremos formas "hepatozóicas".

- b) Parásito más grande que el anterior, con extremos también redondeados pero sin curvatura y sin repliegue sobre sí mismo (Fig. 3). La cromatina del núcleo se presenta en granulaciones groseras; también el citoplasma es francamente granular. Deforma el eritrocito hipertrofiándolo y llegando a lisar, quedando el núcleo, visiblemente alterado, adherido a la cápsula del parásito. En presencia de ACD no varía en su forma ni emerge de su cápsula. Corresponde a las formas "cariolíticas" de Pessoa (1967). Conjuntamente con este tipo de parásito se observan algunos más pequeños de forma globosa, con un núcleo compuesto por algunos granos separados de cromatina, que parecieran indicar una forma joven, ya que el eritrocito aún se encuentra intacto (Fig. 4).

Las formas "hepatozóicas" predominan sobre las "cariolíticas" en todos los ejemplares revisados excepto algunos de *L. muta*, en donde las formas "cariolíticas" se encontraban en mucho mayor cantidad.

Un ejemplar de *L. muta* mostró formas semejantes a las "hepatozóicas", a las "cariolíticas" (en mayor proporción), y un tercer tipo, con el núcleo fragmentado, ocupando gran parte del citoplasma (Fig. 5). Esta última forma no la hemos observado en ninguna de las publicaciones que hemos tenido oportunidad de revisar.

Por último, en el único ejemplar de *Micrurus* parasitado, todas las formas sanguíneas eran del tipo "hepatozóico" pero con un núcleo central que ocupaba todo el ancho de la célula y uno de sus extremos más abultado que el otro (Fig. 6). Esta forma la hemos observado frecuentemente en *Bothrops*. Este tipo morfológico también ha sido observado por Pessoa en algunos *Bothrops* y en serpientes no venenosas, como se desprende de las fotografías publicadas (Pessoa *et al.*, 1974).

En todos los cortes histológicos de *Lachesis* y *B. asper* se observaron quistes semejantes a esquizontes, tanto en hígado como en pulmón, con merozoitos colocados en forma característica, que varían en número según el tamaño del quiste (Fig. 7).

Tanto en los cortes histológicos de garrapatas provenientes de serpientes parasitadas, como en los frotis por aposición, se encontraron formas "hepatozóicas" y "cariolíticas" en el lumen del tracto digestivo; dentro de las primeras, algunos parásitos presentan su morfología vermiforme, otros permanecen en su cápsula.

En la Figura 8, correspondiente a un corte histológico de una garrapata procedente de *L. muta*, se puede observar una zona circular bien definida, correspondiente a la ampolla rectal, llena de parásitos ya liberados de los eritrocitos.

En una sola garrapata, procedente de un ejemplar de *B. asper* parasitado, pudimos observar, en la cavidad general, grupos de 4, 8 o más parásitos fusiformes, que se colocan paralelamente, formando un racimo (Fig. 9). Ninguna de las demás garrapatas examinadas mostró este tipo de estructura.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El parasitismo por hemogregarinas es sumamente alto (32%) en el total de

especies comprendidas en este estudio; sin embargo, existe una considerable diferencia entre distintas especies, aún entre las procedentes de una misma área geográfica. La total ausencia de hemogregarinas en las tres especies de serpientes arborícolas (*B. schlegelii*, *B. lateralis* y *B. nigroviridis*) contrasta con el alto grado de parasitismo en serpientes terrestres colectadas en una región similar (*B. asper*, *B. picadoi* y *B. godmani*). Este hecho hace pensar en una diferente susceptibilidad al parásito o al vector, o que este último, por ser terrestre, no sea capaz de parasitar frecuentemente serpientes de hábitos arborícolas. Pessoa y sus colaboradores (1974) encontraron una situación similar en *B. insularis*, serpiente también de hábitos arborícolas restringida a la isla Queimada Grande do Sao Paulo, Brasil. Tampoco estos autores encontraron hemoparásitos en 21 especímenes de *Micrurus*. Un solo ejemplar parasitado en nuestra serie demuestra que el parasitismo existe, sin embargo es sumamente bajo. Ya en 1899 Langman (citado por Dobell, 1908) había encontrado hemogregarinas en este género.

En este estudio se pudo observar que una sola especie de garrapata, *Amblyoma dissimile*, es la que parasita nuestras serpientes, independientemente de la especie y localización geográfica. Todos los ejemplares de *A. dissimile*, provenientes de serpientes parasitadas, fueron encontrados con hemogregarinas en el tracto digestivo; una de ellas tenía formas típicas de la esporogonía de hemogregarinas similares a las descritas por Pessoa y sus colaboradores (1970) en sanguijuelas y Redington y Jachowsky (1971) en ácaros.

En algunas especies de serpientes terrestres procedentes de zonas altas (*B. godmani* y *B. picadoi*) nunca hemos observado parasitismo alguno por garrapatas; sin embargo, algunas de ellas presentaron hemogregarinas. Esto nos lleva a pensar que la garrapata puede estar implicada como uno de los vectores, pero son otros, como *Culex*, *Anopheles* o *Aedes* (Ball et al., 1967), sanguijuelas (Pessoa et al., 1970) o ácaros (Redington y Jachowsky, 1971) los responsables por la transmisión en otras circunstancias.

Quedó demostrado también que estos parásitos no juegan un papel importante en el alto grado de mortalidad que se observa en serpientes en cautiverio, por lo menos, durante su corto período de vida en el serpentario.

Debido a las características que muestran las formas intraeritrocitarias encontradas en las diferentes especies de serpientes, así como aquellas presentes en los cortes de órganos y en los de garrapatas, creemos que podemos situarlos en la familia Haemogregarinidae, género *Hepatozoon*, pues su morfología, número de merozoitos y cápsula, corresponden a descripciones hechas por varios autores (Ball, 1958; Ball et al., 1967; Pessoa, 1967; Pessoa et al., 1974; Stehbens y Johnston, 1968); sin embargo, nos es imposible clasificarlos en alguna especie previamente descrita puesto que las formas sanguíneas no pueden constituir el único criterio de clasificación, debiéndose conocer el ciclo de vida completo (Ball et al., 1967; Pessoa, 1967).

Las cuatro formas sanguíneas de hemogregarinas reconocidas en este estudio presentan características bien definidas que las distinguen claramente, pudiendo ser indicadores de una evolución diferente de sus huéspedes, como ha sido postulado por Ayala (1973) y Ayala y Hutchings (1974). Así, las formas "hepatozóicas" predominan en *Bothrops* y *Crotalus* de Costa Rica, como también en especies de estos mismos géneros en Brasil (Pessoa et al., 1974).

También lo son las que hemos hallado en *Micrurus*, aunque con ligeras diferencias morfológicas. Por otro lado, las formas "cariolíticas" son más frecuentes en *Lachesis*, a las cuales se les adiciona un tipo morfológico un tanto diferente que hemos encontrado por primera vez en nuestras serpientes. Todo lo anterior

pareciera indicar, al menos, tres o cuatro especies de hemogregarinas, correspondientes a las diferentes líneas evolutivas de nuestros reptiles. Sin embargo, varios investigadores han demostrado la existencia de variaciones en el tamaño y forma de estos hemoparásitos aún tratándose de una misma especie (Ball, 1958; Hull y Carmin 1960) y la posibilidad de que una misma especie parasite dos huéspedes diferentes (Ball *et al.*, 1967; Chao y Ball, 1969). Por otro lado, Pessoa (1970) ha postulado un posible parasitismo doble en una serpiente que presenta dos diferentes formas: "hepatozóicas" y "cariolíticas", infectando con ellas dos diferentes huéspedes invertebrados.

Nuestro hallazgo de parasitismo congénito en serpientes ovovivíparas recién nacidas (*B. asper*) confirma observaciones de Biasi y sus colaboradores (1972). Creemos de interés señalar, como base para estudios posteriores, la ausencia de parasitismo congénito en la ovípara *L. muta*.

AGRADECIMIENTOS

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a Guillermo Flores Badilla, Alvaro Flores Badilla, Hilda Herrera de Solera, Elsa Portilla, Dr. Mario Vargas, Lic. Luis Fernando Jirón y Lic. Luis Cerdas, quienes colaboraron en alguna de las etapas de este estudio. El trabajo fue financiado por la Universidad de Costa Rica y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica, Solicitud No. 005.

RESUMEN

En esta investigación parasitológica fueron estudiados 216 ejemplares de las serpientes venenosas de Costa Rica y algunas no venenosas, demostrándose un parasitismo total por hemogregarinas del 33%. Las especies más afectadas fueron *Lachesis muta*, *Crotalus durissus* y la no venenosa *Boa constrictor* con porcentajes superiores a 50%.

Fueron demostrados cinco tipos morfológicos en sangre, siendo frecuente encontrar más de uno en la misma serpiente.

Ninguna de las serpientes de hábitos arborícolas tenía hemogregarinas.

En cortes de pulmón e hígado de serpientes parasitadas fueron demostrados quistes similares a formas esquizogónicas y en una garrapata (*Amblyoma dissimile*) procedente de una serpiente parasitada, se observaron formas similares a esporozoitos en la cavidad general.

El parasitismo no mostró efecto alguno sobre el tiempo de vida de las serpientes en cautiverio en el serpentario.

REFERENCIAS

Ayala, S.

1973. Hemoprotozoa as zoogeographical tracers. 53rd. Annual Meeting, American Society of Ichthyologists and Herpetologists. San José, Costa Rica Junio 24-30. Abstracts.

Ayala, S. C., & R. Hutchings

1974. Hemogregarines (Protozoa: Sporozoa) as zoogeographical tracers of Galapagos Island lava lizards and marine iguanas. *Herpetologica*, 30: 128-132.

Ball, G. H.

1958. A haemogregarine from the water snake, *Natrix piscator*, taken in the vicinity of Bombay, India. *J. Protozool.*, 5: 274-281.

Ball, G. H., & J. Chao

1973. The complete development of the sporogonous stages of *Hepatozoon rarefaciens* cultured in a *Culex pipiens* cell line. *J. Parasitol.*, 159: 513-515.

Ball, G. H., J. Chao, & S.R. Telford

1967. The life history of *Hepatozoon rarefaciens* (Sambon and Seligmann, 1907) from *Drymarchon corais* (Colubridae) and its experimental transfer to *Constrictor constrictor* (Boidae). *J. Parasitol.*, 53: 897-909.

Biasi, F., S. B. Pessoa, & H. E. Belluomini

1972. Novas observações sobre transmissão congênita de hematozoários de serpentes peçonhentas vivíparas. *Mem. Inst. Butantan*, 36: 245-249.

Chao, J., & G. H. Ball

1969. Transfer of *Hepatozoon rarefaciens* (Sambon and Seligmann, 1907) from the Indigo snake to a Gopher snake by a mosquito vector. *J. Parasitol.*, 55: 681-682.

Chao J., & G. H. Ball

1972. *In vitro* culture of the vector phase of snake hemogregarines in mosquito cell lines. *J. Parasitol.*, 58: 148-152.

Dobell, C. C.

1908. Some notes on the haemogregarines parasitic in snakes. *Parasitology*, 1: 288-295.

Grace, T. D. C.

1966. Establishment of line of mosquito (*Aedes aegypti* L.) cells grown *in vitro*. *Nature*, 211: 366-367.

Hull, R. W., & J. H. Camin

1960. Haemogregarines in snakes: The incidence and identity of the erythrocytic stages. *J. Parasitol.*, 46: 515-523.

Levine, D. N.

1973. *Protozoan parasites of domestic animals and of man*. Minneapolis, Minnesota. Burgess Publishing Company. 2d ed.

McKinstry, D. M.

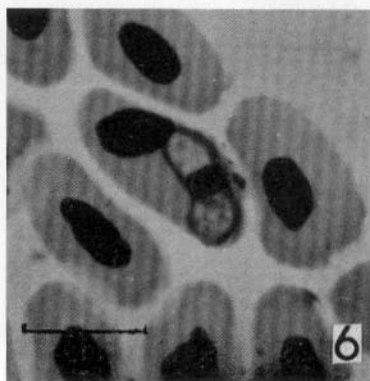
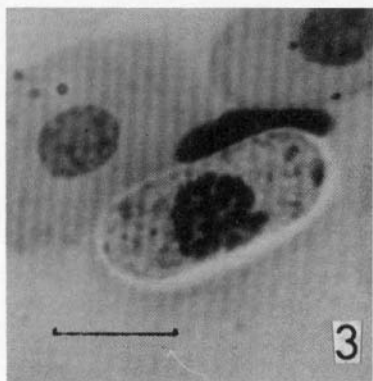
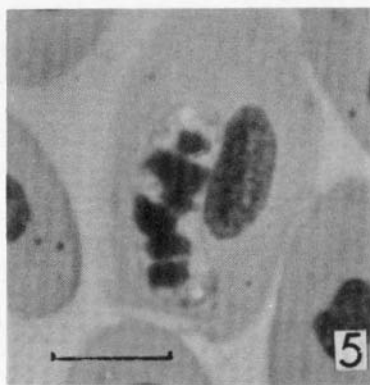
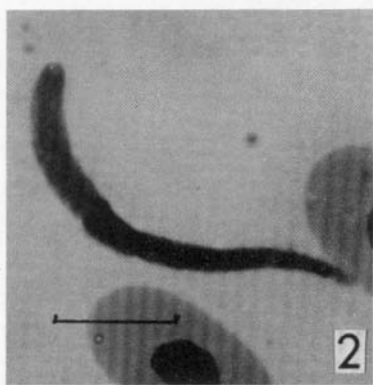
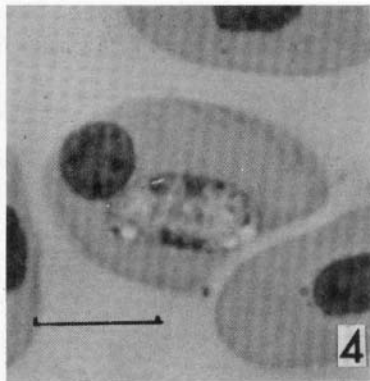
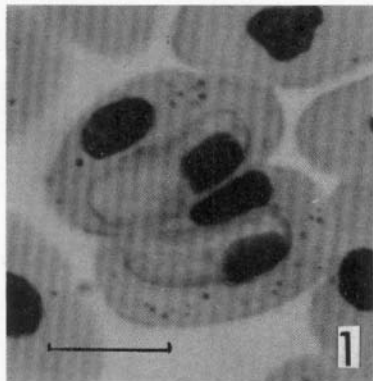
1973. Blood parasites in snakes of Northwestern Pennsylvania. *J. Parasitol.*, 59: 343.

Pessoa, S. B.

1967. Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. I: Hemogregarinas de algumas espécies de serpentes da família Colubridae. *Rev. Brasil. Biol.*, 27: 33-46.

Pessoa, S. B., & P. Biasi

1973a. Considerações taxonômicas sobre cistos esquizogônicos e sobre gametócitos de *Hepatozoon* (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasitas de serpentes brasileiras. *Mem. Inst. Butantan*, 37: 291-298.



Pessoa, S. B., & P. Biasi

1973b. Nota taxonômica sôbre cistos esporogônicos de algumas espécies de *Hepatozoon* (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasitas de serpentes brasileiras. *Mem. Inst. Butantan*, 37: 299-307.

Pessoa, S. B., P. Biasi, & G. Puerto

1974. Notas sôbre a freqüência de hemoparasitas en serpentes do Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, 38: 69-118.

Pessoa, S. B., S. Paulo, L. Sacchetta, & J. Cavalheiro

1970. Notas sôbre Haemogregarinas de serpentes brasileiras. X. Haemogregarinas da *Hydrodynastes gigas* (Dumeril et Bibron) e sua evoluçao. *Rev. Latinoamer. Microbiol.*, 12: 197-200.

Redington, B. C., & L. A. Jachowski, Jr.

1971. Syngamy and sporogony of *Hepatozoon griseisciuri* Clark, 1958 (Sporozoa: Haemogregarinidae), in its natural vector, *Haemogamasus reidi* Ewing, 1925 (Acari: Mesostigmata). *J. Parasitol.*, 57: 953-960.

Sambon, L. W., & C. G. Seligmann

1908. The haemogregarines of snakes. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1: 355-358.

Stehbens, W. E., & M. R. L. Johnston

1968. Cystic bodies and schizontes associated with a haemogregarine (Sporozoa) parasitic in *Gehyaa variegata* (Reptilia, Gekkonidae). *J. Parasitol.*, 54: 1151-1165.

Tosi, J. A., Jr.

1969. *Mapa Ecológico. República de Costa Rica*. Instituto Geográfico Nacional. San José. C. R.

Fig. 7. Quiste esquizogónico en pulmón de *L. muta* parasitada. (Escala 10 μm).

Fig. 8. Tracto intestinal de *A. dissimile* procedente de *B. asper* parasitada por hemogregarinas. (Escala 10 μm).

8 A. Ampolla rectal (10 X)

8 B. Idem (1.000 X)

Fig. 9. Esporogonía en la cavidad general de *A. dissimile* procedente de una serpiente parasitada por hemogregarinas. (Escala 10 μm).

