

# Efectos locales de las secreciones externas de *Sphaerobothria hoffmanni* (Araneae: Theraphosidae) de Costa Rica

Marco V. Herrero

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Centro Universitario del Atlántico, Universidad de Costa Rica. Dirección actual: Department of Entomology, Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma, 74078, U.S.A.

(Recibido para su publicación el 13 de marzo de 1984)

**Abstract:** The local effects induced as a consequence of applications of four external secretions from the spider *Sphaerobothria hoffmanni* were recorded. Macroscopic lesions were not found; the only local effect microscopically observed was a weak necrosis in the skeletal muscle in mice.

*Sphaerobothria hoffmanni* es una araña terofóida que habita túneles en áreas expuestas, agrícolas y pastoriles, en el Valle Central de Costa Rica. Por muchos años ha sido creencia popular que este tipo de arañas "pica-caballo" produce lesiones locales en ganado equino, bovino y porcino que han sido llamadas por el campesino costarricense "orinada de araña" (Valerio, 1980). Mansilla (1973) informó que era posible reproducir experimentalmente la denominada "meada u orinada de araña", en caballo, a partir del veneno de *S. hoffmanni* en Guatemala (Mansilla, 1973).

En Costa Rica, ha sido posible aislar el virus de la *Estomatitis vesicular* de las lesiones que el campesino denomina "orinada de araña" (Barreto, 1977). La transmisión de este virus ha estado asociada a dípteros (Ferris, *et al.*, 1955) y más recientemente al género *Lutzomyia* (Tesh *et al.*, 1974); sin embargo Barreto (1977), propuso: "...dilucidar la participación de arañas o sus secreciones en el ciclo de la enfermedad como irritantes que faciliten la penetración del virus de la *Estomatitis vesicular* que es el agente etiológico de la orinada de araña en Costa Rica". En el presente trabajo se estudiaron los efectos locales de las secreciones externas de *S. hoffmanni* en ratón y en caballo para dilucidar estos aspectos.

## MATERIAL Y METODOS

Se colectaron 68 ejemplares de la especie *Sphaerobothria hoffmanni* durante los meses

de abril y mayo de 1979 y enero de 1980, en Tres Ríos (Cartago, Costa Rica), mediante disección de los túneles en que viven. Todos eran hembras en diferentes estadios de desarrollo y se les mantuvo en el laboratorio en recipientes plásticos, con un suministro regular de agua y alimento.

El veneno se colectó en tubos capilares mediante estimulación eléctrica de los segmentos basales de los quelíceros (Grothaus y Howell, 1967). Durante la operación las arañas expulsaron con frecuencia secreciones digestivas externas, que se colectaron de igual manera. Ambas sustancias se liofilizaron y se almacenaron a -70 °C hasta su uso. Durante todo el procedimiento se tomaron cuidados especiales para evitar la contaminación del veneno con secreciones digestivas externas y viceversa. Las heces y la orina se obtuvieron de seis ejemplares aplicando presión con una pinza roma en la parte posterior ventral del abdomen (cerca del ano) y se colectaron para su uso inmediato.

Los animales experimentales fueron ratón blanco y caballo.

Para estudiar los efectos inducidos por las secreciones digestivas externas en ratones blancos se efectuaron tres tipos de experimentos:

- a) Aplicación tópica sobre piel intacta: tres ratones fueron rasurados en la región abdominal y se les aplicó tópicamente 30  $\mu$ l de secreción digestiva externa con una pipeta.
- b) Aplicación tópica sobre piel escoriada:

después de ser rasurados, tres ratones fueron escoriados en la región abdominal con una navajilla; inmediatamente se les aplicó 30  $\mu$ l de secreción digestiva externa en idénticas circunstancias al experimento anterior.

c) Inoculación intradérmica: tres ratones fueron rasurados en la región abdominal e inmediatamente se les inoculó 0,1 ml de una solución de secreción digestiva externa (2 mg/ml).

En los tres tipos de experimento los ratones fueron observados 24 horas después para determinar la presencia de lesiones macroscópicas. Los experimentos control fueron efectuados aplicando solución salina en las mismas condiciones experimentales.

**Necrosis:** Tres ratones fueron inoculados subcutáneamente con 200  $\mu$ g de veneno. A las 24 horas fueron sacrificados mediante inhalación de cloroformo y se determinó la presencia de lesiones macroscópicas. Como experimento control tres ratones fueron inoculados con solución salina.

**Edema:** Se utilizó la técnica de Yamakawa *et al.* (1976). Tres ratones fueron inoculados con 200  $\mu$ g de veneno (disuelto en 30  $\mu$ l de solución salina) en la región plantar de la pata trasera izquierda y con 30  $\mu$ l de solución en la pata derecha. A las 24 horas los ratones se sacrificaron y sus patas fueron cortadas a la altura de la articulación proximal. Las patas se pesaron en balanza analítica y el edema se calculó como el porcentaje de aumento de peso de la pata inoculada.

**Hemorragia:** Se utilizó la técnica de Kondo *et al.* (1960). Tres ratones previamente rasurados fueron inoculados intradérmicamente en la región abdominal con 100  $\mu$ g de veneno disuelto en 0,1 ml de solución salina. A las 24 horas fueron sacrificados y la piel fue removida con el objeto de observar la presencia de hemorragia en su parte visceral. Como experimento control se inoculó 0,1 ml de solución salina a tres ratones en idénticas condiciones experimentales.

**Mionecrosis:** La actividad mionecrótica fue evaluada histológicamente. Tres ratones fueron inoculados intramuscularmente, en el muslo derecho, con 60  $\mu$ g de veneno disuelto

en 0,1 ml de solución salina. A las 24 horas fueron sacrificados y se tomó una muestra de músculo, que fue inmediatamente fijada en formalina al 10%

El tejido se procesó rutinariamente y se tiñó con hematoxilina-eosina. El músculo de la pata izquierda se utilizó como control.

Para evaluar los efectos de las secreciones externas y de las heces y la orina se hicieron los siguientes experimentos en caballos.

Se aplicó tópicamente la cantidad de secreción digestiva externa expulsada por una araña en la parte interna del labio de un caballo. Este experimento se efectuó dos veces.

Se aplicó 1 mg de secreción digestiva externa (disuelta en 0,5 ml de solución salina) sobre piel escoriada en las patas de dos caballos, en la región inmediatamente superior al casco. Para evitar la pérdida de la solución, se la aplicó por medio de un algodón y los caballos fueron vendados en el sitio de aplicación.

Se preparó una mezcla de heces y orina y se aplicó sobre piel escoriada de caballo, en el mismo sitio y en iguales condiciones.

En los tres tipos de experimentos los animales fueron observados cuidadosamente por un período de 48 horas.

**Efectos inducidos por el veneno:** Una araña fue colocada sobre los belfos de un caballo y se le indujo a morder mediante estimulación eléctrica de la parte ventral del abdomen. Este experimento se realizó por duplicado. Para asegurarse que los caballos fueran realmente inoculados con veneno, se realizó un experimento adicional en el que 200  $\mu$ g de veneno se inyectaron intramuscularmente en los belfos de un caballo; este experimento también se realizó por duplicado.

En ambos tipos de experimento los animales fueron observados detenidamente durante 48 horas con el objeto de apreciar el desarrollo de lesiones macroscópicas.

## RESULTADOS

El único efecto producido por el veneno fue una leve necrosis del músculo esquelético en ratón. Esta actividad fue observada sólo microscópicamente ya que el veneno no induce alteraciones macroscópicas. Histológicamente se observó

un infiltrado inflamatorio alrededor de las fibras musculares necróticas, constituido principalmente por leucocitos polimorfonucleares neutrófilos. El veneno no produjo hemorragia ni otras alteraciones vasculares observables macroscópicamente. No se observó ninguna alteración local en los caballos.

En cuanto a las secreciones digestivas externas, las heces y la orina, no se observó ningún efecto macroscópico 24 horas después de la aplicación tópica e inoculación intradérmica en ratones. Por otra parte, la aplicación tópica de secreciones digestivas externas en mucosa bucal de caballo y en la parte inferior del casco no produjo lesiones apreciables a simple vista. Tampoco se observó ningún tipo de lesión a consecuencia de la aplicación dérmica de una mezcla de heces y orina en la parte superior del casco, inclusive cuando la piel había sido escoriada.

## DISCUSION

Las hembras de la especie *S. hoffmanni* tienen cuatro secreciones externas que podrían relacionarse con la denominada "orinada de araña" a saber: secreción digestiva externa (regurgitada por el orificio bucal durante la extracción del veneno), heces, orina y veneno. Sin embargo, ninguna de las pruebas demostró que estas secreciones puedan identificarse con la afección, y, al menos bajo las condiciones de nuestros experimentos no se observó ningún agente etiológico que produjera sintomatología similar. Las diferencias entre los hallazgos de Mansilla (1973) y los nuestros pueden ser una consecuencia de la metodología empleada o en las dosis de veneno utilizadas. Nuestras dosis fueron ajustadas en concordancia con los datos de productividad obtenidos para esta especie en nuestro laboratorio.

La transmisión mecánica experimental de la *Estomatitis vesicular* ha sido demostrada utilizando varias especies de dípteros como vectores. El serotipo Nueva Jersey se ha transmitido, experimentalmente, con éxito por seis especies de *Tabanus* (Tabanidae), tres especies de *Chrysops* (Tabanidae), dos especies de *Aedes* (Culicidae) y una especie de *Culex* (Culicidae) de huevos embrionados de gallina infectados a huevos embrionados sanos (Ferris *et al.*, 1955). El serotipo Indiana se transmitió en el laboratorio de pequeños mamíferos infectados a huevos embrionados sanos, utilizando como vecto-

res a dos especies del género *Lutzomia* (Psychoididae; Tesh *et al.*, 1971; 1972). De dos especies de este último género fue posible aislar el virus de *Estomatitis vesicular* del serotipo Indiana a partir de mosquitos colectados en dos localidades panameñas (Tesh *et al.*, 1974).

En Costa Rica, la transmisión del virus de la *Estomatitis vesicular*, serotipos Nueva Jersey e Indiana, ha sido mal documentada, existiendo la necesidad de obtener nuevos datos sobre sus posibles vectores para el ganado vacuno y caballar. También es necesario explicar aproximadamente un 40% de los casos en que no ha sido posible identificar la presencia del virus en la llamada "orinada de araña" (Barreto, 1977).

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al personal del Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica, por sus valiosas sugerencias durante la realización de este trabajo, en especial al Dr. José María Gutiérrez, a la Dra. Olga Arroyo y al Dr. Róger Bolaños por su efectivo asesoramiento técnico. La revisión crítica del manuscrito fue realizada por el Dr. José María Gutiérrez y el Dr. Carlos E. Valerio.

## RESUMEN

En un estudio de los efectos locales inducidos como una consecuencia de aplicaciones de cuatro secreciones externas obtenidas de *Sphaerobothria hoffmanni* no fueron encontradas lesiones macroscópicas. El único efecto local microscópicamente demostrado fue una leve necrosis del músculo esquelético de ratón causada por el veneno.

## REFERENCIAS

- Barreto, C. B. 1977. Diagnóstico particular de la Estomatitis en bovinos de la República de Costa Rica. Programa regional de prevención de enfermedades exóticas. O.I.R.S.A. 71 p.
- Ferris, D. H., R. P. Hanson, & R. J. Roberts. 1955. Experimental transmission of vesicular stomatitis virus by diptera. *J. Infect. Dis.*, 96: 184-192.

- Grothaus, P. H. & D. E. Howell. 1967. A new technique for the recovery of spider venoms. *J. Kansas Ent. Soc.*, 40: 37-41.
- Kondo, H., S. Kondo, L. Ibczawa, R. Murata, & A. Onsaka. 1960. Studies of the quantitative method for the determination of hemorrhagic activity of Habu snake venom. *Japan J. Med. Sci. Biol.*, 13: 43.
- Mansilla, N. F. 1973. Efecto del veneno de la araña *Sphaerobothria hoffmanni* sobre el pie de equino. Tesis para optar al grado de Licenciado, Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Tesh, R. B., B. R. Chaniotis, & K. M. Johnson. 1971. Vesicular stomatitis virus, Indiana serotype: multiplication in and transmission by experimentally infected phlebotomine sandflies (*Lutzomia trapidoi*) *Amer. J. Epidemiol.*, 93: 491-495.
- Tesh, R. B., B. N. Chaniotis, & K. M. Johnson. 1972. Vesicular stomatitis virus (Indiana: Serotype): Transovarial transmission by phlebotomine sandflies. *Science*, 1975: 1477-1478.
- Tesh, R. B., B. N. Chaniotis, P. H. Peralta, & K. M. Johnson. 1974. Ecology of viruses isolated from Panamanian phlebotomine sandflies. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 23: 258-269.
- Valerio, C. E. 1980. Arañas terafósidas de Costa Rica (Araneae: Theraphosidae). III. *Sphaerobothria*, *Aphonopelma*, *Pterinopelma*, *Citharacanthus*, *Crypsidromua* y *Stichoplastus*. *Rcv. Biol. Trop.*, 28: 271-296.
- Yamakawa, M., M. Nozaki, & Z. I. Hokama. 1976. Fractionation of Sakishima-Habu (*Tremeresurus elegans*) venom and lethal, hemorrhagic and edema-forming activities of the fractions. p. 97-109. *In* A. Ohsaka, K. Hayashi, & Y. Sawai, (eds.). *Animal, Plant and Microbial Toxins*. Plenum Press, New York.