

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOMÉDICAS
DR. JOSÉ JUAQUÍN IZQUIERDO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

Control inmunológico de artrópodos hematófagos: ¿ Opción hipotética ?

Alberto Gómez-Priego*, Marco Antonio Becerril Flores**, Ma. Teresa Ruenes-Meza*

*Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, **Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

(Recibido, enero 12, 1995; aceptado, julio 3, de 1995)

Los artrópodos son los representantes del reino animal con mayor número de especies y los mejor adaptados a todos los ecosistemas de la tierra desde los tiempos prehistóricos¹. En los artrópodos que tienen importancia médica, algunos de esos procesos adaptativos se ilustran con la complejidad de sus ciclos de vida, la diversidad de sus fuentes alimenticias, forma y tiempo de alimentarse y otros. Así, hay algunos artrópodos que alternan la ingesta de jugos vegetales con la de sangre de vertebrados; otros pasan mucho tiempo sobre su hospedero para alimentarse (pulgas, piojos, garrapatas) y otros lo hacen en períodos muy cortos (mosquitos, papalotillas); algunos toman la sangre directamente de los vasos sanguíneos, mientras que otros lo hacen indirectamente de "pozos" practicadas *ad hoc* en la piel del hospedero. Además, también existen diferencias adaptativas en la cantidad de sangre que ingieren, tanto en relación con el volumen en sí, como con la proporción con su propio peso y tamaño.

Durante la hematofagia son capaces de adquirir y/o de transmitir agentes patógenos², de ahí su importancia en medicina humana y veterinaria. Son diversas las enfermedades cuyos agentes causales son transmitidos por artrópodos y muchas de ellas continúan siendo un problema de salud pública a nivel mundial. El dengue, la fiebre amarilla, las leishmoniosis, las tripanosomiasis, la malaria, la babesiosis, las filariosis, etcétera, son algunos ejemplos representativos.

Desde mediados de este siglo, estas enfermedades se han combatido mediante campañas de lucha contra los transmisores usando básicamente plaguicidas, sobre todo DDT³. En algunas regiones donde se aplicaron

insecticidas, varias de estas enfermedades desaparecieron; sin embargo, en la mayoría no fue así. El incremento en el uso del DDT para el combate de transmisores, así como para controlar plagas agrícolas, generó resistencia de los artrópodos a los insecticidas y también contribuyó a los graves problemas de contaminación ambiental que actualmente padecemos³.

Por estas razones, en los últimos años se han explorado procedimientos alternos de lucha contra los transmisores, tales como el control biológico de vectores*, el cual, por utilizar enemigos naturales que infectan, depredan o matan a una o varias de las fases de desarrollo de los artrópodos transmisores, resulta muy selectivo para las especies blanco y con nulos efectos de contaminación de los ecosistemas⁴. Sin embargo, todavía tienen que superarse numerosas dificultades técnicas para que su aplicación sea práctica. Es conveniente mencionar que el objetivo último de todas las medidas de control, es el abatimiento de las poblaciones de vectores a niveles tan críticamente bajos que la transmisión de patógenos y por ende, la incidencia y prevalencia de las enfermedades que transmiten, descienda a niveles fácilmente controlable⁵ por otros procedimientos complementarios³.

Aunque la idea no es nueva, en los últimos años se han acumulado evidencias que sugieren que los efectores de la respuesta inmunológica (anticuerpos y células linfoides del tipo monocitos y polimorfonucleares) de los animales vertebrados que sirven como fuente de alimento para los artrópodos hematófagos, actúan de manera sutil, pero en algunos casos muy evidente, sobre uno o varios de los aspectos

* Debido a que en la literatura sobre el tema, el vocablo "vector" se usa con frecuencia como sinónimo de transmisor, en este trabajo se usarán indistintamente ambos términos para referirse al (los) artrópodo(s) que transmite(n) agentes patógenos al hombre o animales.

de la bionomía de estos últimos, por ejemplo en la longevidad de las ninfas o adultos, en sus hábitos de alimentación o en la cantidad y viabilidad de los huevos producidos por las hembras, abriendo así la posibilidad de realizar un eventual control inmunológico de artrópodos a través de vacunas⁵.

Con base en lo anterior, y con la idea de contribuir, por un lado, a la difusión de los conocimientos disponibles para emplear la respuesta inmunológica para el control de artrópodos, y por otro, a impulsar este tipo de investigaciones en nuestro país, en este trabajo se describen algunas evidencias que permiten pensar que la posibilidad de usar la respuesta inmune del hospedero para un control inmunológico de artrópodos hematófagos, es más que una hipótesis o un ejercicio académico.

Interacciones artrópodo-vertebrado.

Biológicamente hablando, las relaciones interespecíficas que se establecen entre los artrópodos hematófagos y sus hospederos vertebrados, son estrictamente tróficas, las que pueden analizarse al menos desde tres puntos de vista: a) nutrición del artrópodo; b) transmisión de agentes patógenos; y c) daño del patógeno al artrópodo que lo transmite.

Nutrición del artrópodo. La hematofagia en los artrópodos tiene como finalidad básica la ingesta de nutrientes para satisfacer sus necesidades metabólicas y fisiológicas, entre estas últimas, destacan la muda (cambio del exoesqueleto para pasar al siguiente estadio de desarrollo) y en el caso de las hembras, la ovogénesis y desarrollo ulterior de los huevos. Esta relación trófica conlleva a un ectoparasitismo o comensalismo temporal o permanente que depende del tiempo que el artrópodo ocupe en esta relación². En consecuencia, el artrópodo resulta beneficiado mientras que el vertebrado muy excepcionalmente se ve perjudicado en términos de pérdida de sangre. Sin embargo, algunos efectos secundarios a la picadura del artrópodo, pueden tener mayor relevancia. Por ejemplo, las dermatitis o dermatosis producidas por picadura de artrópodo, si bien son apenas molestas para la mayoría de los hospederos, en algunos resultan más severas, como las reacciones alérgicas consecutivas a la picadura de insectos^{6,7}.

Transmisión de agentes patógenos. Analizada desde esta perspectiva, la relación trófica se entiende como la transferencia de patógenos de un hospedero infectado a otro susceptible por un artrópodo hematófago, la cual se realiza durante el proceso de

alimentación de este último. También hay que considerar que en el artrópodo, los parásitos pueden multiplicarse, sufrir transformaciones morfofisiológicas o ambas, antes de instalarse en el hospedero susceptible. La importancia de la relación trófica en este contexto, se subraya en la prioridad que la Organización Mundial de la Salud (OMS) otorga al estudio de dichas enfermedades. En efecto, la OMS, en su Programa Especial de Adiestramiento e Investigación en Enfermedades Tropicales, considera seis enfermedades como blanco de sus actividades: Las filariosis, incluyendo oncocercosis, las tripanosomosis, la malaria, las leishmaniosis, la esquistosomosis y la lepra, siendo las cuatro primeras transmitidas por artrópodos.

Daño al artrópodo por los patógenos. Cuando el artrópodo hematófago se infecta con parásitos, puede a su vez enfermar e incluso morir como resultado de la infección. Por ejemplo, la hematofagia de las pulgas del género *Xenopsylla* spp. con sangre de rata o de humano contaminada por la bacteria *Yersinia pestis*, la alimentación del díptero *Lutzomyia* spp. por el protozooario *Leishmania* spp., resulta en una abundante multiplicación del parásito en el intestino medio o anterior de estos insectos y esto a su vez, causar una obstrucción mecánica de la luz intestinal⁸. Cuando el insecto ya infectado intenta alimentarse nuevamente, la obstrucción parasitaria puede bloquear parcial o totalmente el paso de la sangre hacia el resto del aparato digestivo, haciendo que la alimentación sea incompleta. A la larga, esto lleva al insecto a la muerte por inanición, pero en el corto plazo, los convierte en excelentes vectores, ya que al no poder satisfacer su apetito en un primer intento, insisten varias veces más en sitios alternos o buscan otro hospedero, multiplicando su eficiencia como transmisores.

También la presencia de otros parásitos, por ejemplo, *Dirofilaria immitis*, la filaria del corazón del perro, logra afectar a sus mosquitos transmisores *Aedes* spp. y *Anopheles* spp. incrementando o disminuyendo la diuresis después de su alimentación, interfiriendo por tanto en el metabolismo energético a través de alteraciones en la concentración de iones Na^{+9} .

Respuesta inmune del hospedero

Sensibilización del hospedero. Para alimentarse, el artrópodo hematófago necesita introducir en el hospedero sus estructuras bucales ayudado por la saliva y otras secreciones orales. En estas secreciones

se han identificado diversas sustancias, tales como anticoagulantes, anestésicos, aminas vasoactivas, hemolisinas, enzimas proteolíticas, toxinas, sustancias de naturaleza irritante y necrotizante, prostaglandinas y otros péptidos de bajo peso molecular, cuya función primordial como secreción bucal, es facilitar la ingesta de sangre^{10,11}. Algunas moléculas funcionando como haptenos, y otras como verdaderos inmunógenos, logran inducir la respuesta inmune del hospedero. La rama humoral de esta respuesta, inducida en forma natural, se ha identificado en varios hospederos de insectos vectores como la mosca tsetse *Glossina morsitans*, la pulga de la rata *Xenopsylla cheopis*, la chinche holicona *Rhodnius prolixus* y, además, en arácnidos ectoparásitos como el ácaro de los conejos *Psoroptes cuniculi*, el del polvo de las casas *Dermatophagoides farinae*, la garrapata *Dermacentor andersoni* y otras especies de garrapatas que transmiten rickettsias^{6, 11-20}. Por pruebas cutáneas se han identificado anticuerpos homocitotrópicos y heterocitotrópicos. En experimentos *in vitro*, se ha demostrado que algunos anticuerpos son precipitantes y en estudios más específicos, que pertenecen a la subclase IgG1. En la mayoría de los casos, estos anticuerpos producen en el hospedero reacciones de hipersensibilidad de los tipos I, III y ocasionalmente del tipo IV^{6,7,10,11} después de varias exposiciones al antígeno. La participación de la otra rama de la respuesta inmune -el componente celular-, también se ha observado en infestaciones causadas por algunos insectos como *X. cheopis*, *G. morsitans*, *Lutzomyia longipalpis* y *Triatoma protracta*; en ácaros como *Sarcoptes scabiei* var. *canis* y, en forma más constante, en diversas especies de garrapatas^{17,20-30}. Curiosamente, la principal célula linfocítica involucrada es el basófilo, aunque también intervienen en menor grado, eosinófilos y células mononucleares. La concentración de estas células en los animales sensibilizados de manera natural, se ha determinado tanto en su sangre circulante como en el sitio de la picadura o de la implantación de la proboscis, pero a diferencia de los anticuerpos, no se ha demostrado que tengan algún efecto sobre el hospedero.

La mayoría de las manifestaciones de los efectores de la respuesta inmune se han observado en diversas especies de hospederos (humanos, conejos, cobayos, ratones, ratas, gallinas, etc.) usados como fuente natural o experimental de alimento de los artrópodos. Sin embargo, es conveniente mencionar que dichos hospederos no eran "normales", ya que previamente habían sido utilizados una o varias veces para la alimentación de los artrópodos (sensibilización natural) o bien, fueron inmunizados

experimentalmente con diversas preparaciones antigénicas elaboradas a partir de tejidos o de líquidos corporales de los artrópodos, es decir, en estudios realizados bajo condiciones experimentales controladas. Por otro lado, es importante considerar que cuando están en cautiverio, normalmente los artrópodos hematófagos son alimentados con soluciones azucaradas, las que posiblemente estimulan la formación de neoantígenos no presentes cuando la alimentación es a base de sangre. Finalmente, debido a la dificultad para la observación y seguimiento del artrópodo en su ambiente natural, la ratificación de dichas observaciones en la naturaleza, con frecuencia es prácticamente imposible.

Efectos de la Respuesta inmune sobre los artrópodos.

Si bien las reacciones inmunológicas *in vivo* suelen ser relativamente inocuas para el vertebrado, esto no sucede en los artrópodos. La actividad de los anticuerpos y leucocitos polimorfonucleares presentes en la sangre ingerida por los artrópodos, logra afectar de manera conspicua algunos aspectos de su bionomía incidiendo de manera más notable tanto en su comportamiento para la alimentación y la magnitud de ésta, como en la longevidad, fertilidad, fecundidad, tamaño de la población y otros^{10,11}.

Efectos sobre el tamaño de la población. La reducción en el tamaño de la población de artrópodos que infesta a un hospedero, se puede ilustrar en un ejemplo concreto. En estudios realizados en voluntarios humanos con el arador de la sarna, *S. scabiei*⁶, se observó que en sujetos primoinfestados, la población de ácaros se incrementó normal y paulatinamente en un período comprendido entre 80 y 115 días, para decaer drásticamente unos días después. Cuando estos mismos voluntarios fueron reinfestados con una dosis similar, solo una pequeña fracción del inóculo permaneció en los sujetos 48 horas después de la reinfestación. Esto sugiere que la aparente resistencia a la reinfestación podría ser causada por fenómenos inmunológicos y confirma lo que aparentemente se ha observado en condiciones naturales, es decir, que es más difícil que un individuo que ya tuvo sarna, la vuelva a padecer comparado con el que se expone por primera vez al ectoparásito⁶.

Efectos sobre la alimentación. Aunque hay alguna información sobre insectos³¹, este efecto se ha observado fundamentalmente en ixódidos y argásidos (garrapatas)^{6,10,11,14-16,24-30, 32, 33}. La magnitud del efecto sobre la alimentación, se ha medido de diversas

maneras. Una ha sido determinar la proporción de artrópodos que en un tiempo definido abandonan al hospedero sin haberse satisfecho plenamente de sangre, (tasa de rendimiento). Otro indicador ha sido el tiempo ocupado para la hematofagia, es decir, la proporción del tiempo que permanecen adheridos al hospedero ingiriendo sangre. Por último, la cantidad de sangre ingerida, medida como la diferencia proporcional en el peso corporal al final de la alimentación, también ha resultado un buen indicador del efecto.

En el Cuadro 1 se resumen algunos datos que ilustran estos efectos. En dos especies de garrapatas (*Amblyomma americanum* y *Rhipicephalus sanguineus*) alimentadas experimentalmente sobre cobayos o terneras sensibilizados de manera natural, se observaron tasas de rechazo variables, que van desde el 21 hasta el 62% respectivamente^{14,32}, mientras que la cantidad de sangre ingerida se redujo un 29%. Asimismo, en otro estudio²⁴ se observó un decremento del orden del 22% en el peso corporal de *A. americanum* alimentadas en cobayos expuestos por segunda ocasión a la infestación. Por último, el tiempo ocupado para la alimentación de *Dermacentor variabilis*³³ se incrementó en un 67% (de 4 a 6 días) cuando las garrapatas se alimentaron sobre ratas inmunizadas con una o varias preparaciones antigénicas derivadas principalmente del intestino medio de esos ectoparásitos.

Con base en los resultados de una serie de estudios sistematizados, parece ser que los responsables de las alteraciones en el comportamiento alimenticio de las garrapatas, son los leucocitos polimorfonucleares basófilos, eosinófilos y los monocitos, siendo los primeros, los más importantes en la producción de esas alteraciones, ya que se acumulan alrededor de la implantación del hipostoma de las garrapatas y que de alguna manera aún no bien esclarecida, impiden la alimentación exitosa^{14,15,24-30}. Cabe aclarar que los efectos en el comportamiento alimenticio y la alimentación exitosa, también se pueden observar en animales a los que se les han transferido células o suero de hospederos sensibilizados. Por último, tales efectos se inhiben además, con el tratamiento con suero anti-basófilo o anti-eosinófilo^{14,15,26}.

Cambios en la fertilidad y fecundidad. El efecto sobre el potencial reproductivo, se ha observado durante el mantenimiento en cautiverio de algunas colonias de artrópodos hematófagos. Después de usar repetidamente un mismo animal como fuente de sangre en el mantenimiento de colonias de *G. palpalis* y *G. morsitans*, la cantidad y viabilidad, esto es, la fecundidad y la fertilidad de los huevos producidos por las hembras, disminuye a tal grado que pone en peligro la perpetuación y preservación de las colonias³⁴. Este riesgo se puede minimizar por: a)eliminación del hospedero utilizado repetidamente; b)cambio de la especie de animal hospedero; c)disminución del número de artrópodos por animal en cada período de alimentación; d)aumento del

Cuadro 1. Algunos ejemplos de los efectos de la respuesta inmune del hospedero sobre la alimentación de garrapatas

Especie	Hospedero	Inmunización	RH	RSI	ITI	Ref
<i>Amblyomma americanum</i>	Cobayo	Picaduras previas ²	57.5	38.9	ND ¹	13
<i>A. americanum</i>	Cobayo	Artificial	38.3	21.4	ND	32
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Cobayo	Picaduras previas	61.6	28.6	ND	13
<i>Dermacentor variabilis</i>	Rata	Artificial intestino medio	ND	40.1	58	33
<i>Haemaphysalis leporipalustris</i>	Conejo	Picaduras previas	65-78 ³	40.3	ND	50

RH= Tasa de rechazo del hospedero

RSI= Tasa de reducción de sangre ingerida

ITI= Incremento porcentual del tiempo de ingesta

tiempo de reposo del hospedero entre cada alimentación; y e) el cambio alternado de hospederos. Lo anterior sugiere fuertemente la intervención de mecanismos inmunológicos que se traducen en la reducción en el número de integrantes de la colonia de artrópodos. Este efecto puede medirse al hacer un registro comparativo de la proporción de hembras que ponen huevos (tasa de oviposición), el tiempo que transcurre entre la alimentación y la oviposición (proporción del tiempo de preoviposición), el peso promedio de huevos/postura/hembra, la cantidad de

huevos por postura (fecundidad) y la tasa de eclosión de los huevos (fertilidad), entre otros.

La información existente acerca del efecto sobre el potencial reproductivo de los artrópodos ha sido poco uniforme y en algunos casos hasta contradictoria y, aparentemente, tiene que ver con la forma en que se ha sensibilizado al hospedero y del material inmunogénico empleado. En el Cuadro 2 se resumen algunos datos que ilustran estos efectos. Varios ejemplares hembra de *A. americanum* alimentadas sobre terneras previamente expuestas a la garrapata,

Cuadro 2. Algunos ejemplos del efecto de la respuesta inmune del hospedero sobre el potencial reproductivo de artrópodos hematófagos.

Artrópodo (Hospedero)	Tasa de Ovip*	Preovip**	Masa (mg) de huevos	% de eclosión	Ref
<i>A. americanum</i>					
(Tertera)	83	ND	-31.6	ND***	28
(Conejo)	ND	-0.3	-14.2	-3.6	36
<i>D. variabilis</i>					
(Conejo)	ND	+2.9	-11.2	+2.0	36
(Rata)					
-Ext. Total ¹	ND	+32.7	-4.2	-3.78	33
-Int. Med. Sol. ²	ND	+59.2	-39.8	-5.72	33
Int. Med. Insol ³	ND	+106.1	-52.4	-14.90	33
<i>O. moubata</i>					
(Conejo)					
-Picaduras	100	+60.2	-35.8	ND	35
-Vitelina	88	+97.6	-69.3	ND	35
-Combinada ⁴	209	+209.6	-10.3	ND	35
<i>Ae. aegypti</i>					
(Conejo)	ND	ND	ND	-31.2	37
(Cobayo)	ND	ND	ND	-23.5	37
<i>Culex tarsalis</i>					
(Conejo)	ND	ND	ND	+10.8	37
(Cobayo)	ND	ND	ND	+4.4	37

* Proporción del número de hembras que ovipositan

** Proporción del tiempo que tardaron las hembras en ovipositar.

El signo + o -, indica si el valor es mayor o menor que el de los controles

*** No informado

¹ Homogenado total de garrapatas completas

² Fracción soluble de homogenado de intestino medio

presentaron una conspicua reducción (31.6%) en el peso de los huevos, no obstante que la relación masa de huevos/peso de sangre ingerida fue la misma²⁸. En los experimentos de Ackerman y col³³, se utilizaron ratas inmunizadas con alguno de los siguientes extractos antigénicos preparados de *D. variabilis*: a) homogenado total de garrapatas; b) fracción soluble de homogenado de intestino medio y c) fracción insoluble del anterior homogenado. El tiempo de preoviposición de las garrapatas se incrementó en todos los grupos, pero fue más notable en las alimentadas sobre las ratas inmunizadas con la fracción insoluble. Por otro lado, el peso promedio de los huevos y la tasa de eclosión de éstos, siempre fue más largo aunque con porcentajes muy variables y sin importar el tipo de antígeno usado para la inmunización del hospedadero. En hembras de *Ornithodoros moubata* alimentadas en conejos sensibilizados de manera natural por picaduras de la garrapata y/o artificialmente con vitelina (proteína principal de la yema del huevo)³⁵, se observó una reducción en la tasa de oviposición que varió del 88 al 40% y la tasa del tiempo de preoviposición fue mucho más elevada en las garrapatas alimentadas sobre animales inmunizados por la combinación de picaduras y la inyección de vitelina, que el mostrado por las alimentadas sobre animales normales o inmunizados con cualquiera de esos procedimientos. Por otro lado, el peso promedio de los huevos también se vio reducido por la alimentación en hospederos inmunizados con vitelina o por picaduras repetidas. Además, fue notorio el escaso desarrollo de los ovarios y del útero, así como de su contenido en huevos después de disectar algunos de los ejemplares sobrevivientes³⁵. En contraste, con conejos inmunizados artificialmente con hemolinfa de *D. variabilis* o de *A. americanum* para alimentar otros ejemplares de las mismas especies de garrapatas, no se observaron cambios notables en el peso, tasa de eclosión o en el tiempo de incubación de los huevos, no obstante los altos títulos de anticuerpos detectados en ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)³⁶. La causa del contraste en estos resultados, podría ser el tipo de sensibilización y el inmunógeno usado, ya que en los primeros estudios mencionados, la sensibilización fue natural (exposición a picaduras del artrópodo) o artificial, empleando homogenados de intestino medio o una proteína específica de huevos, mientras que en el último, los conejos fueron inmunizados artificialmente con la hemolinfa de las garrapatas. La caracterización antigénica de la hemolinfa, secreciones bucales y del intestino medio usados para la sensibilización, así como la de la respuesta inmune inducida, podría aportar la información necesaria para

explicar la modificación del potencial reproductivo de las garrapatas.

Se ha observado que en mosquitos de la especie *Ae. aegypti*, alimentados sobre conejos o cobayos inmunizados artificialmente en una sola ocasión con homogenado total de mosquitos adultos, mostraron una reducida fecundidad que varió del 31 al 24% y que esta se redujo aun mas cuando los animales fueron inmunizados varias veces. Este efecto no se observó cuando se alimentaron en animales inmunizados con homogenado de *Culex tarsalis*, sugiriendo una especificidad de la respuesta inmune³⁷. En la llamada chinche hocicona (*Rhodnius prolixus*), la alimentación sobre ratones que habían sido repetidamente expuestos a picaduras de estas chinches, indujo en las hembras una reducción del orden del 44% en la fecundidad, cifra muy semejante a la obtenida con ejemplares alimentados en ratones usados una sola vez previa a la alimentación experimental. Curiosamente, la fertilidad no se vio afectada por ninguna de esas alimentaciones³¹. En contraste, en experimentos realizados con *G. morsitans morsitans* alimentadas sobre conejos sensibilizados en forma natural, se observó una disminución clara en el peso de las pupas y no muy clara en la fecundidad, es decir, en la cantidad de pupas/hembra³⁸

Efectos sobre la longevidad. En las colonias de artrópodos hematófagos establecidas en cautiverio, los individuos muestran una longevidad equiparable a la estimada cuando están en condiciones naturales. Sin embargo, y como se mencionó anteriormente, si la fuente de alimentación sanguínea es un vertebrado que ya ha sido utilizado en varias ocasiones, el período de vida de los artrópodos suele acortarse poniendo en peligro la sobrevivencia de la colonia. Este efecto ha sido estudiado experimentalmente tanto en garrapatas como en diversos órdenes de insectos.

Alger y Cabrera en 1972³⁹, señalaron que mosquitos de la especie *Anopheles stephensi* (una especie muy eficiente en la transmisión de la malaria) alimentados sobre conejos inmunizados con extractos de intestino medio o de mosquitos completos, mueren más rápidamente que los alimentados sobre conejos no inmunizados. Dependiendo del tipo de inmunógeno empleado para la inmunización de los animales, hubo una reducción diferencial en la longevidad de las hembras de esta especie. Por ejemplo, el 80% acumulado de los mosquitos alimentados en conejos inmunizados con intestino medio, murieron en el lapso de 7 días después de la alimentación, mientras que la misma proporción de los alimentados en conejos

inmunizados con un homogenado completo de insectos, lo hicieron en 12 días. Estos resultados fueron significativamente diferentes de los observados con los mosquitos testigo, quienes alcanzaron las mismas cifras de mortalidad acumulada hasta los 19 días posteriores a la alimentación en conejos no inmunizados. Esto sugirió a los autores una acción concertada de los anticuerpos con diversas especificidades para: a) causar daño mecánico a las células epiteliales o a las microvellosidades del intestino; b) causar la muerte de la microflora intestinal, o c) inhibir la actividad de las proteasas intestinales de los mosquitos³⁹.

En los experimentos de Southerland y Ewen³⁷, se encontró que la mortalidad de las hembras de *Ae. aegypti* alimentadas en conejos inmunizados una sola vez con homogenado completo de mosquitos, no fue muy diferente a la obtenida en el grupo de insectos alimentados en conejos normales. Sin embargo, cuando se alimentaron en conejos inmunizados en dos ocasiones con tres meses de diferencia, la mortalidad, aunque baja, fue 2.7 veces mayor que la observada anteriormente. Esta doble inmunización, podría ser equivalente a la exposición repetida del hospedero a picaduras de insectos, como se ejemplifica en el trabajo de Parker y Gooding³⁸, donde la longevidad de *G. m. morsitans* se vio disminuída al alimentarse en conejos utilizados varias veces para alimentar a las moscas.

En otros estudios, Nogge y Gianneti⁴⁰ demostraron más claramente un efecto letal de los anticuerpos sobre moscas hematófagas de la especie *G. morsitans*. En su experimento, varias moscas recién eclosionadas del estado pupal, se alimentaron sobre voluntarios humanos. Tres días más tarde las alimentaron artificialmente a través de membranas, unas con la fracción gamaglobulina de suero inmune de conejo con anticuerpos contra albúmina sérica humana (ASH) y otras, que funcionaron como testigo del experimento, con gamaglobulina de suero de conejo normal. Pocas horas después de la alimentación, todas las moscas experimentales murieron, no así las testigo. El examen postmortem de las moscas experimentales, demostró cifras notablemente más bajas en la concentración de iones Na^+ y K^+ comparadas con las obtenidas con las moscas de testigo. Los autores sugieren que en primera instancia, la ASH ingerida con la primera alimentación fue incorporada a la hemolinfa de los insectos y utilizada para su propia osmorregulación y después, cuando los anticuerpos anti-ASH fueron ingeridos por las moscas experimentales, estos igualmente atravesaron el

intestino medio de los insectos y llegaron a la hemolinfa, donde se combinaron con la ASH, bloqueando o interfiriendo en sus funciones osmorreguladoras, de manera que la muerte de las moscas se debió a un choque osmótico.

Del anterior experimento en forma directa y de varios más⁴¹⁻⁵⁷ en forma indirecta, se derivan varias observaciones relevantes: a) una proteína de peso molecular medio (albúmina, de 64 Kd) es capaz de atravesar fisiológicamente intacta la pared intestinal del insecto y cumplir sus funciones osmorreguladoras usuales en el vertebrado, trasladadas a la hemolinfa del insecto; b) una proteína de mayor peso molecular (IgG, de 150 Kd) también es capaz de llegar a la hemolinfa sin sufrir alteraciones relevantes en su función de reconocimiento antigénico; y c) al menos estas dos proteínas solubles (Albúmina e IgG), comúnmente presentes en el plasma de los animales vertebrados, son absorbidas rápidamente del tubo digestivo del insecto sin sufrir cambios notables en sus funciones fisiológicas o inmunológicas a causa de la acción del proceso digestivo.

Anticuerpos del hospedero en el artrópodo.

El paso de proteínas séricas del hospedero a la hemolinfa o su persistencia en el interior de los artrópodos hematófagos se conoce desde 1943, en que Wigglesworth⁴¹ informó de la presencia de hemoglobina del hospedero en la hemolinfa de *Rhodnius prolixus*. Desde entonces, y de manera más consistente en los últimos años, se han detectado proteínas séricas del hospedero en la hemolinfa de diversas especies de artrópodos hematófagos (Cuadro 3). La proteína más estudiada ha sido la IgG, pues además de ser la inmunoglobulina más abundante en el plasma, es también la de mayor síntesis en la respuesta inmune secundaria. La IgG inespecífica se ha detectado con antisueros anti-IgG en pruebas de precipitación⁴² o en ELISA⁴³. Los resultados de esos estudios han sugerido que el proceso digestivo del artrópodo, si bien elimina una gran proporción de IgG, las moléculas que se detectan mantienen su estructura antigénica, lo que explica su identificación por esos procedimientos. Existen evidencias que señalan que la digestión de proteínas séricas por los artrópodos hematófagos ocurre en diferentes proporciones y velocidades, dependiendo de la especie o grupo que se estudie, su edad, estado reproductivo y condiciones ambientales^{44,45}. Es conveniente mencionar que en varios grupos de insectos, se produce una membrana que va envolviendo al alimento conforme este pasa por el

Cuadro 3. Presencia de proteínas séricas del hospedero en la hemolinfa de artrópodos hematófagos

Artrópodo	Hospedero	Proteína	Referencia
Garrapatas	Conejo	Albúmina	42,47
Ixódidos	Rata	Transferrina	42,54
	Carnero	IgG inespecífica	42,51,53
	Conejos	IgG específica ¹	47,52
Garrapatas	Pollos	IgG inespecífica	49
Argásidos	Bovinos	IgG específica ²	55
	Conejos	IgG inespecífica	54
Mosquitos	Rata	IgG específica ³	46,56
	Humano	IgG inespecífica	45
Moscas hematófagas	Humano	Albúmina	40
	Conejo	IgG específica ⁴	40
Triatomas	Conejo	Hemoglobina	41
Pulgas	Rata	IgG específica ³	57

¹ Hemolisinas de conejo contra eritrocitos de carnero

² De conejo contra albúmina de huevo

³ Contra *Rickettsia typhi*

⁴ Conejo contra albúmina sérica humana

intestino anterior. La maduración de esta membrana llamada peritrófica, requiere de algún tiempo y se estima que representa una forma de aislar el alimento para su completa digestión y no mezclarlo con el material fresco ingerido en otra hematofagia. También se considera que la membrana peritrófica madura, juega un papel importante como barrera física, tanto para el paso de agentes patógenos, como de macromoléculas al hemocele⁴⁴.

Las IgG específicas se han identificado en ELISA, Radioinmunoensayo y en Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Las moléculas de IgG recuperadas en la hemolinfa o en el sobrenadante de la homogeneización de los artrópodos alimentados sobre animales inmunizados, mantienen su actividad inmunológica por diferentes tiempos en el artrópodo, lo que se ha demostrado por la reacción con sus antígenos específicos *in vitro*. Esto se ha determinado para diversos antígenos particulados (*Rickettsia typhi*, *Theileria sergenti*) o solubles (gamaglobulina de ratón y albúmina sérica bovina o de huevo)⁴⁶⁻⁴⁹. En el caso de *R. typhi*⁴⁶ se emplearon como modelo experimental a diversas especies de mosquitos alimentados en ratas inmunes a la rickettsia y la IgG se determinó por IFI. Los anticuerpos se detectaron en la hemolinfa desde tres y hasta 24 horas después de la alimentación,

mientras que en el contenido del intestino medio (estómago) se encontraron hasta 48 horas después de la alimentación. En otro estudio⁴⁸, se demostró que en ninfas de 4º estadio de *R. prolixus*, los anticuerpos IgG de conejo permanecen inmunológicamente activos en el interior de los insectos por tiempos tan prolongados como 50 días después de su ingestión. En esos experimentos se utilizaron 400 ninfas divididas en dos grupos, las del primer grupo se alimentaron en conejos normales y las del segundo, en conejos inmunizados con gamaglobulina de ratón. En diferentes tiempos (minutos, horas o días después de la alimentación), cuatro ninfas de cada grupo se sacrificaron por aplastamiento en un tubo que contenía un amortiguador de fosfatos y los sobrenadantes individuales fueron examinados en ELISA buscando anticuerpos IgG de conejo contra gamaglobulina de ratón. En las muestras tomadas 50 días después, la concentración de IgG anti-gamaglobulina de ratón se redujo aproximadamente a la mitad de la observada inmediatamente después de la alimentación. Aunque no se dieron argumentos explicativos, llama la atención que estos cambios fueron lentos pero significativos a los 60 minutos (Figura 1C) y a los tres días posteriores a la alimentación (Figura 1A). Por último, en los experimentos de Tesh y col.⁴³, hechos

con homogeneizados de mosquitos (*Ae. albopictus*) y flebotomos (*hlebotomus papatasi*) alimentados en cobayos, encontraron en ELISA que la degradación de albúmina, IgG e IgM, así como de la fracción C3 del complemento sérico, fue continua hasta el final del experimento, pero a diferentes velocidades en función de la proteína y de la especie estudiada.

permanecen en la luz intestinal. Por último el hecho de que el proceso digestivo no sea suficientemente activo como para eliminar rápidamente la totalidad de las proteínas ingeridas con actividad de anticuerpo, ni anular sus funciones de reconocimiento antigénico, refuerza la idea del paso rápido estas proteínas a la hemolinfa para escapar de la acción proteolítica,

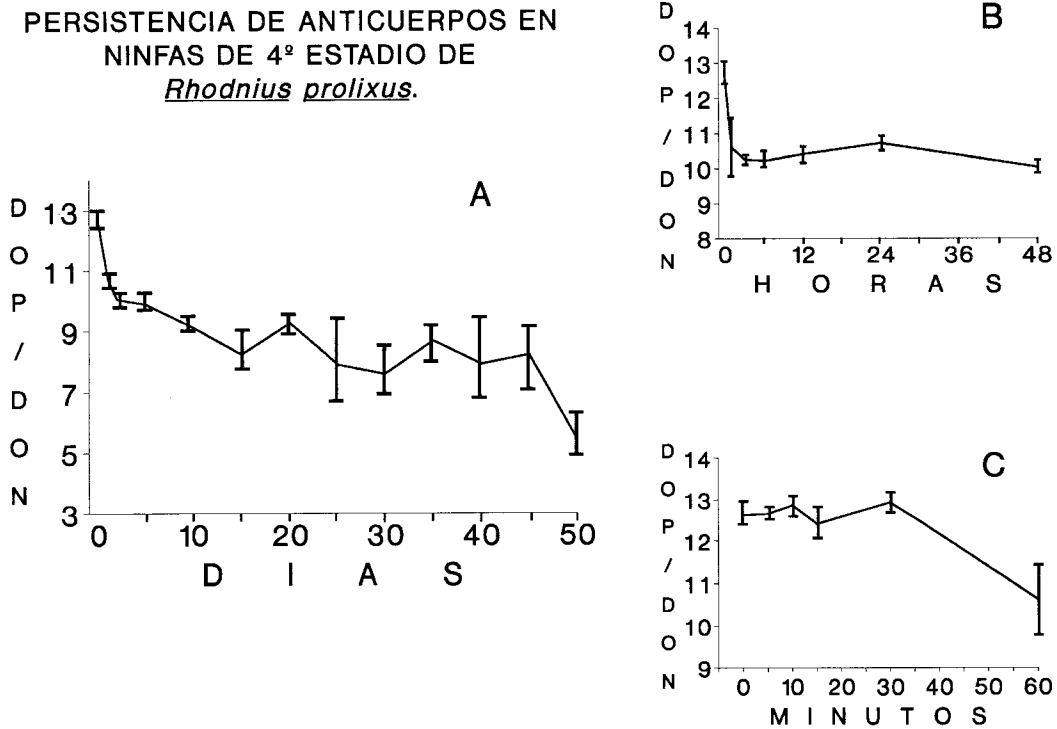


Fig. 1. Persistencia de anticuerpos de conejo anti-IgG de ratón detectados en ELISA con el sobrenadante de ninfas de 4º estadio de *Rhodnius prolixus* sacrificadas a diferentes tiempos (días, Panel A; horas, Panel B y minutos, Panel C). En el eje de las ordenadas, está el cociente resultante de dividir la media más tres desviaciones estándar de las Densidades Ópticas (Absorbancia) a 490 nm obtenidas del sobrenadante de chinches alimentadas sobre conejos inmunizados con IgG de ratón (DOP), entre la media de las Densidades Ópticas de chinches alimentadas sobre conejos normales (DON). Las líneas verticales representan la media \pm desviación estándar de cada valor (Modificado de la referencia 48)

En su conjunto, estos resultados señalan que el paso de proteínas del hospedero al hemocele y su posterior asimilación en la hemolinfa, es un proceso que se inicia casi simultáneamente con la hemotofagia. Es conveniente mencionar que existen algunas diferencias entre los insectos y las garrapatas con respecto a la digestión del alimento. En los primeros, esta ocurre en la luz intestinal, mientras que en las garrapatas es intracelular en los epitelios y paredes intestinales. Por otro lado, las estructuras epiteliales del intestino anterior y medio de los artrópodos, incluyendo la membrana peritrófica en los insectos que la presentan, y muy especialmente durante la maduración de ésta, tienen escasa selectividad hacia estas moléculas, aunque finalmente se convierten en una barrera difícil de franquear por las macromoléculas que aun

mantener su capacidad de combinación con el antígeno, inhibir, al menos parcialmente, el desarrollo y función de algunos órganos y alterar su funcionamiento normal, todo ello traducido en cambios en la bionomía de los artrópodos hematófagos.

Comentarios finales.

El fin último de las acciones de control de artrópodos vectores de enfermedades es reducir a límites críticos su densidad de población en una área determinada, de manera que la incidencia y prevalencia de las enfermedades que transmiten tiendan a disminuir a niveles controlables. El manejo integrado de métodos de control de artrópodos que incluya herramientas inmunológicas, podría ayudar a

alcanzar el objetivo. Con la información discutida, es aparente que los efectos de los anticuerpos y leucocitos, así como los antígenos utilizados y los hospederos empleados, han sido muy variados. También es evidente que los efectores de la respuesta inmune inducidos por vacunación o por alimentación del artrópodo, alteran de varias maneras la bionomía de los artrópodos con mínimos riesgos de contaminación ambiental. No obstante lo variado y rico de la información anterior, es pertinente mencionar que ésta se ha generado de manera espaciada en el tiempo, con aparente falta de continuidad y en ocasiones, incompleta, a excepción tal vez de los estudios más sistematizados y secuenciales hechos para dilucidar el efecto de los leucocitos polimorfonucleares y su interacción con los anticuerpos y linfocitos T en las modificaciones observadas en la bionomía de las garrapatas. Es conveniente continuar con el estudio de la respuesta inmune del hospedero hacia los antígenos de los artrópodos y de las características inmunológicas de esos antígenos, lo que facilitaría la comprensión de los mecanismos por los cuales los anticuerpos llegan a la hemolinfa y a los diversos órganos de los artrópodos para interferir en sus funciones fisiológicas normales.

Los estudios futuros para una eventual inmunoprofilaxis deberán también prestar especial atención a la naturaleza y origen de los antígenos relevantes, tomando en consideración la aparición de los neoantígenos inducidos por la alimentación con base en soluciones azucaradas. Por otro lado, resulta conveniente intentar reproducir los efectos ya

observados, pero utilizando antígenos recombinantes o por lo menos, con mayor grado de purificación. Tales estudios pueden ser realizados con modernas técnicas inmunológicas, inmunohistoquímicas, bioquímicas y de biología molecular que serían de gran utilidad para, por ejemplo, identificar los antígenos relevantes, su inmunodominancia e inmunotopografía, el gene que los codifica y, eventualmente, intentar su producción masiva ya sea como moléculas completas o como sus epítomos relevantes a través de ingeniería genética o biotecnología. Así mismo, se podrían comprender los mecanismos por los cuales los anticuerpos del hospedero llegan interactúan con los antígenos del intestino, cavidades, órganos, tejidos, células y/o componentes celulares, interfiriendo en sus funciones normales. También se podría estudiar con mayor profundidad la acción de los anticuerpos para inducir inhibición de enzimas, inactivación de hormonas, desviar vías metabólicas y otros mecanismos relevantes que se traduzcan en alteraciones histológicas y citopatológicas que originen cambios en la bionomía y comportamiento reproductivo de los artrópodos hematófagos. Otro uso potencial y atractivo de la respuesta inmune contra los artrópodos vectores, es que la ingesta de esos anticuerpos los hace menos susceptibles a los agentes patógenos que transmiten, no obstante que dichos anticuerpos anti-artrópodo no son anti-patógeno. Los resultados mostrados sugieren que el control inmunológico de artrópodos hematófagos, puede ser más una alternativa viable, que un planteamiento hipotético o un instructivo ejercicio académico.

Referencias

1. Vázquez GL. Zoología del phylum arthropoda. 6a. ed México Interamericana 1987.
2. Tay J, Rodríguez MA, Gutiérrez M, López-Martínez, R. Microbiología y parasitología médica. 2a ed México: Méndez Cervantes 1993.
3. Arata AA., Difficulties facing vector control in 1990s. Am J Trop Med Hyg 1994;50 Suppl:11-20.
4. Lacey LA, Orr BK. The role of biological control of mosquitoes in integrated vector control. Am J Trop Med Hyg 1994;50 Suppl:97-115.
5. Kay BH, Kemp DH. Vaccines against arthropods. Am J Trop Med Hyg 1994;50:87-98.
6. Wikel SK. Immune responses to arthropods and their products. Ann Rev Entomol 1982;27:21-48.
7. Feingold BF, Benjamini E, Michaeli D. The allergic responses to insects bites. Ann Rev Entomol 1968;13:137-58.
8. Molineaux DH, Jefferies D. Feeding behaviour of pathogen-infected vectors. Parasitol 1986;92:721-36.
9. Nayar JK, Bradley TJ. Effects of infection with *Dirofilaria immitis* on diuresis and oocyte development in *Aedes taeniarhynchus* and *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 1987;24:617-622.
10. Nelson WA, Bell JF, Clifford CM, Keirans JE. Interactions of ectoparasites and their hosts. J Med Entomol 1977; 13:389-428
11. Balashov Yu S. Interaction between blood-sucking arthropods and their hosts, and its influence on vector potential. Annual Rev Entomol 1984;29:137-56.
12. Fox I, Bayona IG, Umpierre CC, Morris JM. Circulating precipitating antibodies in the rabbit from mite infection as shown by agar-gel tests. J Parasitol 1967;53:402-5.

13. Fox I, Bayona IG. Circulating precipitating antibodies in the rabbit from the bites of *Rhodnius prolixus* as shown by agar-gel tests. *J Parasitol* 1968;54:1239-40.
14. Brown SJ, Askenase PW. Cutaneous basophil responses and immune resistance of guinea pigs to ticks: passive transfer with peritoneal exudate cells or serum. *J Immunol* 1981;127:2163-7.
15. Brown SJ, Graziano FM, Askenase PW. Immune serum transfer of cutaneous basophil-associated resistance to ticks: Mediation by 7S1IgG1 antibodies. *J Immunol* 1982;129:2407-12.
16. Whelen AC, Richardson LK, Wikel SK. DOT-ELISA assessment of guinea pig antibody responses to repeated *Dermacentor andersoni* infestations. *J Parasitol* 1986;2:155-62.
17. Brown SJ, Cipriano DM. Induction of systemic and local basophil and eosinophil responses in guinea pigs by the feeding of the tse-tse fly *Glossina morsitans*. *Vet Parasitol* 1984/85;17:337-48.
18. Ellis JA, Shapiro SZ, Moi-Yoi OO, Moloo SK. Lesions and saliva-specific antibody responses in rabbits with immediate and delayed hypersensitivity reactions to the bites of *Glossina morsitans* centrals. *Vet Pathol* 1986;23:661-7.
19. Arlian LG, Vyszanski-Moher DL, Gilmore AM. Cross-antigenicity between *Sarcoptes scabiei* and the house dust mite, *Dermatophagoides farinae* (Acari: Sarcoptidae and Pyroglyphidae). *J Med Entomol* 1988;25:240-7.
20. Vaughan JA, Jerse AE, Azad AF. Rat leucocyte response to the bites of rat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *J Med Entomol* 1989;26:449-53.
21. Johnston CM, Brown SJ. *Xenopsylla cheopis*: Cellular expression of hypersensitivity in guinea pigs. *Exp Parasitol* 1985;59:81-9.
22. Brown SJ, Rosalsky JH. Blood leukocyte response in hosts parasitized by the haematophagous arthropods *Triatoma protracta* and *Lutzomyia longipalpis*. *Am J Trop Med Hyg* 1984;33:499-505.
23. Arlian LG, Ahmed M, Vyszanski-Moher DL. Effects of *S. scabiei* var *canis* (Acari: Sarcoptidae) on blood indexes of parasitized rabbits. *J Med Entomol* 1988;26:360-9.
24. Brown SJ, Askenase PW. Blood eosinophil and basophil responses in guinea pigs parasitized by *Amblyomma americanum* ticks. *Am J Trop Med Hyg* 1982;31:593-8.
25. Brown SJ, Askenase PW. Immune rejection of ectoparasites (ticks) by T cell and IgG1 antibody recruitment of basophils and eosinophils. *Fed Proc* 1983;42:1744-9.
26. Brown SJ, Galli SJ, Glewich GL, Askenase PW. Ablation of immunity to *Amblyomma americanum* by anti-basophil serum: Cooperation between basophils and eosinophils in expression of immunity to ectoparasites (ticks) in guinea pigs. *J Immunol* 1982;129:790-6.
27. Brown SJ, Worms MJ, Askenase PW. Cutaneous basophil-associated resistance to ectoparasites (ticks). IV. Differences in blood basophil kinetics in hosts parasitized by ixodid and argasid ticks. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32:897-902.
28. Brown SJ, Barker RW, Askenase PW. Bovine resistance to *Amblyomma americanum* ticks: An acquired immune response characterized by cutaneous basophil infiltrates. *Vet Parasitol* 1984;16:147-65.
29. Brown SJ, Bagnall BG, Askenase PW. *Ixodes holocyclus*: Kinetics of cutaneous basophil responses in naive, and actively and passively sensitized guinea pigs. *Exp Parasitol* 1984;57:40-7.
30. Johnston CM, Brown SJ. Cutaneous and systemic cellular responses induced by the feeding of the argasid tick *Ornithodoros parkeri*. *Int J Parasitol* 1985;15:621-8.
31. Krinsky WL. Feeding, molting, and egg production in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) fed repeatedly on the same swiss mouse hosts. *J Med Entomol* 1985;22:670-4.
32. Brown SJ, Askenase Pw. *Amblyomma americanum*: Physicochemical isolation of a protein derived from the tick salivary gland that is capable of inducing immune resistance in guinea pigs. *Exp Parasitol* 1986;62:40-50.
33. Ackerman S, Floyd M, Sonenshine DE. Artificial immunity to *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae): Vaccination using tick antigens. *J Med Entomol* 1980;17:391-7.
34. Hinton M. Veterinary problems in a colony of rabbits used to feed tse-tse flies. *Br Vet J* 1980;136:33-8.
35. Chinzei Y, Minoura H. Reduced oviposition in *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae) fed on tick-sensitized and vitellin-immunized rabbits. *J Med Entomol* 1988;25:26-31.
36. Ben-Yakir D, Barker RW. The development of *Amblyomma americanum* and *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) fed in rabbits immunized with tick hemolymph. *Parasitol Res* 1987;73:284-8.
37. Southerland BG, Ew11en Ba. Fecundity decrease in mosquitoes ingesting blood from specifically sensitized mammals. *J Insect Physiol* 1974;20:655-60.
38. Parker KR, Gooding RH. Effects of host anemia, local skin factors, and circulating antibodies upon biology of laboratory reared *Glossina morsitans morsitans* Westwood (Diptera: Glossinidae). *Can J Zool* 1979;57:2393-2401.
39. Alger NE, Cabrera EJ. An increase in death rate of *Anopheles stephensi* fed on rabbits immunized with mosquito antigen. *J Economical Entomol* 1972;65:165-8.
40. Nogge G, Giannetti M. Specific antibodies: A potential insecticide. *Science* 1980;209:1028-9.
41. Wigglesworth VB. The fate of haemoglobin in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and other blood sucking arthropods. *Proc Royal Soc Lond B* 1943;131:313-39.

42. Ackerman S, Clare FB, McGill TW, Sonenshine DE. Passage of host serum components, including antibody, across the digestive tract of *Dermacentor variabilis* (Say). *J Parasitol* 1981;67:737-40.
43. Tesh RB, Chen W-R, Catuccio D. Survival of albumin, IgG, IgM and complement (C3) in human blood after ingestion by *Aedes albopictus* and *Phlebotomus papatasi*. *Am J Trop Med Hyg* 1988;39:127-30.
44. Gooding RH. Digestive processes of haematophagous insects. I. A literature review. *Quaest Entomol* 1972;8:5-60.
45. Irby WS, Apperson CS. Immunoblot analysis of digestion of human and rodent blood by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1989;26:284-93.
46. Vaughan JA, Azad AF. Passage of host immunoglobulin G from blood meal into haemolymph of selected mosquito species. *J Med Entomol* 1988;25:472-4.
47. Fujisaki L, Kamio T, Kitaoka S. Passage of host serum components, including antibodies specific for *Theileria sergenti* across the digestive tract of argasid and ixodid ticks. *Ann Trop Med Parasitol* 1984;78:449-50.
48. Gómez-Priego A, Morales-López G, Zárate LG, Zárate RJ. Studies on the immunological persistence of some rabbit serum proteins in the gut of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). Proc 34th Ann Meeting Am Soc Trop Med Hyg 1985 Miami, Fla. USA.
49. Minoura H, Chinzei Y, Kitamura S. *Ornithodoros moubata*: Host immunoglobulin G in tick hemolymph. *Exp Parasitol* 1985;60:355-63.
50. Boese, JL. Rabbit immunity to the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 1974;11:503-512.
51. Ben-Yakir D, Fox CJ, Homer JT, Barker RW. Quantification of host immunoglobulin in the haemolymph of ticks. *J Parasitol* 1987;73:669-71.
52. Brossard M, Rais O. Passage of haemolysins through the midgut epithelium of female *Ixodes ricinus* L. fed on rabbits infested or reinfested with ticks. *Experientia* 1984;40:561-3.
53. Tracey-Patte PD, Kemp DH, Johnston LAY. *Boophilus microplus*: Passage of bovine immunoglobulins and albumin across the gut of cattle ticks feeding on normal or vaccinated cattle. *Res Vet Sci* 1987;43:287-90.
54. Ben-Yakir D. Quantitative studies of host immunoglobulin G in the haemolymph of ticks (Acari). *J Med Entomol* 1989;26:243-6.
55. Chinzei Y, Minoura H. Host immunoglobulin titer and antibody activity in haemolymph of the tick, *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). *Med Vet Entomol* 1987;1:409-16.
56. Ramasamy MS, Ramasamy R, Kay BH, Kidson C. Antimosquito antibodies decrease the reproductive capacity of *Aedes aegypti* *Med Vet Entomol* 1988;2:87-93.
57. Azad AF, Emala MA. Suppression of *Rickettsia typhi* transmission in fleas maintained on murine typhus-immune rats. *Am J Trop Med Hyg* 1987;37:629-35.