

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Universidad de La Salle
Facultades de Zootecnia y Medicina Veterinaria

DETERMINACIÓN TAXONÓMICA, ANÁLISIS POBLACIONAL DE ESPECIES PREDOMINANTES DE GARRAPATA Y COMPORTAMIENTO DE LA VACUNA TICKVAC EN CINCO REGIONES GANADERAS DE COLOMBIA

Investigador Principal:

Rafael Ignacio Pareja Mejía, Universidad de La Salle

Co-investigador(es):

Guillermo J. Gómez Jurado, Universidad de La Salle

Investigadores participantes:

Federico Patiño, Universidad de Caldas

Benito Eugenio, Lab LIMOR

Orlando Torres, Universidad Javeriana

Janeth Arias, Universidad Javeriana

Auxiliares de investigación:

Facultad de Zootecnia:

Claudia Delgadillo

Francisco Restrepo

Facultad de Medicina Veterinaria:

Adriana Machado

María Mercedes Casas

Bogotá D.C., Colombia

Resumen

Se realizó un estudio de campo en varias regiones ganaderas de Colombia para evaluar el comportamiento de la vacuna contra garrapatas Tickvac. Fueron seleccionadas haciendas ganaderas en los Llanos Orientales, Costa Atlántica, Risaralda y Santander, con explotaciones de ganado *Bos indicus*, *Bos taurus* y cruces de *Bos taurus* por *Bos indicus*. Se realizaron vacunaciones y revacunaciones a todos los bovinos de las haciendas seleccionadas los días 0, 30, 60 y otra de refuerzo a los seis meses, con 2 ml de la vacuna, vía subcutánea por animal. Se tomaron muestras de teleoginas adultas a los animales que presentaron infestación y de sangre para pruebas de seroconversión al 10 % de los bovinos vacunados en cada hacienda y se siguieron tomando muestras de sangre y de garrapatas bimensualmente. En total fueron vacunados 6204 bovinos y aplicadas 25.000 dosis de la vacuna Tickvac. De 2.304 garrapatas examinadas 2.253 (97.79 %) correspondieron a la especie *Boophilus microplus* (Canestrini) y 51 (2.21 %) fueron identificadas como pertenecientes al *Amblyoma cayennense* (Fabricius). No se encontraron garrapatas pertenecientes a la especie *Dermacentor nitens* (Neuman). Como efecto de la vacunación en las haciendas que recibieron tres vacunaciones se observó una disminución promedio significativa de oviposición del 100 % al 52 % y la eclosión de larvas bajó del 60 % al 7.7 % en 120 días. Se observó una infestación masiva de garrapatas en crías que nacieron durante el desarrollo del proyecto, por consiguiente se aconsejó la vacunación de las crías en las fincas donde se aplicó la vacuna. En las pruebas de seroconversión efectuadas con 1.170 sueros de los bovinos vacunados y utilizando la técnica de ELISA competitiva con una modificación de Criss-Cross se obtuvo un incremento progresivo en la respuesta inmune hasta los 120 días y posteriormente se observó un decrecimiento en el nivel de anticuerpos, por lo cuál se recomendó revacunaciones cada cuatro meses. Se aprecia una correlación en cuanto a la disminución de oviposición y eclosión de las garrapatas respecto al incremento en la respuesta de anticuerpos en los bovinos; además fué altamente significativa la disminución en la aplicación de baños garrapaticidas. A pesar de las dificultades de tipo climatológico y de seguridad en dos de las regiones en estudio, las tendencias de respuesta a la vacunación fueron similares. Se estimó que el ganadero con la disminución en los baños garrapaticidas y combinando con la vacunación con Tickvac puede tener un ahorro de \$5.712 por animal/año sin incluir los consiguientes gastos adicionales relacionados con las movilizaciones y baños del ganado, pérdidas por mortalidad, baja fertilidad, etc. y el uso de medicamentos.

Palabras clave: Garrapatas, bovinos, Vacuna, Antígeno, Anticuerpo y Suero.

Abstract

A field trial was done in several cattle's regions of Colombia, in order to evaluate the performance of the Tickvac vaccine against ticks. Farms were selected in the Western Plains, Atlantic Coast, Risaralda and Santander, breeding *Bos Indicus*, *Bos Taurus* cattle and its crosses. All the bovines were vaccinated and revaccinated in the selected farms on days 0, 30, 60 and reinforcement at six months with 2 centimeters of the Tickvac vaccine subcutaneous to each animal. Adult teleoginas were taken from those animals that presented infestation, and also blood for seroconversion test to a 10th animals in each farm. Samples of ticks and blood were taken bimonthly. Totally 6204 animals were vaccinated and 25.000 doses applied of the Tickvac vaccine. Out of 2304 ticks examined 2.253 (97.79 %) were of the *Boophilus Microplus* specie, and 51 (2.21 %) of the *Amblyoma Cayennense* specie (Fabricius). *Dermacentor Nitens* (Newman) specie was not found. As vaccination's results in farms with three doses, it was observed a significant reduction in the mean of oviposition from 100 % to 52 %, and the larvae eclosion drooped from 60 % to a 7.7 % on day 120. It was observed a massive infestation of larvae in calves born during the project development, due to that, it was recommended to vaccinate whole the newborn calves in the farms where the vaccine has been applied. In the seroconversion test done to 1.170 bovine serums of the vaccinated animals, using the ELISA competitive technique with a Criss-Cross modification, a progressive immune answer increase was obtained until day 120, and then, it was observed a slope down in the antibody levels, which induced to recommend the revaccination each 4 months. It is observed a correlation between the ovoposition and eclosion with the antibodies rising in the vaccinated bovines; even more, it was significant the reduction of baths needs against ticks. Nevertheless the difficulties of security and climatologically type in 2 of the regions under study, the trend of the vaccination answer were similar to the other regions. With the decreasing of the baths needed against ticks, combined with the Tickvac vaccination, the cattlemen can save \$5.800 pesos animal/year, not including the additional fees related with mobilization and baths of the cattle, and losses produced by the mortality, low fertility, etc and use of medicaments.

Key words: Ticks, Bovine, Vaccine, Antigen, Antibodies and Serum.

Índice

1. Introducción	7
2. Materiales y Métodos	10
2.1. Materiales	10
2.1.1. Población de bovinos	10
2.1.2. Fincas	10
2.1.3. Descripción de haciendas, número de animales y razas por región	10
2.1.4. RAZAS	12
2.1.5. VACUNA	12
3. MÉTODOS	14
3.1. Vacunación y Protocolo de toma de muestras	14
3.2. Estudio Taxonómico, de oviposición y eclosión de garrapatas	14
3.3. Estudios de seroconversión mediante la técnica de ELISA	16
3.4. Estudios de Eficacia de la Vacuna Tickvac	17
4. Resultados Generales Taxonómicos, de Oviposición y Eclosión a nivel de campo	18
4.1. Resultados del estudio Taxonómico, oviposición y eclosión de garrapatas	18
4.1.1. Análisis Estadístico	19
4.1.2. Porcentajes de Postura	19
4.1.3. Oviposición	21
4.1.4. Eclosión	22
5. Resultados obtenidos con la técnica de ELISA en los estudios de seroconversión de los sueros procedentes de bovinos vacunados	24
5.1. Estandarización de la Técnica de ELISA	24
5.2. Resultados de Seroconversión en las diferentes regiones ganaderas	25
5.2.1. Región de Llanos Orientales	26
5.2.2. Región de Risaralda	27
5.2.3. Región de Costa Atlántica	27
5.2.4. Región de Santander	28
6. Resultados estadísticos promedio de seroconversión en las diferentes regiones ganaderas	30
6.1. Correlaciones entre los títulos de seroconversión y eclosión	33
7. Resultados de campo como respuesta a la Infestación por garrapatas	34
8. Resultados de la Prueba de Eficacia realizada por el Dr. Patiño	35
8.1. Teleoginas viables	35
8.2. Peso de los huevos	35
8.3. Oviposición	35
8.4. Fertilidad	36

9. Ventajas de tipo económico para los ganaderos	37
10.Resultados indirectos de la investigación	38
11.Conclusiones	39
12.Recomendaciones	41

Índice de cuadros

1.	Distribución de la población bovina incluida en el estudio por región ganadera	10
2.	Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Llanos Orientales	10
3.	Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Santander y Magdalena Medio	11
4.	Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Risaralda . .	11
5.	Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Costa Atlántica	11
6.	Número de garrapatas recolectadas por región	18
7.	Porcentajes de postura observados en las diferentes regiones	20
8.	Resultados de la prueba Chi-cuadrado para diferentes intervalos de días	20
9.	Resultados de huevos por garrapata observados en cada región	21
10.	Resultados de porcentajes de eclosión obtenidos en cada región	22
11.	Descripción del número de sueros trabajados en las diferentes regiones y haciendas para las pruebas de seroconversión mediante ELISA	26
12.	Estadísticos descriptivos de las absorbancias promedio en los diferentes períodos evaluados	30
13.	Coefficiente de variación de las absorbancias promedio según período de evaluación	32
14.	Resultados de teleoginas viables en los grupos evaluados durante la prueba de eficacia	35
15.	Peso de huevos de los grupos de bovinos vacunados y el control	35
16.	Disminución de oviposición por peso de huevos de las teleoginas	36
17.	Porcentaje de fertilidad de huevos de garrapatas	36

Índice de figuras

1.	Hacienda en los Llanos Orientales	12
2.	Ganados Bos Indicus, Bos Taurus y sus cruces	12
3.	Vacuna Tick-Vac	13
4.	Animal Bos Taurus infestado de garrapatas	14
5.	Teleoginas en oviposición	15
6.	Larvas de <i>Boophilus microplus</i> nacidas en el laboratorio	16
7.	Toma de sangre para pruebas de seroconversión	16
8.	Distribución porcentual de garrapatas recolectadas	19
9.	Porcentajes de postura observados en las diferentes regiones durante el periodo de estudio	21
10.	Huevos por garrapata en las diferentes regiones durante el periodo de estudio	22
11.	Porcentajes de eclosión observados en las diferentes regiones	23
12.	Absorbancias obtenidas con sueros Negativos durante la estandarización de la técnica de ELISA.	25
13.	Absorbancias obtenidas con sueros Positivos durante la estandarización de la técnica de ELISA.	25
14.	Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Llanos Orientales	26
15.	Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Risaralda	27
16.	Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Costa Atlántica	28
17.	Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Santander	28
18.	Histogramas correspondientes a los resultados promedio de seroconversión para los diferentes períodos evaluados.	31
19.	Evolución de las absorbancias promedio correspondientes a la seroconversión observada en las diferentes regiones ganaderas	32
20.	Distribución porcentual de seroconversiones negativas, zona gris y positivas en los diferentes períodos evaluados.	33

1. Introducción

Durante muchos años la ganadería colombiana ha tenido como problema grave en las zonas cálidas y templadas del país la presencia permanente de la garrapata *Boophilus microplus* (Canestrini) que se estima afecta al 80% población bovina, ocasionando grandes pérdidas a los ganaderos por la disminución de la producción de leche y carne, daño a las pieles, dificultad en la adaptación de las razas susceptibles, muerte de bovinos, los costos adicionales para controlarla utilizando baños frecuentes con acaricidas y por ser vector de algunas enfermedades que se transmiten con su picadura como son la babesiosis y la anaplasmosis, las cuáles incrementan las pérdidas en sus explotaciones pecuarias. En estudios realizados por Peña y col. (1980) estimaron que el monto combinado de las pérdidas por garrapata y hemoparásitos en el país era de 5.081 millones de pesos por año. Posteriormente en estudios efectuados por Lobo y col. (1982) del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) se estimó que las pérdidas económicas anuales causadas por las garrapatas pueden ser de unos \$ 38.233 millones de pesos atribuidas a la disminución en la producción bovina, enfermedades que transmite mediante su picadura al ganado, o por los baños que se deben realizar para su control. En Colombia se han realizado estudios sobre las especies predominantes de garrapatas en diferentes áreas del país, como los realizados inicialmente por Osorno Meza (1939), después por Betancourt (1973), Piedrahita (1974) y López (1984) quienes los efectuaron en Antioquia, y Hernández (1980) en el Tolima. Estos investigadores encontraron que la garrapata predominante es el *Boophilus microplus* (Canestrini), el *Dermacentor* (*Anocentor nitens*) (Neuman) solamente se encontraba en equinos y reportó la presencia de *Amblyoma cajennense* (Fabricius).⁶ Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos, transmisores de diferentes enfermedades y que atacan tanto a humanos como animales, sin tener un huésped específico. Pertenecen al Phylum Artropoda, Orden Acarina, Familias Ixodidae (de cuerpo duro) y Argasidae (de cuerpo blando). Las Ixodidae poseen un escudo dorsal o escutelo que cubre la superficie completa del macho y solo la parte anterior de la hembra, lo que permite que el abdomen de estas pueda crecer lo suficiente para contener hasta dos centímetros cúbicos de sangre. Su ciclo biológico comprende cuatro fases o etapas que corresponden a: huevo, larva, ninfa y adulta. Pero de acuerdo con el número de animales que requieren para el desarrollo de su ciclo se clasifican en tres tipos: Garrapatas de un solo huésped, que son aquellas que se caracterizan por pasar desde el estado de larva al de adulto sin cambiar de huésped. Garrapatas de dos huéspedes, que son las que cumplen su fase de larva y de ninfa en un mismo huésped, lo abandonan, mudan a su etapa adulta buscan un segundo huésped y completan su ciclo de vida. Garrapatas de tres huéspedes, que se caracterizan porque en cada estado evolutivo abandonan el huésped después de alimentarse, caen al suelo, mudan y parasitan otro huésped hasta culminar su ciclo de vida. (Quiroz, 1994). El ciclo de la garrapata *Boophilus microplus* se puede considerar en dos fases: La fase parasítica que se inicia desde el momento en que la larva infectante se ubica en las partes altas del pasto, alcanza al huésped adecuado y se localiza en sitios preferenciales donde continua su desarrollo hasta llegar a su estado de madurez y reproducción. A la segunda fase se la conoce como fase no parasítica y corresponde al período de vida libre de la garrapata, que se inicia cuando la hembra ha sido fecundada, está repleta de sangre y de deja caer al suelo para la oviposición. (Quiroz, 1994). Se han realizado estudios de la Bioecología de la garrapata *B. microplus* en Colombia. La Bioecología comprende el estudio de las etapas del ciclo vital de las garrapatas y de los factores ambientales que la afectan. López (1983) en El Nus (Antioquia) al estudiar la fase no parasítica del *B. microplus*, encontró

promedios de preoviposición, oviposición, incubación y período adulto larva (PAL) de 4.4 días, 12.5 días, 45.3 días y 71 días respectivamente. Betancourt⁷ (1984) encontró en Turipaná Costa Atlántica) un PAL de 28 a 35 días y supervivencia larvaria (SL) de 29 a 98 días. Tradicionalmente el control de la garrapata se basa en el uso permanente de acaricidas, pero esta práctica además de ser onerosa para los ganaderos, se ha vuelto ineficaz debido a la aparición de garrapatas resistentes a los baños con dichos productos acaricidas. Esta resistencia se atribuye a factores intrínsecos relacionados con el parásito que pueden ser genéticos, ecológicos, comportamiento y fisiología de la plaga, que no están bajo el control del hombre y a factores operativos que se refieren a los que el hombre controla como: elección de los insecticidas, frecuencia de baños, métodos de aplicación, rotación del producto y concentración (Benavides, 1999,2000). Debido a que los acaricidas se consideran insuficientes para controlar el problema en áreas sub-tropical y tropicales del mundo, algunos investigadores de varios países que tienen graves inconvenientes con la garrapata, han enfocado sus esfuerzos en el control biológico de la misma, utilizando vacunas elaboradas a partir de componentes de ácaros adultos. Para el desarrollo de dichas vacunas contra garrapatas, se han estudiado varias proteínas purificadas obtenidas de garrapatas adultas y que demostraron ser efectivas en programas de vacunación. Los primeros antígenos identificados y caracterizados por investigadores australianos fueron el Bm86, aislado por Willadsen y col. (1989), el Bm91 por Riding y col (1994) y el BmA7 aislado por McKenna y col. (1998). Estos tres antígenos fueron obtenidos como glicoproteínas de membrana de garrapatas adultas. El antígeno Bm86 aislado del intestino, el Bm91 de la glándula salivar y del intestino y el BmA7 de diferentes sitios de la garrapata. Los australianos Willadsen y col. (1995), prepararon una vacuna con el antígeno Bm86 que denominaron “TickGard”. Investigadores como Rand y col. (1989), lograron clonar un gen de la proteína Bm86 y recombinarla con plásmidos de la *Escherichia coli*; Turnbull y col. (1990) lograron recombinar el mismo antígeno en un hongo el *Aspergillus nodulans*.⁸ Posteriormente investigadores cubanos como Fragoso y col. (1992), así como Rodríguez y col. (1995), lograron clonar un gen de la proteína Bm86 y recombinarlo en el plásmido de una levadura la *Pichia pastoris*; dichos investigadores prepararon una vacuna y obtuvieron niveles aceptables de protección del ganado contra la garrapata. Otros investigadores cubanos como Canales y col (1997), García-García y col (1998 a, 1998 b) y De la Fuente y col (1998), efectuaron estudios de escalamiento industrial de una vacuna llamada “Gavac”, y con la cuál se obtuvo aceptables resultados de campo para la inmunización del ganado bovino contra la garrapata, en varios países latinoamericanos. Recientemente en estudios realizados en la Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria (EMBRAPA) y la Universidad Federal de Viscosa (UFV) se desarrolló una vacuna sintética contra garrapata, según Vieira (2003) compuesta por una molécula de 43 aminoácidos diferente de la proteína Bm86 que tiene 650 aminoácidos, trabajada por australianos y cubanos. En pruebas realizadas con la vacuna sintética se demostró una eficacia del 82 % frente al 53 % obtenido con las vacunas importadas. En Colombia el Dr. Federico Patiño, MVZ y Docente Parasitólogo de la Universidad de Caldas, realizó estudios de inmunización del ganado con antígenos procedentes del estado larvario de la garrapata y conjuntamente con el Laboratorio Limor, se desarrolló una vacuna con adyuvante oleoso especial y con la cuál se han obtenido resultados promisorios en pruebas de potencia y evaluaciones de campo en el ganado, pero que requieren de mayor estudio en diferentes áreas del país y con distintos tipos de ganado, para confirmar su efectividad como un buen inmunógeno contra la garrapata; de acá la justificación del presente trabajo. Además de los beneficios económicos

que representaría para los ganaderos del país el control de la garrapata con esta vacuna, se lograría un beneficio en salud pública para los consumidores de carne y leche, debido a que estos productos estarían libres de los residuos químicos que se encuentran en los garrapaticidas. Otro aspecto a tener en cuenta, son las perspectivas futuras⁹ que pueda tener Colombia en cuanto al mercado de la carne bovina para todos los países que actualmente la están demandando, cuando se disponga de carne ecológica, libre de toda sustancia residual potencialmente tóxica para el consumo humano como las que contienen los baños garrapaticidas y que con el hecho de reducir y ojalá prescindir de estos baños al poder controlar la garrapata con una vacuna, las perspectivas futuras para la comercialización del ganado colombiano serán muy amplias. Con el objeto de conocer la situación actualizada sobre la presencia de la garrapata en el país y evaluar la vacuna “TickVac”, se planteó la presente propuesta de estudio, considerando que es necesario efectuar evaluaciones de campo en diferentes regiones ganaderas, determinar el grado de protección que pueda conferir al ganado en condiciones naturales, determinar las ventajas económicas que representarían para el ganadero el uso de la vacuna y estimar el tiempo requerido para un control efectivo de la garrapata en las áreas ganaderas del país que sufren este flagelo.

2. Materiales y Métodos

2.1 Materiales

2.1.1 Población de bovinos

El estudio se realizó sobre una población de 6204 bovinos distribuidos en las siguientes zonas ganaderas del país:

Cuadro 1. Distribución de la población bovina incluida en el estudio por región ganadera

Región ganadera	Número de bovinos
Llanos Orientales	2322
Costa Atlántica	1570
Santander y Magdalena Medio	1112
Risaralda	1200
Total	6204

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.

2.1.2 Fincas

Fueron seleccionadas fincas con sistemas de organización que permitieran la identificación de los animales en estudio, con infraestructura, alimentación y manejo adecuado, de manera que no se tuviera variables que afectaran la respuesta del ganado a la vacuna. En general las fincas tienen problemas de infestación alta de garrapatas que obligan a sus propietarios a efectuar baños frecuentes (Cada 15 días o menos) con garrapaticidas, para tratar de disminuir la incidencia del parásito.

2.1.3 Descripción de haciendas, número de animales y razas por región

La distribución de haciendas, número de animales y razas bovinas evaluadas en cada región del estudio se presenta en las Tablas 2 a 5.

Cuadro 2. Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Llanos Orientales

Hacienda	N.º de animales	Razas
Quisqueya		Braunvieh
San Fernando	1942	Brahman
Montecarlo		Jersey y F1
La Esperanza	280	Brahman
La Elsa	100	F1 ganado de leche Holstein x Gyr
Total	2322	

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.

Cuadro 3. Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Santander y Magdalena Medio

Hacienda	N.º de animales	Razas
La Siberia	140	Brahman puro
Montebello	354	Brahman x Simental
San Juan	90	Brahman x Simental
La Ponderosa	128	Brahman
San Lorenzo	400	Beef Master
Total	1112	

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.

Cuadro 4. Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Risaralda

Hacienda	N.º de animales	Razas
Bohemia	320	BON, Brahman, Simental, Holstein y cruces
San Luis	450	F1, Holstein x Cebú, Brahman
La Suiza	300	F1, Simental x Brahman, Brahman
Las Lomas	130	Brahman puro
Total	1200	

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.

Cuadro 5. Descripción de haciendas, número de animales y razas bovinas en Costa Atlántica

Hacienda	N.º de animales	Razas
Tequendama	489	Cruces
La Belleza	455	Cruces
Costa Rica	490	Brahman
La Susanita	136	Brahman
Total	1570	

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.



Figura 1. Hacienda en los Llanos Orientales

2.1.4 RAZAS

En las fincas seleccionadas se trabajó con razas puras de *Bos indicus*, *Bos taurus* y los cruces de estos. Por facilidad de manejo para los ganaderos en cada zona, se vacunaron todos los bovinos presentes en la hacienda y para efectos del estudio no se tuvieron en cuenta los novillos en proceso de ceba.



Figura 2. Ganados *Bos Indicus*, *Bos Taurus* y sus cruces

2.1.5 VACUNA

La vacuna contra garrapata “TICKVAC”, es una vacuna creada por el Dr. Federico Patiño, constituida por una suspensión purificada de antígenos de larvas de garrapata en adyuvante oleoso desarrollada y producida por Laboratorios Limor de Colombia.



Figura 3. Vacuna Tick-Vac

3. MÉTODOS

3.1 Vacunación y Protocolo de toma de muestras

1. **Día 0** – Se realiza una vacunación masiva de todos los bovinos de cada finca, se toman muestras de garrapatas, y sangre al 10 %, a los bovinos seleccionados para realizarles el seguimiento de seroconversión.
2. **A los 30 días** – Se realiza toma de muestras de garrapatas y de sangre a los bovinos en estudio y revacunación de todos los bovinos en cada finca.
3. **A los 60 días** – Se realiza toma de muestras de garrapatas y de sangre a los bovinos en estudio, además revacunación de todos los bovinos en cada finca.
4. **A los 6 meses después de la vacunación de 60 días** – Se toma muestras de garrapatas y de sangre a los bovinos en estudio, además revacunación de todos los bovinos de las fincas.
5. **A partir del día 60** – Se toman muestras de sangre y de garrapatas aproximadamente cada dos meses a los bovinos en estudio en cada finca, que corresponden a los 120, 180 y 270 días de iniciado el estudio.
6. Por efectos prácticos del manejo de los animales, no se dejaron bovinos testigos sin vacunación contra garrapatas.

3.2 Estudio Taxonómico, de oviposición y eclosión de garrapatas

Este estudio fué desarrollado por los estudiantes de Zootecnia, Claudia Delgadillo y Francisco Restrepo, bajo la dirección de los investigadores, quienes para efectuarlo en cada zona y fincas en estudio, tomaron muestras de teleoginas o garrapatas adultas obtenidas de los bovinos más contaminados, para efectuar los estudios de caracterización.



Figura 4. Animal Bos Taurus infestado de garrapatas

Las muestras se colectaron en recipientes plásticos limpios y rotulados, luego se llevaron

al laboratorio de la Universidad para su determinación taxonómica e incubación a 28° C. con humedad relativa del 85 % durante 26 días, para efectuar los análisis estadísticos de frecuencias y determinar los parámetros porcentuales de postura, huevos por garrapata y eclosión observada en cada región en estudio.

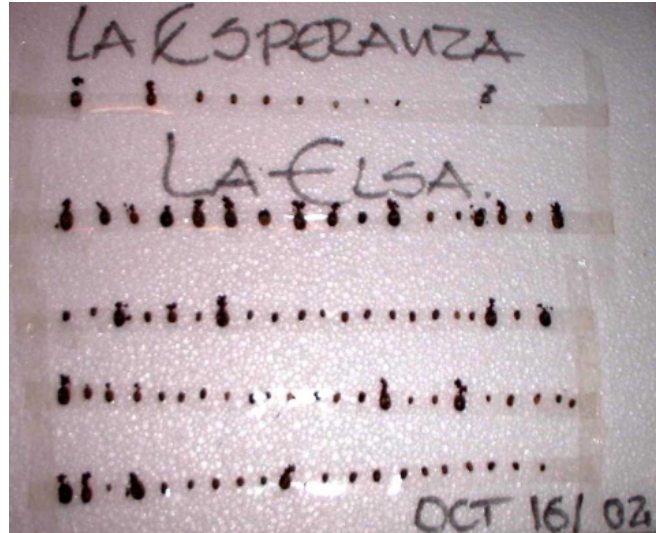


Figura 5. Teleoginas en oviposición

El porcentual de postura se determina estableciendo la diferencia entre el número de garrapatas adultas (teleoginas) colectadas, frente a la cantidad de ellas que tienen postura.

Para determinar el porcentual de oviposición, se establece el peso de huevos de garrapatas; los huevos que son puestos en el lapso de los 26 días de incubación se recogen y se pesan en una balanza electrónica, determinando su número mediante su peso ya que se tiene la referencia de que un gramo equivale a 20.000 huevos.

Respecto a la eclosión o fertilidad, se considera un huevo fértil cuando al terminar los 26 días se transforma en una larva móvil, visible y cuantificable al microscopio estereoscopio, entonces se establece el porcentaje de fertilidad de acuerdo a la cantidad de huevos puestos por las garrapatas.



Figura 6. Larvas de *Boophilus microplus* nacidas en el laboratorio

3.3 Estudios de seroconversión mediante la técnica de ELISA

Debido a que no existía a nivel de laboratorio en Colombia ni en el mundo referencias de técnicas que especifiquen los parámetros dentro de los cuáles se determine la efectividad de ésta vacuna, con relación a los anticuerpos que pueda inducir en los bovinos, se decidió efectuar pruebas serológicas de seroconversión mediante la técnica de ELISA competitiva, con el objeto de determinar la respuesta inmune de los bovinos a la vacuna mediante comparación entre los grupos estudiados por análisis de varianza en cada región.



Figura 7. Toma de sangre para pruebas de seroconversión

Teniendo en cuenta el alto grado de sensibilidad de la técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) competitiva desarrollada por Voller A. y col (1984) y demostrada por McKenna R. et al. (1998) y por Simard C. et al. (2000) en estudios similares con vacunas contra garrapatas, se decidió efectuar las pruebas de evaluación de seroconversión utilizando

esta técnica.

Para nuestra investigación, la técnica de ELISA competitiva mediante una modificación de Criss-Cross por Aubel F.(1991) fué desarrollada y ajustada por las estudiantes de Medicina Veterinaria, Adriana Machicado y María Mercedes Casas bajo la dirección del Dr. Orlando Torres de la Universidad Javeriana, debido a que las características del antígeno de la larva de garrapata y por tratarse de una poliproteína, debe ajustarse tratando de encontrar un umbral cero, a partir del cuál se pueda efectuar una medición comparativa de la seroconversión obtenida con las distintas dosis de vacuna que se aplicaron a los bovinos en estudio.

Inicialmente se propuso con la técnica de ELISA establecer un nivel de Absorbancia que permitiera determinar y diferenciar niveles negativos o positivos de seroconversión por efectos de las dosis vacunales, que una vez ajustado se tuviera mayor certeza sobre los niveles de seroconversión obtenida en los bovinos vacunados.

Después de establecidas las distribuciones de las absorbancias negativas y positivas, se analizaron todos los sueros procedentes de las regiones en estudio y a diferentes períodos de tiempo de recolección.

3.4 Estudios de Eficacia de la Vacuna Tickvac

Como complemento del presente Proyecto, los co-investigadores del Laboratorio Limor, el Dr. Federico Patiño y Benito Eugenio G. realizaron en la Universidad de Caldas, ensayos controlados en bovinos sobre la eficacia de la vacuna, tomando como marco de referencia la aplicación de una fórmula recomendada por la FAO (1994) para la evaluación de estos inmunógenos, utilizando una medición comparativa de cuatro parámetros que corresponden a Teleoginas viables, Peso de los huevos, Oviposición y Fertilidad.

Se tomaron 12 bovinos de raza Normando mestizo, con edad de 10-12 meses y un peso promedio de 180 Kg, sin antecedentes de exposición alguna a infestación por garrapatas, ni ellos ni sus madres. Los bovinos se ubicaron en unidades de aislamiento independientes, provistas de anejo metálico para impedir la entrada o salida de ácaros o insectos; con paredes y piso de cemento. Alimentación con heno de pasto Pangola y Angleton, bloques multinutricionales, sal y agua a voluntad. Para la descarga se utilizó una cepa clasificada como de la especie *Boophilus microplus* (Canestrini), mantenida viable en bovinos susceptibles, con larvas criadas en el laboratorio.

Los bovinos se dividieron en tres grupos de cuatro animales cada uno. El grupo No 1 que corresponde a los cuatro testigos sin vacunación. El grupo No 2 que corresponde a cuatro vacunados con 2 ml de vacuna vía subcutánea y el grupo No 3 a cuatro vacunados con 2 ml vía intramuscular. El calendario de vacunaciones fue a 0 días, 20 días y 60 días.

Para la descarga, en el dorso de cada bovino y con ayuda de un pincel No 3, diariamente y durante 22 días a partir del día 30, fueron colocadas aproximadamente 1.000 larvas de la cepa de referencia, para un total de 22.000 larvas por animal.

La recolección de garrapatas adultas (teleoginas), se realizó a partir del día 76 de la primera vacunación (26 días después de la primera infestación con larvas) hasta el día 100. Las teleoginas que se desprendieron de cada uno de los animales, se recogieron y se mantuvieron en incubadora a 26° C y una humedad relativa del 85 %, para efectuarles las observaciones que corresponden a los cuatro parámetros de eficacia. Resultados que se adjuntan más adelante con los resultados de la prueba a nivel de campo.

4. Resultados Generales Taxonómicos, de Oviposición y Eclosión a nivel de campo

Como se había previsto, fueron aplicadas tres dosis iniciales de vacunación y revacunación a los 0, 30 y 60 días a todos los bovinos de las fincas seleccionadas en cada región y posteriormente a los seis meses se aplicó una dosis de refuerzo a los mismos bovinos, con el objeto de facilitar un incremento de la respuesta inmune contra la garrapata por parte de los bovinos inmunizados.

Se tomaron muestras a los 0, 30 y 60 días y luego aproximadamente cada dos meses de garrapatas a los que presentarían infestación, y de sangre al 10 % los bovinos vacunados en las regiones ganaderas en estudio.

Es de aclarar que en algunos casos no se pudieron tomar muestras oportunamente debido a factores ambientales por inundaciones como sucedió en la Costa Atlántica, o debido a problemas de seguridad en la región de Santander, donde se tuvo dificultades para el acceso a algunas haciendas; por esta razón a pesar de haberse iniciado el programa de vacunaciones, después de los 60 días no se pudo volver a tomar muestras.

Se vacunaron y revacuaron en las cuatro regiones un total de 6.204 bovinos y el Laboratorio Limor entregó unas 26.600 dosis de vacuna, que corresponden a las tres dosis iniciales y la revacunación de los seis meses.

4.1 Resultados del estudio Taxonómico, oviposición y eclosión de garrapatas

Después de analizar 2.304 garrapatas, se encontró que la predominancia taxonómica en las regiones ganaderas estudiadas del país es mayor por parte del *Boophilus microplus* (Canestrini) con 2.253 (97.79 %) sobre el *Amblyoma cayennense* (Fabricius) con 51 (2.21 %) (Encontradas en Santander en la finca Montebello, donde después de la tercera vacunación, solo se habían encontrado de la especie *Boophilus microplus*), en concordancia con los estudios realizados por Betancourt A. et al (1984) en Turipaná y Betancourt A. et al. (1992) en Córdoba y Sucre. No se encontró el *Dermacentor nitens* (Neuman) reportado por otros investigadores.

Cuadro 6. Número de garrapatas recolectadas por región

Región	No. de garrapatas
Llanos Orientales	1176
Santander y Magdalena Medio	473
Risaralda	365
Costa Atlántica	290
Total	2304

Nota. Elaboración propia a partir de los datos del estudio.

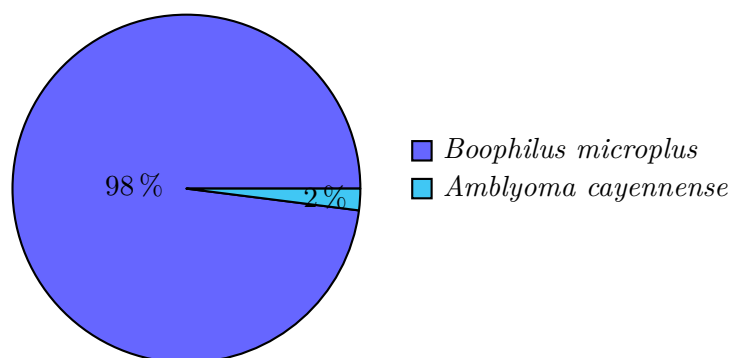


Figura 8. Distribución porcentual de garrapatas recolectadas

4.1.1 Análisis Estadístico

Las pruebas estadísticas realizadas en el estudio de la población de garrapatas fueron: promedios, desviación estándar, coeficiente de varianza y la prueba de Chi cuadrado, esta prueba se realizó por que los resultados obtenidos no permiten hacer pruebas de estadísticas paramétricas, ya que de las desviaciones estándar halladas, algunas son mayores de 30, lo que no permite éste tipo de análisis y obliga el uso de Chi cuadrado.

La prueba de Chi devuelve la prueba de independencia. Devuelve el valor de la distribución Chi cuadrado para la estadística y los grados de libertad apropiados. Esta prueba puede utilizarse para determinar si un experimento se ajusta a los resultados teóricos.

4.1.2 Porcentajes de Postura

La recolección de las garrapatas se realizó en forma directa de los animales vacunados, donde se encontró al principio infestaciones muy altas (80 %) en la mayoría de las haciendas. En la región de los Llanos Orientales en las haciendas Quisqueya y la Elsa, donde se tienen hatos puros de la raza Bos Taurus, Bos Indicus y sus cruces el porcentaje de infestación superaba el 90 %, mientras que en las haciendas donde predominaba el Bos Indicus, la infestación no superaba el 60 %.

En la región de Risaralda en las haciendas La Suiza y San Luis cuyo ganado es un cruce de Bos Indicus x Bos Taurus, la infestación superaba el 80 %, en el resto de las haciendas de esta región la infestación era superior al 60 %. Para la región de Santander se encontró una infestación superior al 85 % y para la Costa Atlántica la infestación fue baja, no superior al 30 %.

Para la segunda vacunación a los 30 días, en la región de los Llanos el porcentaje de infestación siguió siendo más alto en los ganados puros del género Bos Taurus que en los cruces o en los Indicus, con infestaciones del 60 % y menos del 50 % respectivamente, en Santander la infestación se redujo a un 60 %, mientras que en Risaralda, la reducción fue del 40 % en los ganados F1 y en los Indicus subió al 60 %, para la zona de la costa Atlántica el porcentaje de infestación fue del 15 %.

Para la tercera vacunación, o sea a los 60 días de la primera vacuna, el porcentaje subió un 10 % en general en todas las haciendas. Solamente en Santander, en la hacienda Montebello se encontraron 21 garrapatas del género *Amblyoma cayennense* (Fabricius).

Durante las siguientes vacunaciones, el porcentaje de infestación se redujo en forma ostensible en la costa Atlántica 0 %, y en las demás regiones no superó el 20 % de infestación, lo que nos

indica cómo la vacuna actúa gradualmente en la reducción de la población de garrapatas en las diferentes haciendas.

En la Figura No 9 se pueden observar los promedios en las distintas regiones respecto a los porcentajes de postura. En promedio se inicia con un 64.7%, que luego oscila entre el 49.9% a los 30 días y el 81% a los 270 días. La región de los Llanos presenta un porcentaje de postura en promedio más alto que las demás regiones y por el contrario la región de Risaralda, mantiene el promedio más bajo que las otras regiones; llama la atención que todas las regiones presentan un pico mayor en el porcentaje de postura a los 180 días. Se aclara que las garrapatas se tomaron de aquellos bovinos que presentaban infestación y solo de teleginas adultas, en especial eran vacas paridas y en regular estado de carnes.

Cuadro 7. Porcentajes de postura observados en las diferentes regiones

Región	0	30	60	120	180	270	365
Llanos Orientales	51	48	60.2	63.4	83	81.2	88
Santander	81	65.2	64.4	67.2	74.4	71.2	62
Risaralda	78.8	45.8	47.5	56.3	68.9	58.8	0
Costa Atlántica	89.8	40.8	81	0	0	0	0
Promedio	75.2	49.9	63.3	46.7	56.6	52.8	37.5
Desv. estándar	16.8	10.6	13.8	31.5	38.2	36.4	44.6
Coef. var.	22.3	21.2	21.9	67.4	67.4	68.9	118.9

Cuadro 8. Resultados de la prueba Chi-cuadrado para diferentes intervalos de días

Intervalo de días	0-30	30-60	60-120	120-180	180-270	270-365
Estadístico Chi	0.00	0.00005	0.44058	0.02171	0.37736	0.16913
Intervalo acumulado	0-30	0-60	0-120	0-180	0-270	0-365
Estadístico Chi	0.00	0.00001	0.00079	0.00077	0.00006	0.00

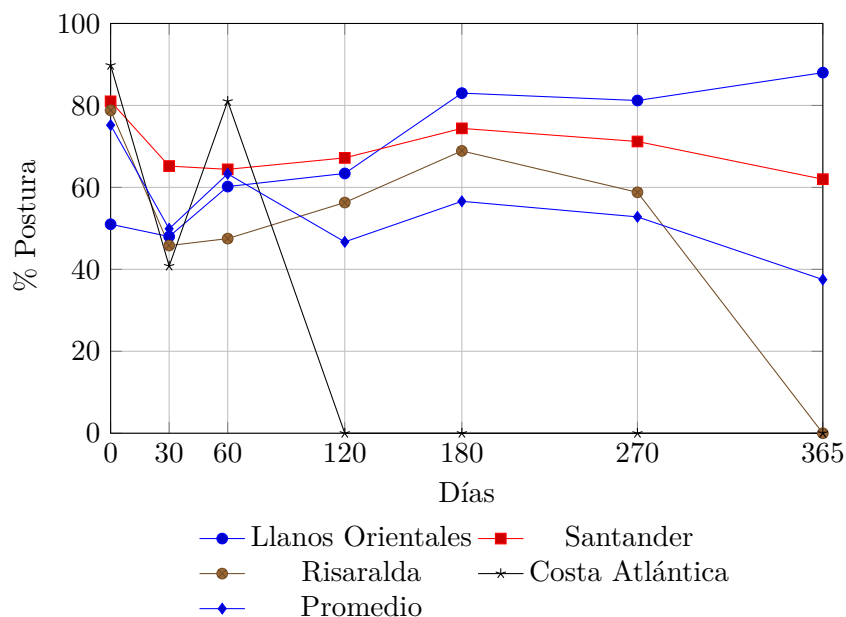


Figura 9. Porcentajes de postura observados en las diferentes regiones durante el periodo de estudio

4.1.3 Oviposición

La Figura No 10 presenta los resultados obtenidos con el número de huevos puestos por las garrapatas en los diferentes períodos. En forma similar a los porcentajes de postura, la región que presenta un mayor número de huevos en promedio por garrapata, es la de los Llanos Orientales, entre 893 promedio a los 0 días y 911 a los 270 días. La que mantiene el promedio más bajo es la de Risaralda con una oscilación entre 668 huevos a 0 días y 588 huevos a los 270 días. Se observa que todas las regiones presentan la menor cantidad de huevos puestos por las garrapatas a los 120 días con un promedio de 450.

Cuadro 9. Resultados de huevos por garrapata observados en cada región

Región	0	30	60	120	180	270	365
Llanos Orientales	802	776	789	848	974	911	771
Santander	1548	728	564	507	700	849	695
Risaralda	668	543	525	444	486	588	498
Costa Atlántica	1021	972	899	0	0	0	0
Promedio	1010	755	694	450	540	587	491
Desv. estándar	335.4	152.7	155.4	301.6	356.4	359.9	300.4
Coef. var.	33.2	20.2	22.4	67.1	66.0	61.3	61.2

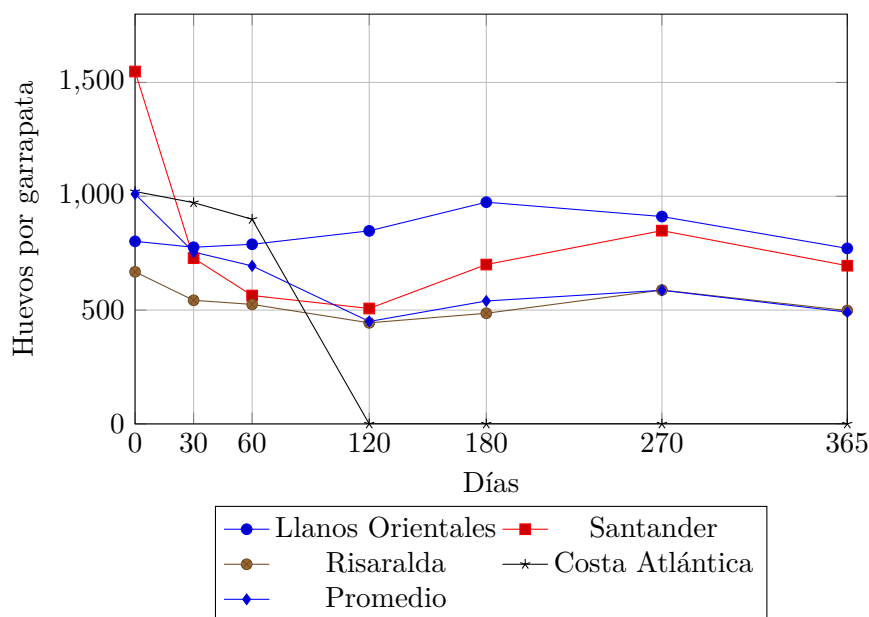


Figura 10. Huevos por garrapata en las diferentes regiones durante el periodo de estudio

4.1.4 Eclosión

Cuadro No 10. Resultados de Porcentajes de Eclosión obtenidos en cada Región. En la Figura No 11 se ven los resultados que se obtuvieron respecto a la eclosión (Fertilidad) de larvas en las diferentes regiones. En promedio se presenta una disminución progresiva de la eclosión del 60 % al día 0, al 7.7 % a los 120 días. En los Llanos Orientales del 53.6 % el día 0, disminuye al 12.2 % a los 120 días. Pero donde es más evidente ésta disminución es en Risaralda, donde del 66.3 % a 0 días, disminuye al 2.0 % a los 120 días.

Cuadro 10. Resultados de porcentajes de eclosión obtenidos en cada región

Región	0	30	60	120	180	270	365
Llanos Orientales	62	53.6	34.8	12.2	66.6	35.8	2.5
Santander	79.4	53.0	34.2	23	47	60.5	14.3
Risaralda	73	41.5	19.3	2	60.5	17.8	3.1
Costa Atlántica	95.8	86.5	67	0	0	0	0
Promedio	77.6	58.7	38.8	9.3	43.5	28.5	5
Desv. estándar	12.2	16.8	17.4	9.2	26.1	22.4	5.5
Coef. var.	15.8	28.6	44.9	98.5	60	78.5	110.6

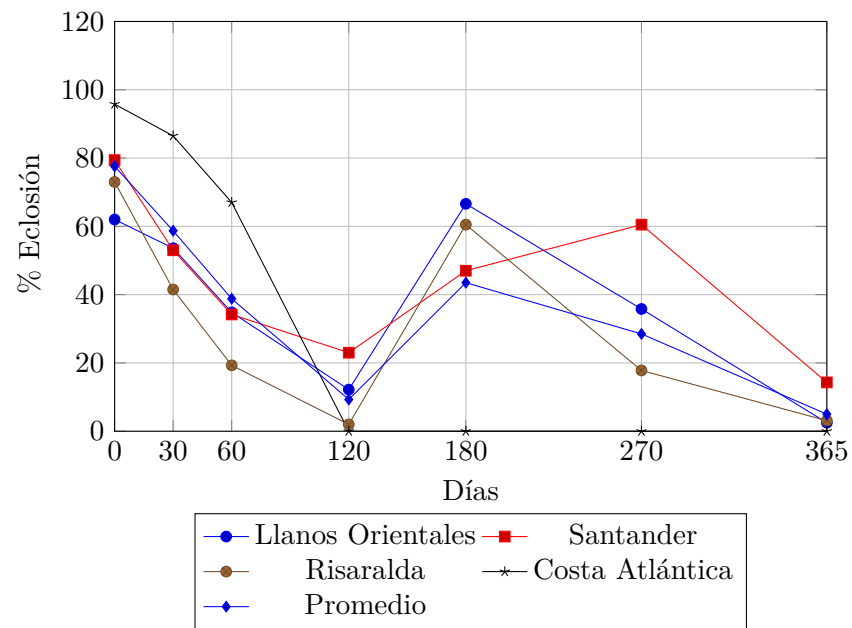


Figura 11. Porcentajes de eclosión observados en las diferentes regiones

5. Resultados obtenidos con la técnica de ELISA en los estudios de seroconversión de los sueros procedentes de bovinos vacunados

Las pruebas de seroconversión se realizaron con el objeto de evaluar, y en lo posible, cuantificar la respuesta inmune de los bovinos vacunados con la vacuna Tickvac después de varias revacunaciones y justificar la necesidad de continuar aplicándola cada seis meses, en forma similar al modelo desarrollado por Floyd R.B., et al.(1995), para evaluar una vacuna australiana contra garrapatas.

5.1 Estandarización de la Técnica de ELISA

Para la estandarización de la técnica de ELISA competitiva, se desarrolló el procedimiento de Criss-Cross propuesto por Ausubel F. (1991) para determinar las concentraciones óptimas de los reactivos utilizados en ésta técnica.

Para el estudio de la Distribución de Absorbancias, se tomaron 20 sueros considerados Negativos de bovinos que nunca habían tenido contacto con garrapatas y 20 sueros positivos obtenidos de bovinos que habían sido vacunados. Se realizó la técnica de ELISA estandarizada y ajustada al antígeno de garrapata y se efectuaron las lecturas a los 15 y 30 minutos para ajustar a un tiempo definido.

Los resultados obtenidos en las pruebas iniciales nos llevaron a las siguientes conclusiones:

a) – La dispersión de los sueros Negativos es menor que la de los Positivos. Es probable que la aplicación de la vacuna ocasiona en los resultados de la Absorbancia una dispersión mayor, en especial por los valores altos, que origina una asimetría positiva en la distribución.

b) - Las Absorbancias medias en los sueros positivos son mayores que en los sueros negativos tanto en las lecturas a 15 minutos como a 30 minutos.

c) - De acuerdo a lo anterior se adopta la media de las Absorbancias con una lectura a los 30 minutos de los sueros positivos, como parte de la estandarización de la técnica de ELISA.

En concordancia con los resultados obtenidos en la etapa de estandarización de la técnica de ELISA y con una lectura a los 30 minutos, se obtuvo una escala de medición de las Absorbancias en diferentes pruebas de laboratorio, se ubicaron los promedios y los límites de confianza del 95 % para determinar las zonas consideradas como de Absorbancias positivas, Absorbancias negativas y una zona intermedia denominada Zona gris.

Los límites correspondientes se obtuvieron mediante la aplicación de dúcimas (Pruebas) en nuestro caso, de positividad y negatividad con los siguientes resultados:

Zona de Absorbancia Negativa: Inferior a 0.523.

Zona Intermedia o Gris: de 0.523 a 0.6729

Zona de Absorbancia Positiva: Superior a 0.673.

Estas Zonas sirven para interpretar los resultados de las muestras que se tomaron en las diferentes regiones ganaderas en estudio.

En la Figura 12 se observan los resultados obtenidos con las Absorbancias que corresponden a los sueros Negativos y en la Figura 13 las Absorbancias correspondientes a los sueros Positivos.

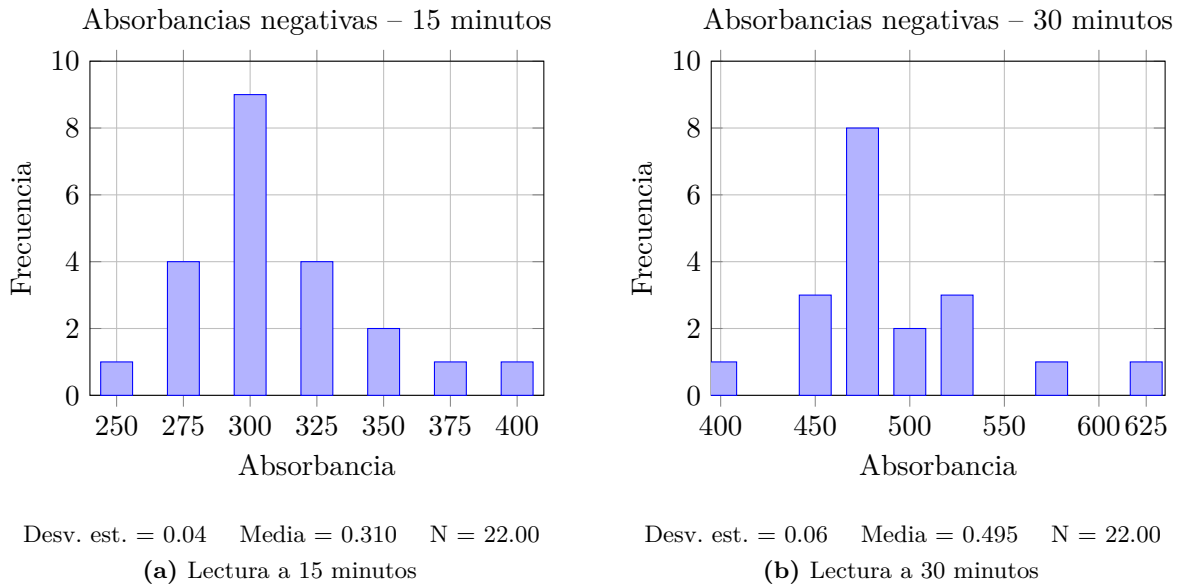


Figura 12. Absorbancias obtenidas con sueros Negativos durante la estandarización de la técnica de ELISA.

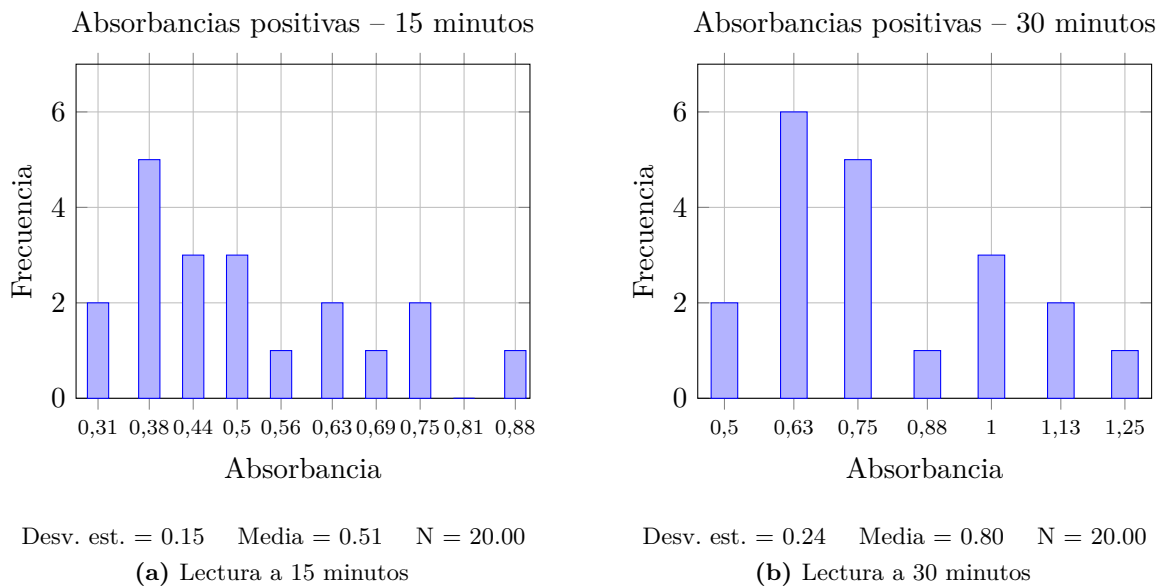


Figura 13. Absorbancias obtenidas con sueros Positivos durante la estandarización de la técnica de ELISA.

5.2 Resultados de Seroconversión en las diferentes regiones ganaderas

En total fueron trabajados en el laboratorio de Inmunología de la Universidad Javeriana 1.770 sueros bovinos procedentes de las diferentes regiones ganaderas del país.

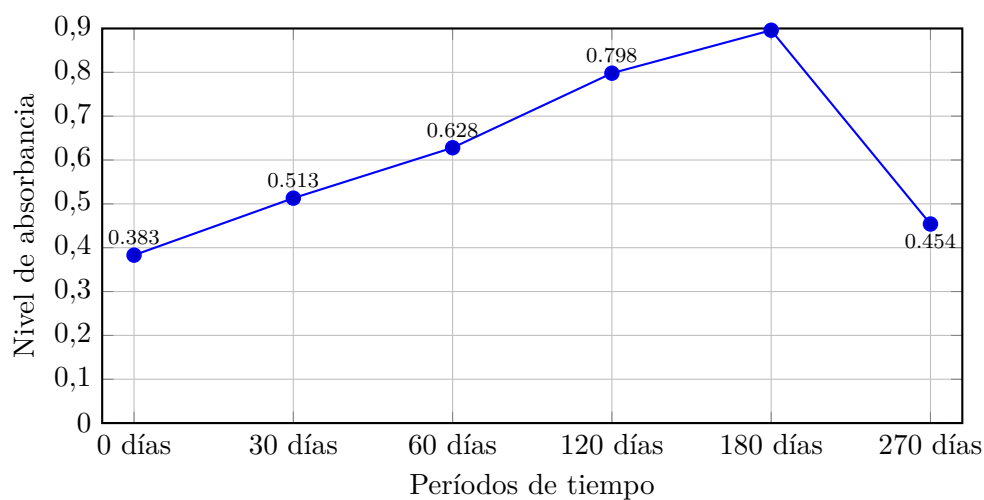
En el Cuadro 11 se describe la cantidad de lecturas de absorbancia que se realizaron a los sueros de los bovinos recolectados en las distintas haciendas y regiones en estudio.

Cuadro 11. Descripción del número de sueros trabajados en las diferentes regiones y haciendas para las pruebas de seroconversión mediante ELISA

Región	Finca	0 días	30 días	60 días	120 días	180 días	270 días
Llanos Orientales	Hacienda Quisqueya	35	36	39	34	39	48
	La Elsa	10	10	9	11	11	9
	San Fernando	51	45	44	51	3	0
	Monte Carlo	28	35	37	40	2	0
	La Esperanza	18	14	2	14	18	16
	Total		142	140	131	150	73
Costa Atlántica	Tequendama	32	22	31	0	31	0
	La Belleza	23	32	21	0	23	0
	Costa Rica	26	27	28	0	28	0
	La Susanita	0	50	0	0	0	0
	Total		81	131	80	0	82
Santander	La Ponderosa	20	22	8	0	21	18
	Montebello	16	7	15	0	0	0
	La Cobra	12	0	9	0	0	0
	La Siberia	5	5	2	0	0	0
	Taguales	7	3	0	0	0	0
	San Juan	4	3	3	0	0	0
	Santa Barbara	5	4	0	0	0	0
	Rio de Oro	4	0	3	0	0	0
	San Lorenzo	0	62	0	0	0	24
	Total		73	106	40	0	21
Risaralda	La Suiza	24	23	23	26	0	22
	San Luis	22	22	21	18	0	17
	Las Lomas	11	12	10	10	0	10
	Bohemia	24	24	27	0	31	27
	Total		81	81	81	54	31
Gran total de sueros		377	458	332	204	207	192

5.2.1 Región de Llanos Orientales

En la Figura 14 se observan los resultados generales obtenidos en las haciendas ganaderas que se trabajaron en los Llanos Orientales y con las muestras de los sueros bovinos recolectadas en diferentes períodos.

**Figura 14.** Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Llanos Orientales

Se observa en promedio un evidente incremento en la respuesta de seroconversión como resultado de las aplicaciones de la vacuna a los 30 y 60 días, el cuál es lento pero progresivo llegando a un tope a los 180 días (0.896) para luego disminuir hacia los 270 días.

Es de destacar que en promedio para las diferentes fincas, el nivel de anticuerpos a 0 días presenta un nivel de absorbancia de 0.383 un poco mayor al de las otras regiones ganaderas, debido probablemente a un contacto más continuo con las garrapatas.

5.2.2 Región de Risaralda

En la Figura 15 se observan los resultados obtenidos con los sueros bovinos de las fincas que corresponden a esta región y recolectadas a diferentes períodos.

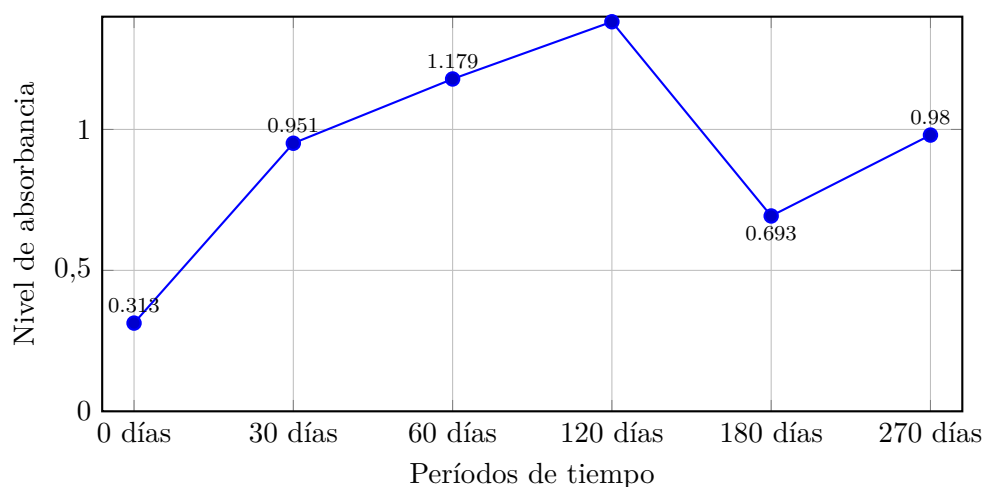


Figura 15. Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Risaralda

La respuesta en la seroconversión con las revacunaciones a 30 y 60 días es mayor que la observada en la región de Llanos Orientales, llegando a un máximo a los 120 días con una absorbancia de 1.382, para luego decrecer a los 180 días, subiendo ligeramente a los 270 días.

En esta región el nivel de anticuerpos, de acuerdo con la absorbancia, es de 0.313 al inicio del estudio, lo que también indica un probable contacto previo de los bovinos con garrapatas.

5.2.3 Región de Costa Atlántica

En la Figura 16 se observan los resultados que se obtuvieron con los sueros bovinos recolectados a diferentes períodos en las haciendas de esta región.

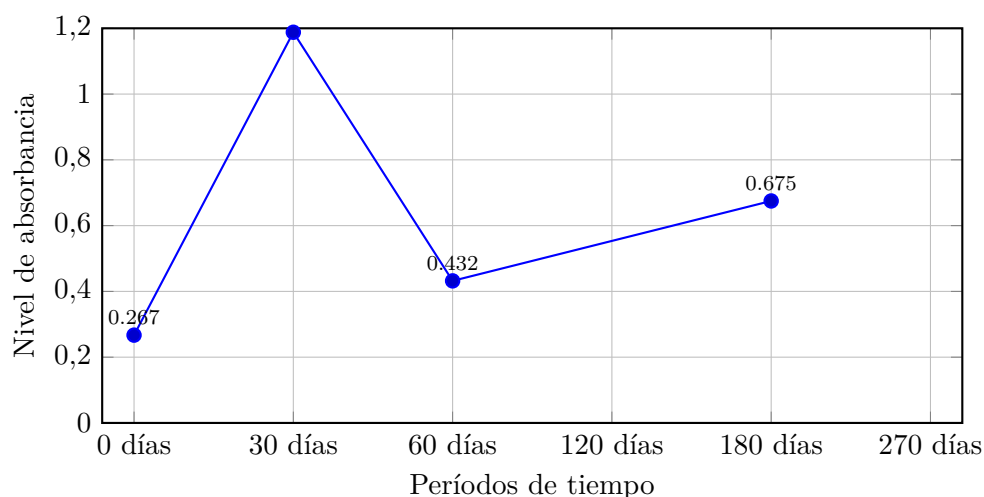


Figura 16. Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Costa Atlántica

Se tiene una respuesta de seroconversión pronunciada con la revacunación a los 30 días para luego disminuir a los 60 días. Para la toma de muestras de sangre de los bovinos a los 120 días se presentaron problemas de inundaciones que impidieron su recolección oportuna en ese período, por lo que dichas muestras fueron obtenidas cerca de los 180 días. A pesar de esto se observa una tendencia de los niveles de absorbancia parecidos a los de las otras regiones.

Se observa que el nivel de anticuerpos con una absorbancia de 0.267 es inferior a 0 días respecto a las regiones anteriores, pero no descarta un contacto previo de los bovinos con las garrapatas.

5.2.4 Región de Santander

En la Figura 17 se puede observar los resultados obtenidos con los sueros bovinos recolectados en las fincas de esta región a diferentes períodos.

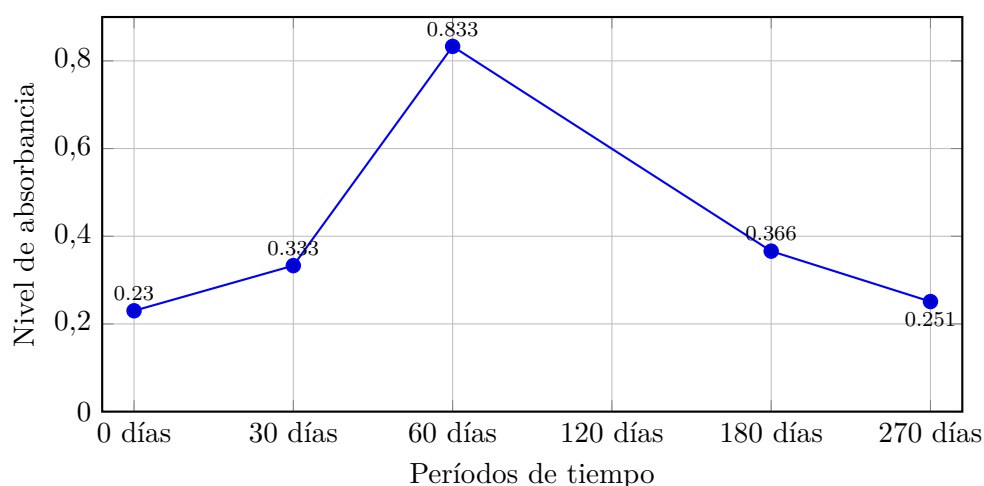


Figura 17. Absorbancia promedio global por dosis de la vacuna Tickvac en la región de Santander

Se observa un incremento progresivo en la seroconversión a los 30 días y un pico de anticuerpos a los 60 días.

En esta región el nivel de anticuerpos a 0 días, de acuerdo con la absorbancia, es de 0.23, que se considera como la más baja de todas las regiones, pero en forma similar a la región anterior, no descarta algún posible contacto de los bovinos con garrapatas.

6. Resultados estadísticos promedio de seroconversión en las diferentes regiones ganaderas

Cuadro 12. Estadísticos descriptivos de las absorbancias promedio en los diferentes períodos evaluados

Período	N válidos	N faltantes	Media	Desviación estándar
0 días	109	72	0.363	0.145
30 días	111	70	0.498	0.161
60 días	116	65	0.624	0.244
120 días	120	61	0.801	0.331
180 días	44	137	0.492	0.160
270 días	48	133	0.424	0.194

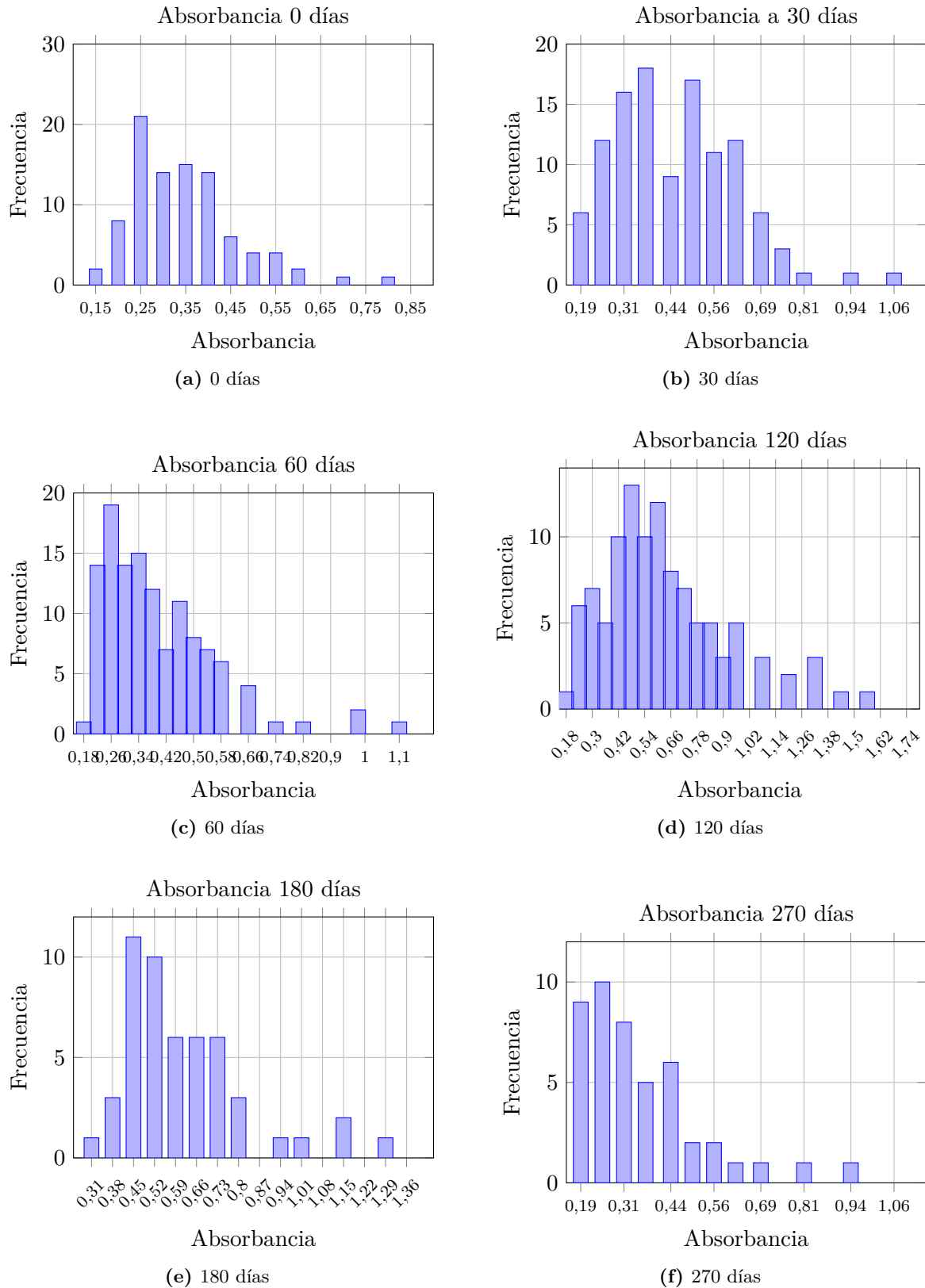


Figura 18. Histogramas correspondientes a los resultados promedio de seroconversión para los diferentes períodos evaluados.

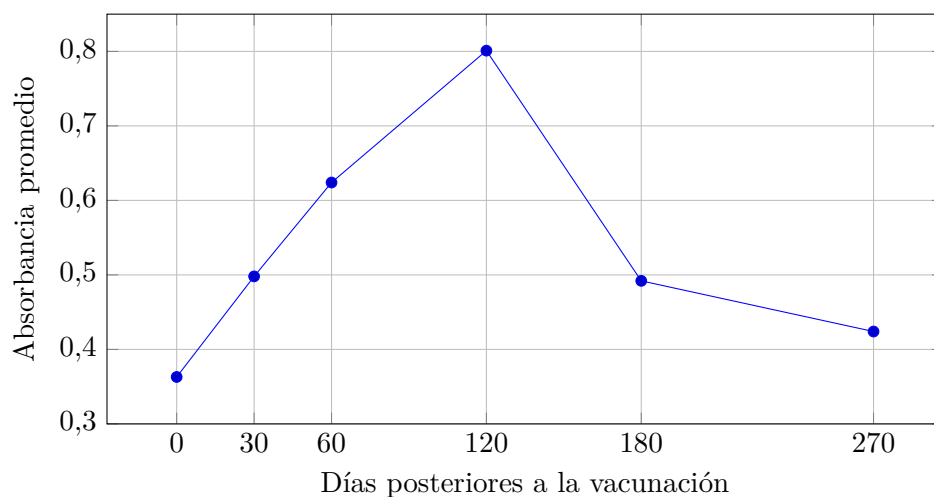


Figura 19. Evolución de las absorbancias promedio correspondientes a la seroconversión observada en las diferentes regiones ganaderas

Cuadro 13. Coeficiente de variación de las absorbancias promedio según período de evaluación

Período	Coeficiente de variación
0 días	39.4 %
30 días	32.4 %
60 días	39.2 %
120 días	41.4 %
180 días	32.5 %
270 días	45.9 %

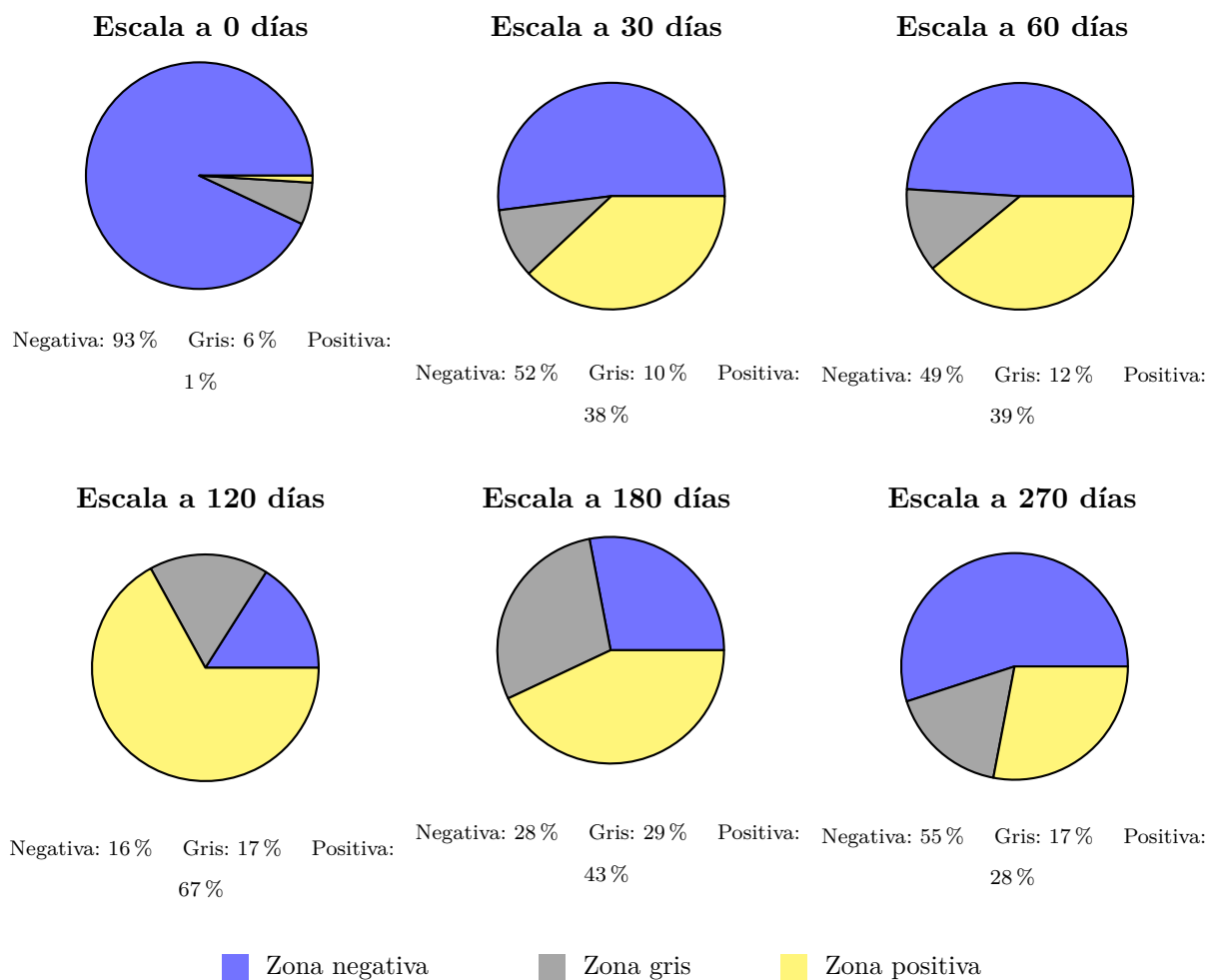


Figura 20. Distribución porcentual de seroconversiones negativas, zona gris y positivas en los diferentes períodos evaluados.

6.1 Correlaciones entre los títulos de seroconversión y eclosión

Se observó una correlación significativa ($P < 0.05$) entre estas dos variables, la cual permite estimar que por cada unidad de aumento en la absorbancia como indicativo del título de anticuerpos, la eclosión se disminuye en un 43.89%. A continuación se presenta la superficie de respuesta lineal entre estas dos variables:

$$Y = 75,64 - 43,89X \quad R = 0,74$$

Donde Y es el % de eclosión y X es la absorbancia.

7. Resultados de campo como respuesta a la Infestación por garrapatas

Cuando se seleccionaron las haciendas de las distintas regiones que participarían en el estudio, la presencia e infestación del ganado por garrapatas era bastante elevada, obligando a un baño frecuente con garrapaticidas por parte de los ganaderos, en algunos casos cada 15 días.

En algunas haciendas cuando se realizó la primera vacunación de 0 días con Tickvac, se observó en los días siguientes una caída de garrapatas, que se supone se presenta por algún factor alérgico.

La aplicación de la vacuna no produjo reacciones colaterales indeseables en ninguno de los bovinos vacunados.

En general la respuesta a la vacuna del ganado fue buena, puesto que después de las revacunaciones se observó poca infestación de garrapata, la fertilidad y eclosión de las garrapatas fue baja, lo que permite suponer un control progresivo de esta plaga en las fincas objeto de vacunación.

Con el ganado de ordeño observamos una resistencia lenta pero progresiva contra garrapata; es factible que estos animales estén sometidos a un estrés lactacional y al constante manejo, lo cual constituye un efecto inmunosupresor.

En general, después de analizar la situación de las haciendas en estudio, consideramos que después de los 18 meses de realizadas estas investigaciones y al aplicar 4 dosis de la vacuna, la población de garrapatas disminuyó considerablemente, ampliándose los intervalos entre los baños, e incluso suspendiéndose en algunas de las haciendas.

La vacuna “TickVac” no se debe considerar como la panacea, ni que mediante ella se tenga una eliminación total de la garrapata en las fincas ganaderas que la utilicen. El mecanismo de acción del producto consiste en que al ser introducidas las proteínas de la larva de la garrapata con la vacuna al bovino, se origina una respuesta de anticuerpos específicos contra dichas proteínas, que al ser ingeridos por las garrapatas al chupar la sangre de los bovinos vacunados, se unen a las proteínas del intestino de la garrapata y le producen lesiones tanto intestinales como del aparato reproductor del ectoparásito. El objeto principal de la vacuna, en consecuencia, no consiste en la muerte inmediata de las garrapatas en una sola generación, sino en su control progresivo en generaciones posteriores y que se puede determinar por una disminución progresiva en la oviposición y fertilidad de las garrapatas. Es importante explicar que el uso de la vacuna debe obedecer a un programa racional y metódico, para controlar la presencia de las garrapatas a mediano o largo plazo, pero sin crear falsas expectativas entre los ganaderos.

8. Resultados de la Prueba de Eficacia realizada por el Dr. Patiño

8.1 Teleoginas viables

Consiste en el recuento total de teleoginas recogidas de los tres grupos, diferenciando entre vivas normales y las muertas o anormales (Idiosoma distendido por hemorragia interna, oscuro o frágil). El resultado se expresa en términos porcentuales como se observa en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Resultados de teleoginas viables en los grupos evaluados durante la prueba de eficacia

Grupo No	Grupo	Total Teleoginas	Normales	Anormales	% Viabilidad	% de Eficacia
1	Control	6347	6347	0	100.00	0.00
2	Vacunado Subcutánea	1856	617	1239	19.53	90.27
3	Vacunado Intramuscular	2211	726	1485	23.40	88.56

Nota. Número de Teleoginas de *B. microplus* colectadas de bovinos vacunados y controles.

Como se observa es significativa la diferencia en los porcentajes de viabilidad de los grupos vacunados respecto al control, siendo en estos del 19.53 % y 23.40 % respectivamente, en comparación del 100 % frente al grupo Control. Al aplicar la fórmula de la FAO se tiene una eficacia de la vacuna del 90.27 % cuando se aplica vía subcutánea y el 88.56 % si se aplica vía intramuscular.

8.2 Peso de los huevos

De acuerdo al modelo establecido para verificar la eficacia de un acaricida sobre el parámetro disminución peso de huevos, se tomaron al azar muestras de 10 teleoginas de cada grupo de bovinos que fueron incubadas en estufa a 28° C y con humedad relativa del 85 %. Los huevos puestos en el lapso de 21 días de incubación y en cada grupo se recogieron y pesaron en una balanza electrónica. Los resultados se observan en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Peso de huevos de los grupos de bovinos vacunados y el control

Grupo No	Grupo	Número de Teleoginas	Peso en gramos de los huevos	Eficacia %
1	Control	10	1.300	0.00
2	Vacunados Subcutáneo	10	0.762	41.38
3	Vacunados Intramuscular	10	0.800	38.46

Nota. Datos obtenidos durante la prueba de eficacia de la vacuna TickVac sobre teleoginas recolectadas en bovinos vacunados y control.

El porcentaje de eficacia de postura calculado según la fórmula de la FAO, se encontró con una disminución porcentual en el peso de los huevos de 41.38 % y 38.46 % al comparar los vacunados respecto al grupo control.

8.3 Oviposición

Se considera como el estimativo del número de huevos puestos por las teleoginas en un período determinado; los huevos se pueden contar individualmente o determinar su número mediante su peso ya que un gramo equivale a 20.000 huevos.

Cuadro 16. Disminución de oviposición por peso de huevos de las teleoginas

Grupo No	Grupo	Total teleoginas recogidas	Teleoginas vivas	Peso en gramos de los huevos	% de postura	% eficacia
1	Control	6347	6347	196.40	100.00	0.00
2	Vacunado Sub.	1856	617	16.85	9.63	90.37
3	Vacunado I.M.	2211	726	18.93	8.57	91.42

Se puede observar que el peso en gramos de los huevos puestos por el total de teleoginas vivas de los grupos vacunados fue inferior al que se obtuvo por el grupo control. En comparación con el grupo Control se obtuvo una reducción de postura de 90.37 % y 91.42 % en los grupos vacunados.

8.4 Fertilidad

Al comparar las larvas de garrapatas procedentes de los bovinos testigos frente a las de los bovinos vacunados y utilizando la fórmula de la FAO, se puede establecer la influencia de la vacuna en la fertilidad de las garrapatas procedentes de los bovinos vacunados. Se considera un huevo viable cuando al término de 26 días se transforma en una larva que sea visible, móvil y cuantificable utilizando el microscopio estereoscópico. Los resultados obtenidos se aprecian en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Porcentaje de fertilidad de huevos de garrapatas

Grupo No	Característica	Peso huevos (g)	No. de larvas vivas	% Fertilidad	% Eficacia
1	Control	196.400	>157.120	>80	0
2	Vacunados Sub.	16.850	<16	<1	>98.75
3	Vacunados I.M.	18.930	<18	<1	>98.75

Se observa que en los dos grupos de huevos recogidos y procedentes de garrapatas de bovinos vacunados, nacieron pocas larvas sin sobrepasar el 1 %. Por el contrario en el grupo Control el porcentaje de eclosión de huevos sobrepasó el 80 %. En consecuencia es factible que la acción de la vacuna en bovinos vacunados permite mantener bajo el nivel de larvas de garrapata.

9. Ventajas de tipo económico para los ganaderos

Los ganaderos siempre buscan el control más eficiente, sin reparar en costos por el problema que representa la infestación de garrapatas en el hato y la disminución en la productividad. Con la utilización de la vacuna, se lograron reducir los baños entre un 50 % y 75 % en el primer año, lo cual podría reducir los costos directos con la utilización de la vacuna en estos mismos porcentajes.

Partiendo de que en las haciendas deben estar bañando contra garrapatas cada 21 días y con un costo aproximado de \$10.712 pesos animal/año y con un costo de vacuna de \$1.000 pesos por dosis, para cada cinco vacunaciones serían \$5.000 pesos, tendría un ahorro por este solo concepto de \$5.712 pesos por animal/año, sin contar costos de movilización del ganado, vaqueros, deterioro de las instalaciones y pérdidas por estrés de manejo, que fácilmente triplican el valor de los baños.

Además se obtienen otros beneficios colaterales como mejoras en fertilidad, ganancia de peso, disminución de mortalidad y menor uso de drogas para corregir enfermedades hemoparasitarias.

La no utilización de acaricidas conlleva un gran impacto ambiental, al disminuir la precipitación de estas sustancias tóxicas al suelo y agua, que en su mayoría no son biodegradables, además del impacto social al no estar contaminando a los humanos con la presencia de residuos en productos y subproductos de los bovinos.

10. Resultados indirectos de la investigación

Destacamos el trabajo y dedicación que tuvieron los estudiantes Claudia Delgadillo y Francisco Restrepo de la Facultad de Zootecnia para el desarrollo de su Tesis de Grado titulada: “Determinación taxonómica y poblacional de las

diferentes especies de garrapatas y efecto económico de la vacuna “Tickvac” en zonas ganaderas de Colombia, con el cual aspiran a graduarse próximamente.

Igualmente las estudiantes Adriana Machicado y María Mercedes Casas de la Facultad de Medicina Veterinaria, quienes desarrollaron su Tesis de Grado titulada “Desarrollo y estandarización de la técnica de ELISA para la detección de anticuerpos con la utilización de la vacuna Tickvac”, se destacaron por su dedicación y entusiasmo en los estudios inmunológicos que realizaron en la Pontificia Universidad Javeriana con los sueros de los bovinos que se evaluaron para este proyecto.

Consideramos que se dieron las condiciones interdisciplinarias al participar con sus Tesis de Grado los estudiantes de Zootecnia y Medicina Veterinaria, así como las interinstitucionales con la participación de la Universidad de La Salle, Universidad Pontificia Javeriana, Universidad de Caldas y el Laboratorio Limor; en general se realizó un gran trabajo en equipo.

11. Conclusiones

1. Se encontró que en las distintas haciendas de las cuatro regiones ganaderas del país en estudio, taxonómicamente predomina la especie de garrapata *Boophilus microplus* (Canestrini) en un 97.79% sobre *Amblyomma cayennense* (Fabricius) con el 2.21%. No se detectó *Dermacentor nitens* (Neuman), reportado en el país por otros investigadores.
2. Los porcentajes de postura de las teleoginas adultas recolectadas en las diferentes regiones se mantuvieron desde el 61.35% a los 0 días, hasta 52.78% a los 270 días. Cuando se tomaron las muestras de garrapatas en cada hacienda se escogieron siempre teleoginas adultas y de gran tamaño con el objeto de determinar su oviposición y medir la consiguiente eclosión para analizar la efectividad de la vacuna en el tiempo.

Como respuesta a la disminución de la población de garrapatas, las muestras que se tomaron correspondían a vacas en regular estado corporal y posiblemente afectadas por inmunosupresión, ya que eran de los pocos animales que presentaban parasitismo.

3. Se presentó una disminución de la oviposición en las diferentes regiones, siendo más evidente a los 120 días. Una teleogina adulta puede producir hasta 3000 huevos en cada postura. En este estudio se observó que partiendo de un promedio de 855 huevos a los 0 días, se redujo hasta 450 huevos a los 120 días (52%) y posteriormente se incrementó ligeramente hasta 587 huevos (68%).
4. En cuanto a la eclosión (fertilidad), se presentó una disminución progresiva en promedio del 60% a los 0 días hasta el 7.7% a los 120 días. Posteriormente se observó un incremento a los 180 días de 63.9%, disminuyendo nuevamente a 35.8% a los 270 días.

Estos resultados sugieren que la producción de anticuerpos inducidos por la vacuna presenta su máximo efecto alrededor de los 120 días, para luego disminuir progresivamente. Esto indicaría que una teleogina adulta que normalmente produciría cerca de 800 larvas viables, podría producir únicamente alrededor de 34 larvas después de la vacunación. Esta observación coincide con la fuerte disminución poblacional de garrapatas observada en las haciendas.

5. La vacunación de las crías en las haciendas se considera un complemento importante para el control de la población de garrapatas, debido a que los animales jóvenes pueden convertirse en vectores de infestación si no se establece una inmunización temprana.
6. En las diferentes haciendas de las regiones estudiadas se evidenció inicialmente una infestación elevada de garrapatas que obligaba a la utilización frecuente de baños garrapaticidas cada 21 días. Después de iniciadas las vacunaciones con Tickvac se observó una notable disminución en la infestación, permitiendo en algunos casos suspender los baños y en otros distanciar su frecuencia hasta en un 70%.
7. Después de varios ensayos por parte de las estudiantes de Medicina Veterinaria se logró la estandarización de la técnica de ELISA competitiva para evaluar los niveles de seroconversión en bovinos vacunados con Tickvac.
8. Mediante las lecturas de absorbancia obtenidas con la técnica de ELISA se observó una respuesta de seroconversión en los bovinos vacunados que se incrementa progresivamente

después de las revacunaciones a los 30 y 60 días, alcanzando su máximo alrededor de los 120 días en las fincas de Risaralda y a los 180 días en los Llanos Orientales.

En las haciendas de Santander y de la Costa Atlántica los resultados presentaron algunas variaciones debido a problemas en la secuencia de toma de muestras, especialmente a los 120 días; sin embargo, también se evidenció una respuesta de seroconversión a los 30 y 60 días.

9. Se determinó que existe una relación inversamente proporcional entre los títulos de seroconversión y los porcentajes de eclosión. A medida que aumenta el título de seroconversión, disminuye el porcentaje de eclosión. Mediante análisis estadístico se estableció que por cada incremento en la absorbancia se produce una reducción del 43.89 % en el porcentaje de eclosión.
10. Todas las haciendas incluidas en el estudio presentaban inicialmente una alta incidencia de infestación por garrapatas, considerada como uno de los principales problemas sanitarios en cada una de ellas.
11. Después de aproximadamente 18 meses de iniciado el estudio y tras la aplicación de 4 a 5 dosis de la vacuna, se observó una disminución sustancial de la población de garrapatas, siendo el programa bien aceptado por los ganaderos.
12. No se observaron reacciones colaterales negativas asociadas con la utilización de la vacuna, tales como anafilaxis, abortos, inflamaciones edematosas o caída del pelo.

12. Recomendaciones

1. El programa de vacunación debe mantenerse de manera continua en cada hacienda. Todos los animales nuevos que ingresen al hato deben ser bañados y vacunados para evitar que se conviertan en vectores de garrapatas. Las crías nacidas en las fincas también deben ser vacunadas para evitar su participación en la dispersión del ectoparásito.
2. De acuerdo con los resultados generales de absorbancia, cuyos títulos de seroconversión disminuyen aproximadamente a los 120 días, se recomienda realizar revacunaciones cada cuatro meses.
3. Se recomienda realizar estudios complementarios para la estandarización de la técnica de ELISA competitiva, de manera que pueda emplearse posteriormente como herramienta diagnóstica para evaluar el estado inmunitario de los bovinos frente a la infestación por garrapatas.
4. Se recomienda continuar con el programa de vacunación en las fincas objeto de estudio, así como con el seguimiento de los niveles de seroconversión y el comportamiento poblacional de las garrapatas, hasta lograr un control racional y sostenible de esta plaga.
5. Es importante que el Estado, a través de sus diferentes entidades, promueva programas de control y erradicación de este problema sanitario en la ganadería, con el fin de reducir el uso indiscriminado de acaricidas contaminantes y facilitar el acceso de los productos pecuarios colombianos a mercados internacionales más exigentes.

Agradecimientos

El Investigador Principal, el Coinvestigador y los estudiantes que participaron en el proyecto manifiestan su agradecimiento a la Universidad de La Salle por su apoyo y colaboración para el desarrollo de esta investigación.

Igualmente se expresa un especial reconocimiento a los directivos del Laboratorio Limor y a la Pontificia Universidad Javeriana por su oportuno apoyo en la ejecución de la técnica de ELISA, así como a la Universidad de Caldas por el desarrollo de las pruebas de eficacia de la vacuna a nivel de laboratorio.

Finalmente se agradece a los ganaderos que participaron en el estudio, quienes colaboraron activamente durante todo el desarrollo del proyecto.

Referencias

- [1] AUSUBEL, F.M. (1991). *Current Protocols in Molecular Biology*. Vol. 2, pp. 11–16.
- [2] BENAVIDES, O.E., ROMERO, N.A., RODRÍGUEZ, B. Situación actual de resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a acaricidas. Carta Fedegán, Vol. 59 (1999), pp. 17–22; Vol. 60 (2000), pp. 13–18; Vol. 61 (2000), pp. 14–24.
- [3] BETANCOURT, A. (1973). Incidencia y distribución de garrapatas de bovinos en algunas áreas de Colombia. Memorias del 7º Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bogotá. p. 52.
- [4] BETANCOURT, A., GARCÍA, O., ROQUEME, L. (1992). Distribución y niveles de infestación por garrapatas en bovinos de Córdoba, Noroeste de Sucre y Noreste de Antioquia. Revista ICA, Vol. 27, pp. 63–76.
- [5] BETANCOURT, A., ROQUEME, L., GARCÍA, O. (1984). Dinámica de población de *Boophilus microplus* en bovinos de Turipaná. XIV Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cartagena.
- [6] CANALES, M., ENRÍQUEZ, A., RAMOS, E., RODRÍGUEZ, M., DE LA FUENTE, J. (1997). Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac against cattle tick. Vaccine, Vol. 15(4), pp. 414–422.
- [7] DE LA FUENTE, J., RODRÍGUEZ, M., REDONDO, M., MONTERO, C. (1998). Field studies and cost-effectiveness analysis of vaccination with Gavac against the cattle tick *Boophilus microplus*. Vaccine, Vol. 16(4), pp. 366–372.
- [8] FAO (1994). *Integrated Control of Tick and Tick-Borne Diseases*.
- [9] FLOID, R.B., SUTHERST, R.W., HUNGERFORD, J. (1995). Modelling the field efficacy of a genetically engineered vaccine against the cattle tick *Boophilus microplus*. International Journal of Parasitology, Vol. 23(3), pp. 285–291.
- [10] FRAGOSO, H., RAD, H., ORTIZ, M., RODRÍGUEZ, M., HERRERA, L. (1992). Protection against *Boophilus annulatus* infestations in cattle vaccinated with *B. microplus* Bm86 containing vaccine Gavac. Vaccine, Vol. 16(20), pp. 1990–1992.
- [11] GARCÍA-GARCÍA, J., MONTERO, C., RODRÍGUEZ, M., VALDÉS, M., DE LA FUENTE, J. (1998). Effect of particulation on the immunogenic and protective properties of the recombinant Bm86 antigen expressed in *Pichia pastoris*. Vaccine, Vol. 16(4), pp. 374–380.
- [12] GARCÍA-GARCÍA, J., SOTO, A., MAZZA, M., DE LA FUENTE, J. (1998). Adjuvant and immunostimulating properties of the recombinant Bm86 protein expressed in *Pichia pastoris*. Vaccine, Vol. 16(9/10), pp. 1053–1055.
- [13] HERNÁNDEZ, L., VALERO, G., MATEUS, G. (1980). Incidencia de garrapatas en bovinos en el Departamento del Tolima. XII Congreso de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Villavicencio.

- [14] LOBO, C.A. (1982). Salud animal y economía pecuaria del país. Primer Simposio Nacional e Internacional de Clínica y Medicina Bovina. ACOVEZ. Bogotá.
- [15] LÓPEZ, G. (1983). Programa Nacional de Parasitología y Entomología Veterinaria. Informe Anual. Instituto Colombiano Agropecuario ICA.
- [16] QUIROZ, H. (1994). *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. UTEHA, México.
- [17] WILLADSEN, P., RIDING, G., McKENNA, R. (1989). Immunologic control of a parasite arthropod. *Journal of Immunology*, 143, pp. 1346–1351.
- [18] WILLADSEN, P., BIRD, P., COBON, G. (1995). Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. *Parasitology*, 110, pp. 43–50.
- [19] WILLADSEN, P., SMITH, D., COBON, G., McKENNA, R. (1996). Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86. *Parasite Immunology*, 18, pp. 241–246.