

TECNICAS DE INVESTIGACION DE GARRAPATAS EN EL LABORATORIO Y EN EL CAMPO

Gustavo López V.

1. LABORATORIO

1.1. TAXONOMIA, MORFOLOGIA, FISILOGIA.

1.2. ESTABLECIMIENTO DE UNA COLONIA DE GARRAPATAS.

El establecimiento de colonias de garrapatas en el laboratorio tiene entre otras finalidades, la de ayudar a una correcta identificación de especies y en todos sus estados evolutivos.

Muchos investigadores, en ausencia de claves regionales, prefieren criar las garrapatas en el laboratorio para compararlas con especímenes previamente identificados y conservados. Infortunadamente no es posible mantener en el laboratorio todas las especies existentes por la diversidad de animales que se requieren.

El establecimiento de colonias de garrapatas se requiere también para determinar su ciclo biológico en el laboratorio y en el campo; para la realización de pruebas con acaricidas; aislamiento y transmisión de microorganismos, y para conservar líneas susceptibles y resistentes a diferentes acaricidas con fines experimentales.

* Médico Veterinario, M.S. Programa de Parasitología y Entomología Veterinarias. Centro Regional de Investigación El Nus, San José del Nus, San Roque, Antioquia.

Para establecer una colonia de Boophilus microplus se requiere tener animales (bovinos) esplenectomizados para obtener mayor número de garrapatas sin acortar el ciclo.

Se recolectan garrapatas adultas y repletas en el área de interés y se dejan en una estufa a 28°C y 80% de Humedad Relativa.

Después de tres semanas se pesan los huevos y se coloca 1 g por vial; 1 g = 20.000 larvas. Las larvas se utilizan entre los 8 a 14 días de edad para infestar los animales.

1.3. AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS.

Es una práctica muy usual, especialmente en los casos de transmisión transovárica, con el objeto de aislar, purificar y preparar vacunas de organismos tales como Babesia sp. En otros casos es necesario aislar microorganismos mediante el cultivo de hemolinfa y órganos internos.

1.4. EXAMEN DE HEMOLINFA.

Los estudios sobre distribución de Boophilus microplus permiten determinar la incidencia de hemoparásitos mediante el examen de la hemolinfa de las hembras adultas y repletas; informaciones recientes indican que los machos de B. microplus también pueden transmitir B. bigemina de un animal a otro.

Para el examen de hemolinfa se toman hembras adultas y llenas y se dejan en incubación a 28°C y 80% de Humedad Relativa por cuatro días para B. bigemina y cinco para B. bovis. El procedimiento es el siguiente :

- .1. Lavar las garrapatas con agua y alcohol
- .2. Cortar los tarsos
- .3. Colocar la hemolinfa en láminas portaobjetos
- .4. Fijar con alcohol metílico por 10 minutos
- .5. Colorear con Giemsa por 45 minutos
- .6. Mirar al microscopio.

1.5. DISECCION DE GARRAPATAS.

La disección de garrapatas es una técnica de mucha importancia, ya que mediante el conocimiento de las estructuras internas facilita los estudios genéticos y permite aislar microorganismos de cualquier órgano y tejido. Las estructuras más visibles son: Cutícula, tejido hipodérmico, tubos de malpighi, intestino, glándulas salivares, útero y piezas bucales.

1.6. SISTEMAS PARA EVALUACION DE ACARICIDAS.

1.6.1. Pruebas sobre Larvas.

Las pruebas sobre larvas más comúnmente usadas, son de dos tipos: 1) Las larvas son sumergidas en una solución de ixodicida, y 2) Las larvas son expuestas en un depósito del ixodicida.

Al primer grupo pertenece la prueba de inmersión (método del emparedado) de Shaw (7) y fue la prueba utilizada en la práctica.

Al segundo grupo, pertenece la técnica en sobres de Stone y Haydock (8) que consiste en colocar 100 a 120 larvas de 7 a 28 días

directamente en sobres confeccionados en papel de filtro (Whatman No. 1 de 11 cm de diámetro), los cuales han sido previamente impregnados en concentraciones conocidas de soluciones oleosas del ixodicida o simplemente en una solución oleosa en el caso de los controles.

Los sobres que contienen las larvas son colocados en una estufa a 30°C y 80 a 90% de Humedad Relativa por 24 horas. Después de este período, los sobres son retirados, se abren y las larvas examinadas; toda larva en la cual se observe algún movimiento es considerada viva. Las larvas vivas y muertas son contadas y se determina su mortalidad.

La diferencia básica entre las dos técnicas (inmersión y sobres impregnados), radica en que en la primera las larvas están en contacto con la solución ixodicida solamente durante la duración de la inmersión (10 minutos), en tanto que en la segunda las larvas están expuestas al ixodicida durante 24 horas.

1.7. PRUEBA DE TELEOGINAS.

Son muy numerosos los sistemas existentes, pero la inmersión total de las teleoginas en diversas concentraciones de la solución ixodicida durante 10 minutos es el más utilizado. Una vez terminada la inmersión, cada teleogina es colocada en una lámina de vidrio con cinta de enmascarar a 28°C y 80% de Humedad Relativa y se observa la oviposición y viabilidad de los huevos.

2. PRUEBAS DE CAMPO

2.1. DISTRIBUCION DE GARRAPATAS.

Una de las actividades más importantes de investigación sobre garrapatas en una determinada región o país, lo constituye el conocimiento exacto de las diferentes especies existentes y su relación con la transmisión de enfermedades.

En términos generales, cuando se desea conocer las especies de garrapatas es necesario dividir la zona de acuerdo a condiciones ecológicas de temperatura, altitud, vegetación, tipo de explotación, teniendo en cuenta todas las especies animales posibles.

Una vez dividida la zona se selecciona al azar el mayor número de fincas posible; de cada finca se seleccionan también 5 o 6 animales de cada especie existente y se hace un muestreo sistemático; es decir, se precisa coleccionar, ojalá, todas las garrapatas existentes y en todos sus estados en razón de la localización preferencial de cada especie y porque pueden existir garrapatas de dos o más huéspedes y sólo se encontrará en un determinado estado evolutivo.

La extracción de garrapatas, se debe hacer con el mayor cuidado, utilizando pinzas especiales para impedir que se deterioren las piezas bucales y no se dificulte su identificación.

Para la recolección es necesario usar frascos de boca ancha de aproximadamente 50 ml de capacidad; como preventivo para garrapatas comunes, actúa muy bien el alcohol etílico al 70% y para las especies ornamentadas tales como Amblyomma que requieren una mayor conservación de los colores, se necesita una solución que contenga una parte de formol al 40%, siete partes de agua saturada con cloroformo. Muchas veces el diseño coloreado de un Amblyomma que

se ha desteñido a causa del efecto prolongado del alcohol, se puede restaurar colocándola en la mezcla de formol y alcohol.

Todas las muestras deben ser identificadas correctamente, haciendo mucho énfasis en el nombre de la finca, especie animal, fecha de recolección, altitud, tipo de vegetación. La identificación así resumida se coloca dentro del frasco que contiene la muestra y por ningún motivo se colocan garrapatas de diferentes animales en una sola muestra.

El muestreo se debe hacer periódicamente porque la población de garrapatas puede variar notoriamente con la época del año. Si bien los resultados de un solo muestreo no son muy confiables para constatar la ausencia de una especie, proporcionan una información muy valiosa porque se detecta la presencia de una determinada garrapata y de este modo se logra la marcación de las áreas en las cuales se ha comprobado la incidencia de la garrapata.

En base a las anteriores apreciaciones se pueden resumir así, los aspectos más sobresalientes sobre la bioecología de Boophilus microplus actualmente en estudio en Colombia.

2.2. INCIDENCIA NATURAL ESTACIONAL.

Para un estudio de esta naturaleza se requiere ubicar animales de una misma raza y edad en altitudes determinadas. Semanalmente se hace recuento en todo el animal de garrapatas adultas de aproximadamente 4,5 mm de longitud. Es necesario hacer diariamente observaciones meteorológicas tales como precipitación, humedad relativa, temperatura media.

2.3. CICLOS NO PARASITICOS.

El ciclo no parasítico de las garrapatas varía considerablemente con las condiciones climáticas y su conocimiento permite mejorar las medidas de control haciendo más racional el uso de los productos químicos.

Se puede determinar el período de preoviposición, oviposición, incubación y longevidad de las larvas para cada región.

Para este estudio se utilizan tubos de malla metálica (No. 60) o de nylon; en cada uno se deposita una garrapata inmediatamente termina su ciclo parasitario y se desprende por sí sola. Generalmente se utiliza un mínimo de 10 garrapatas, debiendo ser colocadas por lo menos cada dos semanas. Es necesario hacer las observaciones meteorológicas como en el caso anterior. Por este sistema se puede determinar el número de generaciones por año.

2.4. PRUEBAS DE CAMPO PARA DETERMINAR LA EFICACIA DE ACARICIDAS.

Estas son indispensables en el desarrollo adecuado de cualquier ixodicida.

A nivel de campo se realizan esencialmente dos tipos de pruebas de eficiencia:

1. Pruebas para determinar la actividad biológica y seguridad de uso.
2. Pruebas para determinar el comportamiento del producto y su formulación bajo los diversos sistemas de aplicación.

2.4.1. Pruebas de Eficiencia - Actividad Biológica.

Estas se pueden catalogar en dos tipos principales: Pruebas cualitativas y Pruebas cuantitativas.

2.4.1.1. Pruebas cualitativas.

En las pruebas cualitativas se pueden mencionar las técnicas descritas por Hitchcock & Mackerras (5), Norris et al (1950) y Quevedo et al (1963), en las cuales en una forma apreciativa determinan la incidencia de larvas, ninfas y adultos sobre los animales antes y después del tratamiento. La de Arnold (1949) sigue un criterio similar pero considerando solamente la incidencia de hembras adultas.

2.4.1.2. Pruebas cuantitativas.

En pruebas cuantitativas se utiliza sólo una pequeña área en una región del animal, normalmente en la región posterior, para determinar la actividad del ixodocida.

La sistemática generalmente seguida en este tipo de prueba es determinar antes del tratamiento el número de todos o algunos de los estados del ciclo de la garrapata en el área escogida y comparar con el número de éstos registrados en conteos sucesivos realizados después del tratamiento. Con este tipo de prueba se pueden mencionar la técnica de Laake (1949) y la de Drummond y colaboradores (3). En esta última técnica, fuera de realizar la observación directa sobre el área escogida, se realizan colectas de metaninfas en otras áreas del animal para observar su capacidad de muda y de teleoginas para observar mortalidad e índice reproductivo.

La técnica de Wharton y colaboradores (11) se basa en la realización de conteos regulares cada segundo día, anteriores y posteriores

al tratamiento, de garrapatas adultas hembras de 4,5 a 8 mm de longitud en el lado derecho de cada animal sobre grupos tratados y controles no tratados. El hecho de contar sólo las hembras que pasan de 4,5 mm de longitud se fundamenta en las observaciones de Wharton y Utech (10), mediante las cuales determinaron qué hembras de este tamaño alcanzan el estado de teleoginas en el curso de 24 horas y por lo tanto, caen antes de la siguiente observación.

3. ECUACIONES UTILES PARA EL CALCULO DE CONCENTRACIONES

3.1. FORMULA PARA CALCULAR LA CANTIDAD DE CONCENTRADO EMULSIONABLE NECESARIA PARA PREPARAR EMULSIONES DE UNA CONCENTRACION DETERMINADA.

$$X = \frac{a}{b} - 1$$

X = Parte de agua que hay que añadir a una parte de concentrado emulsionable.

a = Contenido del producto activo en el concentrado emulsionable en porcentaje.

b = Concentración deseada del preparado final.

Ejemplo: Calcular cuántos litros de agua hay que añadir a 1 L de un concentrado emulsionable de Cumafos al 20% para obtener una solución al 0,05%.

$$\begin{array}{l} a = 20\% \\ b = 0,05 \end{array} \quad X = \frac{20}{0,05} - 1 = 400 - 1 = 399 \text{ litros}$$

3.2. FORMULA PARA CALCULAR LA CANTIDAD DE POLVO HUMECTABLE NECESARIA PARA PREPARAR SUSPENSIONES LISTAS PARA EL USO.

$$X = \frac{a \times b}{c}$$

X = Cantidad requerida de polvo en kg

a = Concentración deseada de la suspensión en porcentaje

b = Cantidad de suspensión, que se desea preparar, en litros

c = Porcentaje del producto activo en el polvo dispersable.

Ejemplo: Cuántos kg de un polvo humectable al 50% hacen falta para preparar un baño de inmersión de 12.000 L, con una concentración al 0,05% de principio activo?

$$a = 0,05 \qquad X = \frac{0,05 \times 12.000}{50} = \frac{60}{5} = 12 \text{ kg}$$

c = 50%

b = 12.000 L

4. METODOS DE APLICACION DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS

Entre los métodos de aplicación de los productos químicos, se pueden mencionar: Aplicación manual experimental; Aplicación mecánica con bomba de espalda, motobomba o mangas de aspersión; Baño de inmersión.

Todos los métodos tienen sus ventajas y desventajas por muchos factores que en ellos influyen. De los ahora conocidos, la Manga de Aspersión es el más usado en la mayoría de las fincas. Los métodos de aspersión son populares y también de uso común.

4.1. BAÑO DE INMERSION.

No hay duda de que el baño de inmersión, por su mojado uniforme y mayor efecto residual, es el más efectivo para el control de cualquier ectoparásito, pero la alta selección animal en la producción lechera, tiende a buscar métodos menos drásticos para que no contrasten con la delicadeza del animal y disminuir las pérdidas por la baja producción transitoria provocada en la vaca después de un baño en tanque de inmersión. De aquí que nuestros ganaderos prefieren las mangas de aspersión. Quizás ésta sea la principal razón para que el más efectivo de los métodos comerciales (baño de inmersión) sea reservado para grandes explotaciones de animales de carne.

4.2. MANGA DE ASPERSION.

Es un método ventajoso, cómodo y económico; en ellas es recolectado el líquido derramado durante la aspersión del animal; colado y mezclado, es devuelto a las boquillas del aspersor. Es un sistema de recirculación.

4.3. MOTOBOMBA.

Este método es muy utilizado. Tiene la ventaja de que existen equipos pequeños y pueden ser trasladados a sitios no transitables para vehículos de motor, pero desafortunadamente tiene la desventaja de que el criador a veces practica el baño sobre animales fuera

de la manga (suelos en corrales, dejando sin humedecer muchas partes del cuerpo del animal).

Cuando se utilizan motores de tractores, la presión alcanza más de 150 lb/pulgadas cuadradas, depositándose poca sustancia entre el pelo del animal, aspecto que se debe considerar como negativo en el control de ectoparásitos.

4.4. BOMBA DE ESPALDA.

El método de aspersión con bomba de espalda (40 libras de p. x pulgada cuadrada) es el que proporciona más bajos resultados y produce menos eficiencia; sólo se usa cuando se trata de muy pocos animales.

4.5. CUIDADOS PARA MEJOR EFECTIVIDAD.

En el baño de inmersión es necesario mantener el insecticida completamente disperso antes de iniciar el baño; hasta ahora, lo más práctico es hacer pasar a 15 o 20 animales a través del baño como "agitadores" y después regresarlos al lote que se tiene por bañar. Lo mejor es hacerlo con un agitador especial que alcanza a remover el sedimento. En la manga de aspersión, los principales cuidados que se deben tener, son:

- .1. Velocidad del animal; no se debe dejar pasar muy rápido.
- .2. Debe haber una persona que durante el tiempo del baño se encargue únicamente de vigilar y destapar las boquillas, el colador del canal de retorno y la maraca del tubo de succión.

4.6. EFECTO RESIDUAL.

Es el tiempo que dura el insecticida sobre el pelo del animal con poder y acción letal contra las larvas de las garrapatas que se adhieren después del baño.

Esto, depende de una serie de factores:

- .1. Concentración del baño
- .2. Depósito de sustancia química acumulada en el pelo
- .3. Epoca del año: Invierno, verano
- .4. Número de baños realizados sobre el mismo animal
- .5. Frecuencia de los baños
- .6. Método de baño utilizado
- .7. Género y especie de ectoparásito combatido
- .8. Elemento activo y composición del producto utilizado
- .9. Emulsificante y fijador del producto utilizado
- .10. Limpieza del baño.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Ent. 18:265-267. 1925.
2. BONIN, W.; HILGNER, W. A new procedure and counting instrument for acaricide test. Bull. Ent. Rec. 63:423-424. 1974.
3. DRUMMOND, R.O.; GRAHAM, O.H.; MELENEY, W.P.; DIAMANT, G. Field tests in Mexico with new insecticides and arsenic for the control of *Boophilus* ticks on cattle. J. Econ. Ent. 57:340-346. 1964.
4. _____; ERNEST, S.E.; TREVIÑO, J.L.; GRAHAM, O.H. Insecticides for control of the cattle tick and the southern cattle tick on cattle. J. Econ. Ent. 61(2) 467-470. 1968.
5. HITCHCOCK, L.F.; MACKERRAS, I.M. The use of DDT in dips to control cattle ticks. J. Coun. Scient. ind. Res. Aus. 20:43-55. 1947.
6. ROULSTON, W.J.; STONE, B.F.; WILSON, J.T.; WHITE, L.I. Chemical control of an organophosphorus and carbamate resistant strain of *Boophilus microplus* (can) from Queensland. Bull. Ent. Res. 58:379-392. 1968.
7. SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (can) and an assessment of its resistance spectrum. Bull. Ent. Res. 56:(3) 389-405. 1966.

8. STONE, B.F.; HAYDOCK, K.P. A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick Boophilus microplus (can). Bull. Ent. Res. 53: 563-578. 1962.
9. TATTERSFIELD, F.; MORRIS, H.M. An apparatus for testing the toxic values of contact insecticides under controlled conditions. Bull. Ent. Res. 14: 223. 1924.
10. WHARTON, R.H.; UTECH, K.B.W. The relation between engorgement and dropping of Boophilus microplus to the assessment of tick numbers on cattle. J. Aust. Ent. Soc. 1970.
11. _____; ROULSTON, W.J.; UTECH, K.B.W.; KERR, J.D. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick Boophilus microplus. Aus. J. Agric. Res. 21: 985-1006. 1970.

