

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
SANTO DOMINGO

TEMA

**“ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN COMPARATIVA DE DOS COMPUESTOS
INMUNOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE GARRAPATAS *Boophilus microplus*
EN BOVINOS BOS TAURUS”**

AUTOR

KARLA AMELIA SOLÓRZANO CAMPUZANO

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

2008

DEDICATORIA

En primera instancia, dedico este trabajo a Dios, ser supremo que me ha dado la vida, voluntad e inteligencia necesaria, para elaborar este trabajo y convertirme en profesional.

A mis padres, Yolanda Campuzano y Víctor Solórzano, a quienes amo con el corazón, que me han brindado su apoyo moral y físico, y el invaluable y desinteresado esfuerzo por sacarme adelante y permitirme que culmine esta etapa tan importante en mi vida.

A mis hermanas, Alison, Nadia y Dhana, quienes han sido una parte fundamental en mi vida, y que de igual forma me han apoyado físicamente en la realización de este trabajo.

A mi querido esposo, Aníbal Rentería, por permitirme compartir esta historia y por el constante apoyo que he podido tener en su compañía.

Este trabajo es en sus nombres

Karla Amelia Solórzano Campuzano.

AGRADECIMIENTO

Escribir esta parte del proyecto, me da la oportunidad de retribuir a todos los que me apoyaron y expresarles mi gratitud por ser parte de mi formación y éxito.

Por eso, agradezco a Dios, que con su infinito amor, me ha sabido conducir hacia la meta final.

A mis padres, que con su esfuerzo y sacrificio, estuvieron siempre prestos a ayudarme durante toda mi vida estudiantil y me apoyaron incondicionalmente en mis ideas y planes.

A mis hermanas que siempre han estado conmigo y han formado parte de mi vida.

A mi esposo, fuente inagotable de apoyo y amor, que colaboró para convertir este sueño de superación en realidad.

Al Ing. Gustavo Valverde y Dr. Gelacio Gómez, por haber aceptado ser mis guías, por su dedicación y por el tiempo brindado para llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. Edwin Orozco, en calidad de coordinador, por su valioso e incondicional apoyo, por su dedicación, por el tiempo brindado y por el aporte de sus conocimientos que han ayudado a desarrollar este trabajo.

Al Crnel. Patricio Jaramillo, ex – administrador de la Hcda. San Antonio, y al personal de la misma, por facilitarme las instalaciones de la hacienda, semovientes, recurso humano y financiamiento parcial para llevar a cabo este trabajo.

A la ESPE, su facultad de Ciencias Agropecuarias, al personal docente y administrativo, por los valiosos conocimientos impartidos.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron para llevar a feliz término esta investigación.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	XIII
INDICE DE ANEXOS.....	XV
I. INTRODUCCIÓN	17
II. REVISIÓN DE LITERATURA	20
GARRAPATAS	20
<u>Morfología, Taxonomía y Biología de las garrapatas</u>	21
Morfología y Taxonomía.....	21
1. <i>Boophilus microplus</i>	23
Biología general.....	24
<u>Transmisión de Enfermedades</u>	26
<u>Sistemas de Control</u>	27
Control químico.....	28
Control no químico.....	28
1. Manejo del pastoreo	28
2. Manejo de los animales	29
3. Ganado resistente	29
4. Hospederos desfavorables	29
5. Vacunación	29
6. Lucha biológica	30
HOMEOPATÍA	30
<u>Origen de los medicamentos homeopáticos</u>	32
Reino vegetal	33
1. Fisiológicos (Sarcodes Vegetales)	33
2. Patológicos (Nosodes)	33
Reino Animal	33
1. Fisiológicos (Sarcodes)	33
2. Patológicos (Nosodes)	33
3. Organoterápicos	35
4. Autoisoterápicos	35
Reino Mineral	35
1. Origen natural	36
2. Origen industrial	36
<u>Mecanismo de acción</u>	36
<u>Vías de administración</u>	36
<u>Ventajas del Medicamento Homeopático</u>	37
INMUNOLOGÍA	37
<u>Inmunidad</u>	37
<u>Defensas Inespecíficas o Mecanismos Innatos</u> 38	
1. Mecanismos innatos externos	38
2. Mecanismos innatos internos	38
- Células asesinas naturales	38
- Interferón	39
- El complemento	39
<u>Defensas Específicas o Mecanismos Adquiridos</u> ...39	
1. Inmunidad humoral	40
- Anticuerpos	41
- Reacción antígeno – anticuerpo.....	41

- Precipitación	42
- Aglutinación	42
- Neutralización	42
- Lisis	43
2. Inmunidad mediada por células	43
- Mecanismo de acción	43
<u>Inmunidad contra los artrópodos</u>	44
Infestación por garrapatas	45
<u>Inmunoestimulación</u>	45
Inmunización pasiva.....	45
Inmunización activa	46
1. Vía intramuscular	46
2. Vía subcutánea o hipodérmica	47
3. Vía oral	47
4. Otras vías de administración	47
PLANTAS MEDICINALES	48
<u>Principio activo</u>	48
<u>Aceites esenciales</u>	49
<u>Extractos vegetales</u>	50
PLANTAS MEDICINALES OBJETO DE ESTUDIO	51
<u>Salvia</u>	51
Clasificación botánica.....	51
Descripción botánica	51
Composición química	52
<u>Artemisa</u>	52
Clasificación botánica	52
Descripción botánica	52
Composición química	53
<u>Tabaco</u>	53
Clasificación botánica	53
Descripción botánica	54
Composición química	54
<u>Guanto Blanco</u>	54
Clasificación botánica	54
Descripción botánica	55
Composición química	55
<u>Eucalipto</u>	55
Clasificación botánica.....	55
Descripción botánica	56
Composición química	56
<u>Jengibre</u>	56
Clasificación botánica	56
Descripción botánica	57
Composición química	57
PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS	57
III. MATERIALES Y MÉTODOS	61
UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	61
UBICACIÓN ECOLÓGICA	61
UBICACIÓN POLÍTICA.....	61
UBICACIÓN GEOGRÁFICA	61

Pesaje de los animales	83
Adaptación de los animales a los establos	83
Recolección de garrapatas	83
Elaboración de compuestos inmunológicos.....	84
Selección de áreas de infestación	84
Aplicación de los tratamientos	84
Descarga de larvas <i>Boophilus microplus</i>	85
Evaluación	85
IV. RESULTADOS.....	86
EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE TELEOGINAS	86
EFECTO SOBRE LA OVIPOSICIÓN	89
EFECTO SOBRE LA ECLOSIÓN DE LOS HUEVOS	89
EFECTO SOBRE EL POTENCIAL REPRODUCTIVO	92
SEROLOGÍA	93
ANÁLISIS ECONÓMICO	94
V. DISCUSIÓN	97
VI. CONCLUSIONES	100
VII. RECOMENDACIONES	103
VIII. RESUMEN	104
IX. SUMMARY.....	106
X. BIBLIOGRAFÍA	108
XI. ANEXOS	115

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Garrapatas que atacan al ganado vacuno.....	22
Cuadro 2. Esquema de análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas.....	77
Cuadro 3. Esquema de análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la eclosión de los huevos colectados de las vaconas sometidas a estudio.....	78
Cuadro 4. Total de teleoginas vivas colectadas en cada uno de los tratamientos bajo estudio. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	86
Cuadro 5. Análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	87
Cuadro 6. Porcentaje de reducción de teleoginas en vaconas Charolais inmunizadas. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	89
Cuadro 7. Reducción de la oviposición en teleoginas de animales inmunizados. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	89
Cuadro 8. Total de larvas, producto de la eclosión de los huevos ovipositados por teleoginas provenientes de vaconas Charolais sometidas a tratamiento. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	90
Cuadro 9. Análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la capacidad reproductiva de <i>Boophilus microplus</i>	90
Cuadro 10. Reducción de la eclosión en huevos de teleoginas colectadas de animales inmunizados. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	92
Cuadro 11. Costos de Formulación de los compuestos inmunológicos NOSOVAC, ECOVAC y TESTIGO, en dólares.....	95
Cuadro 12. Ganancia de peso (lb) y utilidades por tratamiento.....	95

Cuadro 13. Proyección anual de costos para la aplicación y uso de NOSOVAC, ECOVAC y TESTIGO.....	96
Cuadro 14. Reducción Promedio en Número y Capacidad Reproductiva de garrapatas en vaconas Charolais inmunizadas con ECOVAC y NOSOVAC.....	98
Figura 1. Ciclo biológico de <i>Boophilus spp.</i>	25
Figura 2. Complejo antígeno – anticuerpo.....	42
Figura 3. Esquema de los resultados de una cromatografía en capa fina y cálculo del Rf.....	60
Figura 4. Diagrama para la preparación de tintura madre de artemisa.....	66
Figura 5. Diagrama para la preparación de tintura madre de guanto.....	67
Figura 6. Diagrama para la extracción de aceite esencial de guanto.....	67
Figura 7. Diagrama para la preparación de tintura madre de tabaco.....	68
Figura 8. Diagrama para la extracción de aceite esencial de salvia	69
Figura 9. Diagrama para la extracción de aceite esencial de eucalipto.....	70
Figura 10. Diagrama para la extracción de aceite esencial de jengibre.....	71
Figura 11. Esquema del diseño experimental para número de garrapatas.....	76
Figura 12. Esquema del diseño experimental para capacidad reproductiva.....	77
Figura 13. Índice de inhibición de la reproducción en garrapatas producidas por vaconas inmunizadas con los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.	93
Figura 14. Promedio de linfocitos, en vaconas inmunizadas y no inmunizadas Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	94

INDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO N° 1. Vegetales empleados en la obtención de extractos y tinturas.....	115
ANEXO N° 2. Proceso de obtención de aceites esenciales.....	117
ANEXO N° 3. Características Cromatográficas de Plantas Medicinales Objeto de Estudio	120
ANEXO N° 4. Proceso de elaboración de tintura madre de garrapata.....	121
ANEXO N° 5. Manejo del experimento	123
ANEXO N° 6. Número de Teleoginas Colectadas después de los tratamientos con ECOVAC, NOSOVAC y testigo.....	125
ANEXO N° 7. Oviposición de las Teleoginas Colectadas después de los tratamientos con ECOVAC, NOSOVAC y testigo. (Peso en gramos).....	126
ANEXO N° 8. Eclosión de los Huevos colectados de Teleoginas provenientes.. de vaconas inmunizadas	127
ANEXO N° 9. Examen Hematológico – Laboratorio Clínico Automatizado “Dr. Edwin Orozco”.....	128
ANEXO N° 10. Pesos iniciales y finales en kilogramos de las vaconas sometidas al ensayo.....	129
ANEXO N° 11. Cálculo de Parámetros de Evaluación.....	130
ANEXO N° 12. Análisis de Varianza para número de garrapatas, en vaconas Charolais. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	133
ANEXO N° 13. Análisis Funcional (Rango Múltiple de Duncan al 5%) para número de garrapatas, en vaconas Charolais. Santo Domingo de los Tsáchilas – Santo Domingo, 2008.....	135
ANEXO N° 14. Análisis de Varianza para reducción de la eclosión, en huevos de teleoginas colectadas de vaconas Charolais inmunizadas. Santo D o m i n g o – S a n t o D o m i n g o d e l o s Tsáchilas, 2008.....	136

ANEXO N° 15. Análisis Funcional (Rango Múltiple de Duncan al 5%) para reducción de la eclosión, en huevos de teleoginas colectadas de vaconas Charolais inmunizadas. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.....	137
ANEXO N° 16. Costos de producción de 100 ml de los compuestos inmunológicos N O S O V A C , E C O V A C y T E S T I G O , expresado en dólares.....	138

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro país, y en el resto de zonas tropicales y subtropicales del mundo, la actividad ganadera se ve influenciada por un sinnúmero de factores, tanto de carácter climático como por enfermedades y parásitos, que reducen considerablemente la producción y fecundidad de los animales domésticos, pilastra fundamental del sustento nutricional y económico de varios países como el nuestro.

Uno de los principales parásitos que afecta a la industria ganadera en Sudamérica es la garrapata, cuyos daños son devastadores; ya sea por su acción hematófaga, por la que al chupar gran cantidad de sangre de sus hospedadores ocasionan anemia y por ende disminución del desarrollo corporal, de la producción láctea, de la producción de carne, bajo rendimiento en el trabajo, bajo índice de fecundidad y una grave predisposición a enfermedades infecciosas. Ya sea por su acción expoliatriz, provocando graves daños a las pieles por lo cual pierden mucho su valor; a la vez que abren puertas de entrada para agentes infecciosos y miasis, ya sea por su papel de vectores transmisores de microorganismos infecciosos y parásitos hematófagos como por ej: Rickettsias, Pausterellas, Teilerias, Spiroquetas, Anaplasmas, Tripanosomas, etc; o a los trastornos sistémicos producidos por las toxinas que inoculan al ganado y a la debilidad que producen en sus huéspedes.

Así, es como se ha llegado a determinar la importancia económica que representa la garrapata en la ganadería, de allí que, Horn, citado por Rodríguez (2000), indica que en 1982, fallecieron en Brasil 2,5 millones de cabezas de ganado bovino, lo cual representó la

pérdida de 75 millones de kilogramos de carne, 1.5 billones de litros de leche, 8.6 millones de dólares por daños secundarios, y 25 millones de dólares en acaricidas químicos para combatir las infestaciones por garrapatas. Mientras que Willadsen y Kemp citados por Rodríguez (2000), indican que en Sudamérica, las pérdidas en la producción ganadera a causa de las garrapatas se estiman en mil millones de dólares anuales.

Se deduce entonces, el gravísimo perjuicio económico, sanitario y zootécnico que representa este flagelo en la ganadería en general, obstaculizando su buen aprovechamiento pecuniario, el mejoramiento, el desarrollo de la ganadería y el incremento de razas puras y mejoradas.

Consciente de este peligroso problema y conocedora de que el método habitual y más práctico para el control de los parásitos en mención, es la aplicación de acaricidas químicos, práctica que en la actualidad presenta varias desventajas, entre las cuales la más importante es la creciente aparición de poblaciones de garrapatas resistentes al efecto tóxico de las sustancias químicas, lo que muestra un futuro poco alentador para este tipo de control.

Es entonces por lo que hemos creído necesario estudiar una alternativa de control no química (homeopatía), con la que se pretende generar una respuesta inmunológica sobre los bovinos inmunizados y adicionalmente contrarrestar el daño provocado por los acaricidas químicos, propendiendo hacia el equilibrio armónico en las relaciones suelo – planta – animal – hombre, y además, lograr un control efectivo de las garrapatas en el ganado bovino orgánicamente, ya que en la actualidad las exigencias del mercado internacional obligan a los productores a cambiar el sistema de manejo tradicional a un sistema de producción orgánica.

Para llevar a cabo el trabajo y con la intención de dar comienzo a investigaciones similares, se eligió la zona de Santo Domingo, región progresista y ganadera. En la Hcda. San Antonio, se prepararon dos compuestos inmunológicos partiendo del principio homeopático y se aplicaron en forma inyectable a 6 vaconas Charolais seleccionadas para tal actividad, repitiéndose la vacunación cada 15 días; posteriormente se inocularon larvas de garrapatas y transcurridos 21 días se recogieron las garrapatas repletas que cayeron de las vaconas del estudio al suelo, las muestras obtenidas fueron llevadas al laboratorio para evaluar la respuesta de esta plaga a la acción de los compuestos inmunológicos.

El objetivo de esta investigación, es elaborar dos compuestos inmunológicos y evaluar el efecto de su aplicación en el control de garrapatas *Boophilus microplus* en bovinos *Bos taurus*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. GARRAPATAS

Jensen y Mackey (s.f.), indican que las garrapatas son artrópodos arácnidos de extensa distribución, que tienen importancia tanto en el aspecto económico como en la sanidad humana y animal. Y se constituyen según López (1998), en un factor limitante en el desarrollo del proceso ganadero, especialmente en países de clima cálido tropical y subtropical.

Steelman, citado por Hardwood y James (1987), sostiene, que las garrapatas afectan principalmente al ganado para carne y que las pérdidas calculadas para Australia son de 25 millones de dólares anuales y para EEUU, en 1965, se estimaron en 60 millones de dólares anuales para ganado vacuno.

Boero (s.f.), dice además, que las garrapatas presentan aptitudes como vectores de la gran mayoría de rickettsias patógenas, de las borreliosis, piroplasmosis, theileriosis, anaplasmosis y enfermedades por virus.

Jensen y Mackey (s.f) mencionan que el daño que causan las garrapatas a los bovinos varía en la mayoría de los casos según el número de parásitos, en animales severamente infestados ocurren casos de anemia y pérdida de peso. A más de esto, algunas hembras generan una toxina paralizante y otras, debido a su residencia en el conducto auditivo, producen molestias en los animales hospederos.

2.1.1. Morfología, Taxonomía y Biología de las garrapatas

2.1.1.1. Morfología y Taxonomía

Drugueri (2004), indica que la taxonomía es un requisito indispensable para el control de las garrapatas; por ello para su estudio se las divide en dos familias, la Ixodidae y Argasidae, con características morfológicas propias.

Boero (s.f.) afirma que, la familia IXODIDAE, o garrapatas duras, se fijan a su huésped por períodos prolongados de tiempo, poseen escudo dorsal y dimorfismo sexual muy acentuado. El macho presenta el dorso completamente cubierto por el escudo mientras que la hembra lo cubre parcialmente. La familia Ixodidae es la más importante en la ganadería, por la transmisión de anaplasmosis y babesiosis. Y está representada por los géneros *Amblyomma*, *Boophilus*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus*.

La familia ARGASIDAE, o garrapatas blandas, según Hardwood y James (1987) son ectoparásitos carentes de escudo y colorido, se alimentan principalmente en la noche y durante períodos de tiempo muy cortos, su dimorfismo sexual es poco acentuado y solo evidente en las aberturas genitales. Esta familia posee prosoma, palpos e hipostoma subterminales o ventrales. Y se encuentra representada por los géneros *Antricola*, *Argas*, *Ornithodoros* y *Otobius*.

Jensen y Mackey (s.f) indican que las garrapatas que atacan al ganado vacuno son las siguientes:

Cuadro. 1. Garrapatas que atacan al ganado vacuno.

Familias	Garrapata	Nombre Vulgar	Enfermedades relacionadas con las garrapatas
Argásidos (garrapatas blandas)	<i>Ornithodoros coriaceus</i>	Garrapata del pajaroello	Transmite el agente de aborto epizootico bovino en las novillas de primer parto.
	<i>Otobius megnini</i>	Garrapata espinosa de las orejas	Otitis, fiebre Q, sospechas de ántrax.
Ixódidos (garrapatas duras)	<i>Amblyomma maculatum</i>	Garrapata de la costa del Golfo	Infección de los oídos medio e interno.
	<i>Amblyomma americanum</i>	Garrapata de una sola estrella	Fiebre Q, tularemia, parálisis por garrapatas
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Garrapata de Cayena	Infestación difusa
	<i>Boophilus annulatus</i>	Garrapata de América del Norte	Babesiosis y anaplasmosis
	<i>Boophilus microplus</i>	Garrapata tropical del ganado vacuno	Babesiosis y anaplasmosis
	<i>Dermacentor andersoni</i>	Garrapata de las Montañas Rocosas	Parálisis por garrapatas, tularemia, fiebre Q, y virus de la garrapata de Colorado.
	<i>Dermacentor albipictus</i>	Garrapata de invierno	Puede ser vector de anaplasmosis
	<i>Dermacentor nigrolineatus</i>	Garrapata parda invernal	Anaplasmosis
	<i>Ixodes scapularis</i>	Garrapata de patas negras	Transmisión de <i>Babesia microti</i> en el hombre
	<i>Ixodes pacificus</i>	Garrapata de patas negras de California	Enfermedad de Lyme y fiebre manchada de las Montañas Rocosas.
<i>Ixodes dammini</i>	Garrapata del ciervo	Vector de la enfermedad de Lyme.	

Fuente: Jensen y Mackey (s.f). Enfermedades de los bovinos en los corrales de engorda.

De entre ellas, según el estudio desarrollado por Albán (1966), en la zona de Santo Domingo, imperan condiciones climáticas y fitogeográficas favorables

para el desarrollo de las especies de garrapatas *Boophilus microplus* y *Amblyomma cajennense* que ataca a equinos principalmente.

1. *Boophilus microplus*

Según Drugueri (2004), taxonómicamente se puede clasificar a la garrapata del ganado bovino de la siguiente manera:

Reino: Animal

Subreino: Metazoarios

Phylum: Arthropoda

Clase: Arácnida

Orden: Acarina

Familia: Ixodidae

Género: *Boophilus*

Especie: *microplus*

Canestini citado por Soulsby (1987), indica que *Boophilus* es un ectoparásito tropical del ganado vacuno, propio de Australia, Indias occidentales, México, América central, Sudamérica, Asia y República de Sudáfrica. El hospedador primario es el ganado vacuno, pero también se ha encontrado en caballos, cabras, ovejas y ciervos.

Morfológicamente Curtice, citado por Soulsby (1987) menciona que las hembras de este género carecen de surco anal y el macho lo presenta

muy tenue. Sin ornamentación y con ojos; carecen de festones. El hipostoma y los palpos son cortos, mostrando estos últimos pliegues transversales prominentes. Los machos son pequeños y están provistos de escudos o accesorios adanales y de un proceso caudal. Presentan cuatro pares de patas de tamaño normal.

2.1.1.2. Biología general

Drugueri (2004), afirma que todas las garrapatas son parásitos hematófagos, y de acuerdo a ello, presenta diferencias en función de la familia a la que pertenecen.

Según Boero (s.f), los Ixódidos son considerados, el tipo más evolucionado de garrapata, ya que tienen un ciclo de vida más breve que los argásidos, están sometidas a mayores pérdidas en la naturaleza y su actividad parasitaria es específica y constante.

Los autores anteriores, también mencionan, que los ciclos de vida de la garrapata varían de acuerdo a la especie, pero en forma general comprenden cuatro estadios: el huevo, la larva, la ninfa y los adultos. El ciclo de vida de la garrapata *Boophilus spp.* se cumple de la siguiente forma:

- Las larvas nacen de los huevos puestos en el suelo de los potreros hace seis u ocho semanas. Siete a diez días más tarde trepan a las hojas de los pastos en busca de su huésped

- Las larvas se fijan al huésped y engordan a expensas de su sangre. Posteriormente mudan y las ninfas que emergen se alimentan de sangre por cinco a seis días.

- Las ninfas repletas mudan durante dos días y de allí emergen adultos, machos y hembras. La fertilización se lleva a cabo y luego la hembra realiza una abundante ingestión de sangre.

- La hembra repleta cae al suelo veinte o más días después de haberse fijado como larva y busca un lugar adecuado para poner sus huevos. Cada hembra pone aproximadamente 2000 huevos en un rincón húmedo en el suelo de los potreros.

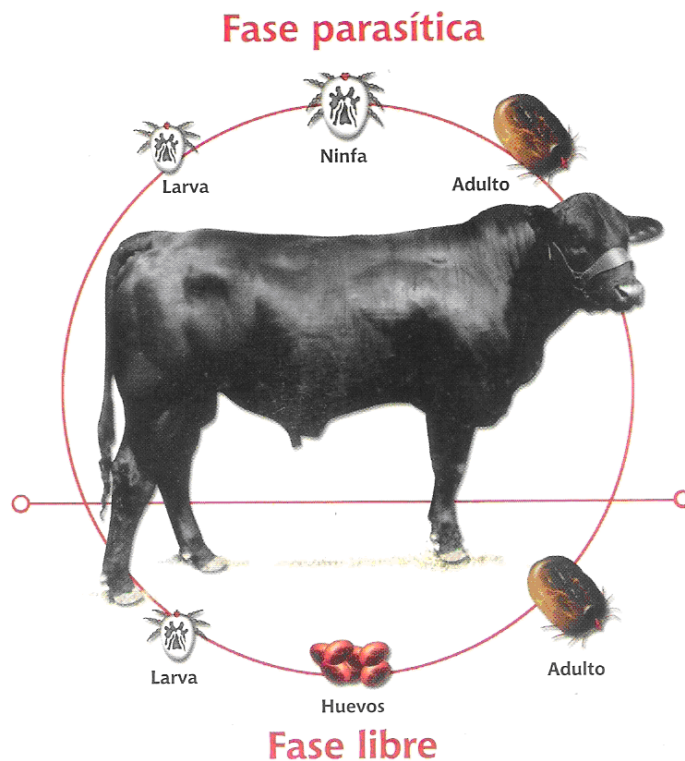


Figura. 1. Ciclo biológico de *Boophilus* spp.

Canestini, citado por Soulsby (1987), indica que el ciclo biológico de *Boophilus microplus* es el siguiente:

Puesta de la hembra	4400 huevos
Período de preoviposición	2 – 39 días
Período de oviposición	4 – 44 días
Eclosión de la larva	14 – 146 días
Período que parasita al hospedador	17 – 52 días
Supervivencia de la larva sin alimentarse	más de 20 semanas

2.1.2. Transmisión de Enfermedades

Drugueri (2004), indica que muchos trastornos y enfermedades del hombre y de los animales se les puede atribuir a las garrapatas debido a sus hábitos de alimentación, ya que cada vez que el parásito succiona sangre, esta toma contacto con las células epiteliales de su intestino, donde se encuentran alojados los agentes etiológicos provenientes de otros hospedadores, lo que explica la rápida difusión de enfermedades como las borreliosis humanas y animales.

Según Hardwood y James (1987), algunas de las enfermedades que transmiten las garrapatas, son:

- La **dermatosis**, provoca inflamación, edema y ulceración en el sitio de la picadura, debido a la extracción inadecuada de la garrapata.

- La **exsanguinación**, una condición grave en la que un animal altamente infestado desarrolla anemia.

- La **otoacariasis**, infestación del conducto auditivo con posibles infecciones secundarias graves.

- La **babesiosis**, se le denomina fiebre de Texas y se distribuye mundialmente en zonas tropicales debido a la garrapata. Se reporta que *Babesia bovis* puede infectar al hombre y por ello se considera una zoonosis de gran importancia en la sanidad pública.

- La **anaplasmosis**, es una enfermedad similar a la babesiosis, ocasionada por un parásito del sistema circulatorio que destruye los glóbulos rojos.

- Las **rickettsiosis** (por ejemplo, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas), los **virus** (por ejemplo, la fiebre de Colorado), las **espiroquetosis** (por ejemplo, la fiebre recurrente transmitida por garrapatas), las **bacteriosis** (por ejemplo, la diseminación de la tularemia por las garrapatas).

2.1.3. Sistemas de Control

Las principales formas de control en varios países del mundo, son las siguientes:

2.1.3.1. Control químico.

López (1998), indica que es el método más empleado en distintos países del mundo por la facilidad de aplicación y la evolución de las sustancias utilizadas. Actualmente, el mismo autor confirma, que existe una gran cantidad de compuestos con características acaricidas; dentro de los cuales se encuentran los organofosforados, los piretroides sintéticos, el amitraz, los inhibidores de quitina, el fipronil y nuevos compuestos como el spinosad. Aplicándose en forma sistémica (inyectables o pour on) o tópica externa (inmersión y aspersion).

2.1.3.2. Control no químico.

1. Manejo del pastoreo

Según Nari, *et al.* (2000), los pastizales bien manejados ayudan a reducir la población de larvas de garrapata en ellos, incrementando sus probabilidades de morir antes de encontrar un huésped. En épocas cálidas y secas, las larvas sólo pueden sobrevivir sobre las hojas de los pastos entre cuatro y seis semanas. Si una pradera se deja libre de ganado durante este período y se tratan los animales antes de su reintegro a la pradera, se obtendrá pasturas con niveles de contaminación parasitaria bajos.

2. Manejo de los animales

Nari, *et al.* (2000), indica que mediante este tipo de control se incrementa la resistencia natural a los parásitos del rodeo a través de selección, vacunación y mejora del estado fisiológico.

3. Ganado resistente

Ulloa (1954) demuestra que el uso de ganado resistente es una alternativa exitosa para el control de garrapatas. Lo que se debe a actitudes de comportamiento y reacciones inmunitarias que cada animal individual adquiere a medida que madura. Las razas cebuínas presentan gran habilidad para adquirir resistencia, mientras que en la mayoría de las razas Europeas es pobre.

4. Hospederos desfavorables

Según Ulloa (1954), la implementación de éste tipo de control se basa en el hecho comprobado de que existen especies animales que no son hospederos favorables para la garrapata. Tal es el caso de los ovinos, para el *Boophilus microplus*.

5. Vacunación

Fernández, *et al.* (2005), informa que la vacuna anti - garrapatas es diseñada con una proteína intestinal (antígeno) de la garrapata *B. microplus*;

que al ser inoculada al ganado conduce a la creación de anticuerpos por parte de los bovinos y a una respuesta inmune contra el parásito. Actualmente existen dos vacunas disponibles comercialmente y recomendadas como ayuda al control de las garrapatas se trata de Tick Gard TM (Australia) y Gavac TM (Cuba). Drugueri (2004), afirma que la utilización de la vacuna ha alcanzado controles superiores al 65%, con lo que se ha logrado reducir el número de baños garrapaticidas requeridos durante el año.

6. Lucha biológica.

Drugueri (2004), afirma que se emplean hongos entomopatógenos para regular naturalmente poblaciones de insectos; entre ellos *Metarhizium anisoplae* y *Beauveria bassiana* han mostrado tener potencial en el control de garrapatas con una efectividad superior al 70%, aunque, la desventaja de este tipo de control, es que los hongos mencionados pierden actividad al estar expuestos a las condiciones climáticas y a la luz solar.

2.2. HOMEOPATÍA

Paschero (1988), indica que “La homeopatía es un método de curación basado en la ley de similitud y apoyado en la ley de curación”, es decir, se parte de los síntomas presentados y se toman como referencia para la preparación de los medicamentos, los que una vez administrados inducen a la producción de anticuerpos y estimulan el mecanismo natural de curación de los seres vivos.

Zepeda, citado por Fragoso (1999), asevera que la Homeopatía, surge en Alemania de la mano del médico Christian Samuel Federico Hahnemann (1755 – 1843), quien, en primera instancia aplicó su novedosa terapéutica a su propio caballo. Este animal padecía de oftalmía periódica y fue tratado exitosamente con *Natrum muriaticum*. Más adelante, su discípulo Ernest Ruckert, fue el primero en aplicar formalmente la homeopatía en Medicina Veterinaria.

Dolisos España S.A, menciona que el nombre homeopatía, procede de dos raíces griegas; *homois* que significa similares o semejantes y *pathos* que se refiere a enfermedad. El término homeopatía hace referencia a curar con lo semejante, lo que coincide con la ley de similitud de Hipócrates: "Toda sustancia capaz de provocar síntomas patológicos en un individuo sano, es capaz, a dosis infinitesimales, de tratar esos síntomas en un individuo enfermo".

Dolisos España S.A, dice también que, la Homeopatía utiliza sustancias orgánicas, minerales y vegetales en pequeñas dosis para estimular y fortalecer el mecanismo de defensa natural del organismo, aumentando sus recursos y energía; de este modo, el cuerpo puede movilizar sus defensas propias, en contra de los agentes patógenos, virus y bacterias, y recuperar su equilibrio funcional.

Según Flores (2001) y Dolisos España S.A, la homeopatía se encuentra fundamentada en dos leyes:

- Ley de la similitud o ley de los semejantes: Esta ley indica que suministrándole al enfermo pequeñas dosis de sustancias que si se aplicaran en personas sanas y en cantidades mayores provocarían síntomas parecidos a los que se pretende curar.

- Ley de la infinitesimalidad: Significa que a menor dosis y menor frecuencia el resultado será mejor.

Silva citado por Fragoso (1999), indica que a través de las prácticas que el Dr. Samuel Hanhneemann llegó a aplicar exitosamente, se ha promovido el uso de la homeopatía para la salud humana y animal, actualmente en el área zootécnica, se ofrecen medicamentos capaces de mejorar la conversión alimenticia y promover el crecimiento en especies de consumo humano. Además asegura la pureza y buena calidad de los productos comestibles de origen animal, ya que la acción catalizadora de los compuestos inmunológicos se realiza a dosis tan pequeñas que no deja residuos o depósitos en los animales por lo que no existirán efectos en los consumidores.

2.2.1. Origen de los medicamentos homeopáticos

Kinast (2005), asevera que los remedios homeopáticos provienen de los tres reinos de la naturaleza: animal, vegetal o mineral; y se los emplea para estimular las defensas inmunitarias del organismo. De este modo, el cuerpo puede movilizar sus defensas propias, en contra de los agentes patógenos y recuperar su estado de equilibrio.

Distilo (2005), corrobora lo anterior y nos muestra la siguiente clasificación:

2.2.1.1. Reino Vegetal: Proporciona aproximadamente el 60% de los medicamentos homeopáticos, para extraerlos se utilizan plantas enteras frescas o secas o partes de ellas (corteza, raíz, tallos, hojas, flor, fruto, semillas). Dentro de este grupo tenemos:

1. Fisiológicos (Sarcodes Vegetales): Son productos o extractos fisiológicos de origen vegetal, que pueden ser, sustancias líquidas o sólidas, por ejemplo, alcaloides, glucósidos, resinas, gomorresinas, etc.

2. Patológicos (Nosodes Vegetales): Proviene de productos o sustancias patológicas elaboradas por el vegetal en condiciones de enfermedad.

2.2.1.2. Reino Animal: Productos derivados de animales, para ello se utilizan animales enteros vivos o muertos o partes de ellos frescos o secos. Los más utilizados como remedios homeopáticos de esta procedencia, son: insectos triturados (abejas, hormigas, arañas...), venenos y secreciones de diversos animales, que constituyen medios terapéuticos muy potentes. En éste grupo tenemos:

1. Fisiológicos (Sarcodes): Se obtienen de secreciones de animales sanos, por ejemplo, sepia (tinta del calamar), etc.

2. Patológicos (Nosodes): Bacterias o sus toxinas, órganos enfermos o sus secreciones, por ejemplo: tuberculinas, sifilinas, streptococinum, etc.

Según Dupont (2005), los NOSODES, son remedios homeopáticos considerados antecesoros de las vacunas, ya que son elaborados según la técnica homeopática y utilizando material extraído del mismo paciente o de un grupo que sufre la misma enfermedad; los nosodes incentivan la acción biológica a través de la energía que contienen y con ello inhiben la acción patológica del agente causal y provocan una activación de las defensas inmunológicas.

Cabe recalcar, que para Dupont (2005), los nosodes constituyen un pilar indispensable en el ámbito de la Homeopatía y son empleados exitosamente desde hace más de 100 años, superando en muchos casos a los productos farmacéuticos modernos en cuanto a su eficacia y la ausencia de efectos iatrogénicos.

Para, Kinast (2005), es sabido que los nosodes son inocuos y como consecuencia de ello no crea ningún peligro para la salud pública, constituyéndose en módulo importantísimo en la medicina alternativa y como tal un principio complementario muy apreciable al lado de la medicina moderna.

Paschero (1988), indica que, las vacunas o nosodes son capaces de prevenir una enfermedad, además, anulan la susceptibilidad para contraer una enfermedad aguda y como tratamiento preventivo, actúa aumentando las defensas del organismo proporcionando resistencia para combatir enfermedades.

Esta teoría se puede confirmar actualmente, con trabajos que propenden hacia la medicina natural, tal es el caso de la investigación de Quiñónez (2004), en la cual mediante la trituración de ectoparásitos de bovinos, se logra la obtención

de un producto NOSODE, que, aplicado a la ganadería lechera para controlar garrapatas, alcanza una efectividad del 95% (Nicaragua). Igual situación ocurre con el medicamento homeopático desarrollado por el colombiano Álvaro Marín (2003), cuyo procedimiento de obtención se basa en la elaboración de la tintura madre o NOSODE de garrapata, que se supone es la base del efecto inmunológico en los animales y la mezcla con extractos de plantas nativas, conocidas por sus características medicinales, repelentes o curativas; la vacuna obtenida con este procedimiento es también empleada para el control de garrapatas del ganado bovino.

Esto es solo un ejemplo de los avances que la sociedad actual ha hecho en el campo de la homeopatía, que, según Fragoso (1999), es una terapéutica respetuosa con nuestro organismo, ya que promueve los propios mecanismos naturales de defensa y adaptación.

3. Organoterápicos: Se obtienen de órganos frescos o secos o sus secreciones (hormonas), por ejemplo, tiroides, tiroxina, ovario, foliculina, etc.

4. Autoisoterápicos (Autovacunas): Productos fisiológicos o patológicos de un enfermo, empleados para curar su misma enfermedad.

2.2.1.3. Reino Mineral: Se obtiene de productos naturales o de la industria química – farmacéutica, por el número de medicamentos que proporciona es el segundo en importancia. En éste grupo figuran:

1. Origen natural: Sean éstos purificados o no, tenemos, metales, metaloides, sales orgánicas, sales inorgánicas, etc.

2. Origen Industrial: Pueden ser naturales o sintéticos, por ejemplo, metales, metaloides, sales inorgánicas, sales orgánicas, vitaminas, hormonas, etc.

Según Marín, citado por Terranova (2001), a partir de estas materias primas se obtienen las cepas homeopáticas que son la base para la elaboración de las tinturas madres y/o primeras trituraciones. Posteriormente, se efectúa una serie de diluciones en proporciones 1:100 ó 1:10 y se somete a agitación rápida. El proceso se repite y las diluciones se expresan como CH, es decir centesimales o DH, o sea, decimales.

2.2.2. Mecanismo de acción

Kinast (2005) y Distilo (2005), señalan que los medicamentos homeopáticos portan información a nivel subatómico y actúan al igual que las vacunas estimulando al sistema inmunitario, utilizando lo mismo que causa la enfermedad; y como en las inmunizaciones convencionales, se dan dosis pequeñas lo que causa una condición determinada para estimular el sistema inmune.

2.2.3. Vías de administración

En la Homeopatía de segunda generación, según lo citado por Kinast (2005), la aplicación de productos homeopáticos se realiza por vía inyectable subcutánea,

intravenosa o intramuscular; la preparación en gotas y aplicación vía sublingual se emplean también al igual que las cremas, colirios y supositorios que se aplican en forma tradicional.

2.2.4. Ventajas del Medicamento Homeopático

Según Dolisos España S.A. (2006), las ventajas al emplear este tipo de medicina alternativa, son las siguientes:

- Son productos de eficacia total comprobada.
- Emplean sustancias naturales.
- Carecen de agresividad farmacológica
- Aptos para todas las etapas de vida (gestación, lactancia, etc.)

2.3. INMUNOLOGÍA

2.3.1. Inmunidad

López *et al.* (2001), indica que la inmunidad es el estado de resistencia o defensa que tienen los seres vivos ante los agentes infecciosos o las toxinas capaces de producir enfermedades.

Sánchez (2007), menciona, que para ejercer su acción protectora, el organismo dispone de líneas de defensa; la primera esta conformada por **mecanismos no específicos** destinados a bloquear la entrada y diseminación de los agentes causales de

enfermedades, mientras que la segunda línea de defensa esta conformada por **mecanismos específicos** destinados a la defensa individual

2.3.1.1. Defensas Inespecíficas o Mecanismos Innatos

Sánchez (2007), señala que este tipo de defensas están presentes en el organismo de forma natural y se definen como el conjunto de mecanismos que tienden a evitar la invasión de los microorganismos. Son de dos tipos: unos impiden la entrada del agente invasor y otros lo combate una vez que ha penetrado.

1. Mecanismos innatos externos

El autor anterior manifiesta, que en este grupo tenemos barreras físicas (piel), barreras químicas (secreciones mucosas, saliva, lágrimas, etc), y la flora autóctona (flora intestinal).

2. Mecanismos innatos internos

Sánchez (2007), dice que en caso de que el agente extraño logre salvar los anteriores obstáculos intervienen respuestas tanto celulares como acelulares.

En este grupo encontramos:

- Células asesinas naturales (Natural Killer - NK). Son células linfoides que perforan la membrana de las células atacadas.

- Interferón. Son moléculas de naturaleza proteica segregadas por las células infectadas por virus, que estimulan la síntesis de enzimas antivirales evitando la proliferación viral y destruyendo células infectadas.

- El Complemento. Formado por complejos macromoleculares de proteínas que se sintetizan en el hígado y circulan por la sangre. Al activarse, por diversas sustancias, se originan reacciones en cadena que, ejercen diferentes acciones defensivas (lisis de células, atracción de fagocitos, etc.)

2.3.1.2. Defensas Específicas o Mecanismos Adquiridos

Sánchez (2007), comenta que este tipo de defensas son desarrolladas por el **Sistema Inmunitario** y, al contrario que los mecanismos inespecíficos, que siempre están presentes, únicamente se desarrollan como respuesta a la invasión por un agente extraño concreto. Estas respuestas son celulares: **linfocitos** y humorales: **anticuerpos**.

Además, menciona, que la característica de este sistema es que nos defiende específicamente de parásitos, órganos trasplantados, células cancerosas, microorganismos y sustancias tóxicas fabricadas por ellos.

Olsen y Krakowka (1983), revelan que el sistema inmune genera respuestas específicas a invasores específicos, además tiene un **componente de memoria** que optimiza la misma cuando, al cabo del tiempo, el organismo encuentra nuevamente un invasor del mismo tipo.

Sáenz (2005), menciona también, que la inmunidad resulta de la producción de anticuerpos específicos contra un antígeno dado (generador de anticuerpos) localizado en la superficie del invasor. Los anticuerpos se unen al antígeno del invasor y lo matan o inactivan de diferentes maneras. La mayor parte de los anticuerpos son proteínas o una mezcla de proteínas y polisacáridos.

Tizard (1989), alude que los **antígenos** son cualquier molécula que causa la producción de anticuerpos; también indica que los glóbulos blancos conocidos como **linfocitos** se originan por mitosis de las células madre en la médula ósea. Algunos linfocitos migran hacia el timo y se convierten en **linfocitos T** que circulan por el torrente sanguíneo y se asocian con los nódulos linfáticos y el bazo. Los **linfocitos B** permanecen en la médula ósea donde se desarrollan antes de pasar al sistema circulatorio y linfático. Los linfocitos B producen **anticuerpos**.

Sáenz (2005), identifica dos tipos de **inmunidad específica**

1. Inmunidad humoral

La inmunidad **mediada por anticuerpos** (inmunidad humoral) es controlada por los linfocitos B y los anticuerpos producidos por ellas. Esta orientada principalmente contra virus y bacterias

- Anticuerpos

Según Sánchez (2007), los anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig) son proteínas globulares que participan en la defensa contra bacterias y parásitos mayores. Circulan por la sangre y penetran en los fluidos corporales donde se unen específicamente al antígeno que provocó su formación.

Entre las principales funciones de los anticuerpos según Tizard (1989), se incluyen:

- Reconocimiento y unión a los antígenos
- Inactivación de antígenos

- Reacción antígeno – anticuerpo

Según Olsen y Krakowka (1983), las zonas del antígeno que se unen específicamente con el anticuerpo o con el receptor de un linfocito, se denominan **determinantes antigénicos**. Cada antígeno puede presentar varios determinantes antigénicos diferentes que estimulan la producción de anticuerpos y la respuesta de los linfocitos T. Estas estructuras químicas, los **determinantes antigénicos**, son los responsables de la especificidad de la respuesta inmunitaria.

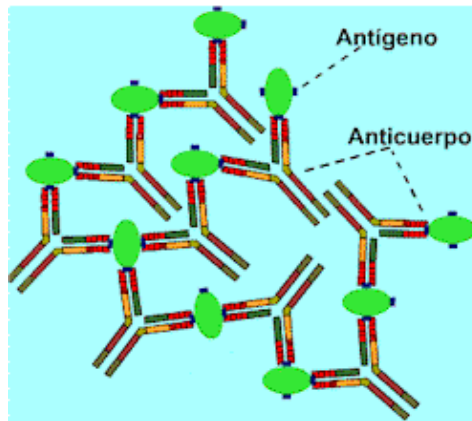


Figura. 2. Complejo antígeno – anticuerpo

Sánchez (2007), explica, que al entrar en contacto antígeno y anticuerpo se unen mediante enlaces no covalentes y se desencadenan una serie de procesos capaces de neutralizarlo y eliminarlo. La unión entre ellos es reversible, depende de sus concentraciones y también de la afinidad, cuanto mayor sea ésta, más proporción de moléculas estarán unidas. Las reacciones más importantes entre antígeno y anticuerpo son las siguientes:

- Precipitación: Al unirse antígenos y anticuerpos solubles forman agregados insolubles que precipitan, lo que inactiva a los antígenos.

- Aglutinación: El anticuerpo se une a antígenos situados en la superficie de una célula. Como los anticuerpos tienen dos puntos de unión, los microorganismos forman agregados y ya no pueden infectar otras las células.

- Neutralización: Anticuerpos situados en la membrana plasmática bloquean la acción de los antígenos contra la célula. Así, los antígenos no se pueden unir a las células y matarlas.

- Lisis. En la cual anticuerpos muy potentes son capaces de atacar directamente paredes celulares (bacterias o células) y causar así su ruptura.

2. Inmunidad mediada por células

Según Tizard (1989), la inmunidad **mediada por células** es controlada por los linfocitos T, que destruyen los microorganismos portadores de dicho antígeno, y las células propias si están infectadas por ellos. Sus reacciones se dirigen principalmente contra células infectadas por virus y bacterias y origina protección contra parásitos, hongos y protozoos, también atacan células cancerosas.

- Mecanismo de acción

Sánchez (2007), expone, que un macrófago, al detectar la presencia de un antígeno, lo fagocita y lo transporta a los ganglios linfáticos. Allí presenta fragmentos del antígeno a los linfocitos T, que produce la formación de linfocitos T citotóxicos, que pueden destruir directamente las células infectadas, y de linfocitos T auxiliares, que facilitan el desarrollo de los linfocitos B.

Los linfocitos T citotóxicos, mencionados por Tizard (1989), presentan en su superficie unas moléculas receptoras semejantes a los anticuerpos, mediante las cuales se unen específicamente a los antígenos de la membrana de las células. El linfocito inyecta sus enzimas en el interior de la célula y provoca su degradación.

Según Olsen y Krakowka (1983), los linfocitos B se activan ante la presencia del antígeno y se encargan de elaborar un anticuerpo específico. Sin embargo, no empiezan a producir este anticuerpo hasta que no reciben la "señal" de los linfocitos T auxiliares. Finalmente, superada la infección, otro tipo de linfocitos T supresores se encargan de detener las reacciones inmunitarias.

2.3.2. Inmunidad contra los artrópodos

Tizard (1989), indica que cuando estos invertebrados pican a un animal, inyectan su saliva. Esta contiene antígenos, y por tanto induce respuestas inmunitarias. Estos últimos son de tres tipos. Algunos componentes de la saliva, son de bajo peso molecular, y por eso no pueden funcionar como antígenos normales. Sin embargo pueden unirse a las proteínas cutáneas, por ejemplo la colágena, y funcionar como haptenos, estimulando una respuesta inmunitaria mediada por células. En exposiciones subsiguientes dichos haptenos inducirán una reacción de hipersensibilidad retardada. Otros antígenos de la saliva pueden unirse a las células de Langerhans de la epidermis e inducir una hipersensibilidad cutánea de tipo basófilo, respuesta vinculada con la producción de anticuerpos de IgG y con infiltración de basófilos. Si se destruyen éstos por un suero capaz de eliminarlos, disminuye la resistencia a los artrópodos picadores. El tercer tipo de respuesta a la saliva de estos invertebrados es de tipo IgE, con una hipersensibilidad de tipo I. Esta respuesta puede inducir una inflamación cutánea importante y causar graves molestias al animal picado. Cada uno de estos tres tipos de respuesta puede modificar la piel de manera que impida la alimentación del artrópodo agresor y que el animal resulte una fuente de alimentos menos atractiva.

2.3.2.1. Infestación por garrapatas

El autor anterior indica, que se ha observado que las garrapatas de los animales no inmunizados son mayores que las de los inmunizados. Si bien no está claro cual es la naturaleza de esta resistencia, se ha sugerido que la hipersensibilidad de tipo local, sea mediada por células o por complejos inmunitarios, frente a la saliva de las garrapatas puede actuar para disminuir el flujo sanguíneo hacia la zona de la garrapata, lo cual reduce su obtención de alimento y limita su crecimiento. Es posible inmunizar a los cobayos con homogeneizados de garrapatas, y demostrar que las garrapatas alimentadas en estos animales tienen disminuida la fertilidad y la producción de huevos.

2.3.3. Inmunoestimulación

De acuerdo con Aiello *et al.* (2000), la inmunización o inmunoestimulación es un proceso a través del cual se ayuda al sistema inmune del organismo a responder frente a la presencia de agentes externos que pueden producir enfermedad, y de acuerdo a ello, la inmunización puede ser natural o provocada. En el primer caso es consecuencia de la entrada de un germen o de un tejido extraño en el organismo. En el segundo caso, está inducida voluntariamente por la vacunación o por la inyección de sustancias extrañas. Los autores anteriores coinciden, al decir que existen dos tipos de inmunización:

2.3.3.1. Inmunización pasiva: Consiste en la administración de anticuerpos específicos, producidos en un organismo competente, distinto al del individuo que se pretende inmunizar. Esta forma de inmunización ocurre en forma natural o

fisiológica con el pasaje de anticuerpos a través de la placenta de la madre al feto y a través de la leche materna durante el amamantamiento del neonato.

2.3.3.2. Inmunización activa: Se presenta al haber padecido la enfermedad o mediante la vacunación al introducir en el organismo el patógeno o parte de él, de modo que no nos pueda hacer daño, pero que sirva para que el organismo lo identifique y elabore anticuerpos contra el agente infeccioso y pueda estar preparado para vencerlo si se presentara la infección real.

Mohanty y Dutta, citado por Valverde (1995), indican que las vacunas inducen inmunidad mediada por células, la cual desempeña al parecer un papel importante en la protección. La mayor parte de las vacunas producen anticuerpos (inmunoglobulinas G y M), y algunas también interferón.

Tizard citado por Valverde (1995), manifiesta que en general la vacunación implica en administrar a una animal un antígeno derivado de un agente infeccioso de manera que se produzca una respuesta inmunitaria y se logre resistencia contra ese agente infeccioso.

Según Aiello *et al.* (2000), de acuerdo al mecanismo empleado en su elaboración existen varios tipos de vacunas, de cuya vía de administración depende la inducción de la inmunorrespuesta protectora. Las vías de aplicación pueden ser:

1. Vía intramuscular: Arísteguí (2004) y Aiello *et al.* (2000), mencionan que se administra en la masa muscular profunda un producto biológico que será

absorbido de forma rápida. Las vacunas que se administran por esta vía tienen la particularidad de quedar depositadas en un tejido altamente vascularizado pero, pobre en células presentadoras de antígenos, comparado con la vía intradérmica y subcutánea. Además, según Aiello *et al.* (2000), el inconveniente que presenta esta vía de aplicación es la posibilidad de que el compuesto pueda depositarse de forma inadecuada en nervios, vasos sanguíneos, tejido graso o tejido conjuntivo.

2. Vía subcutánea o hipodérmica: Aiello *et al.* (2000), indica que consiste en la introducción del preparado vacunal debajo de la piel, para que sea absorbido lentamente. La administración subcutánea produce la estimulación inmunitaria del siguiente modo: tras depositarse el producto, éste es absorbido a nivel local de manera lenta y paulatina. El antígeno es transportado por la corriente sanguínea hacia la dermis a través del plexo cutáneo, desde donde sigue su curso a través del plexo papilar hacia la epidermis, donde se absorbe de forma lenta y local para finalmente generar la producción de anticuerpos.

3. Vía oral: Aiello *et al.* (2000), dice que tras la vía parenteral, es la vía de administración más frecuente y generalizada para algunas vacunas de uso humano. En esta vía, los mecanismos de acción se basan en la estimulación inmunitaria a través de las mucosas.

4. Otras vías de administración: Arístegui (2004), menciona que algunas vacunas se administran por nebulización, bien intranasal o mediante aerosolización buco-nasal.

2.4. PLANTAS MEDICINALES

Microsoft Encarta (2006), indica que se llaman plantas medicinales, a aquellas que contienen, en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades del hombre y de los animales en general.

De entre ellas, algunas presentan actividad contra ectoparásitos, Merck (2006), indica que en Brasil se han realizado estudios con extractos vegetales de varias plantas y por ejemplo el fruto del Cinamomo (*Melia azedarach*), ha demostrado que disminuye el potencial reproductivo de *Boophilus microplus*. El mismo autor menciona, que el extracto etéreo de la semilla de Mamey (*Mammea americana*) ejerce control sobre larvas *Boophilus microplus*; también lo hace la semilla de Neem (*Azadirachta indica*) y el extracto de Tabaco (*Nicotiana tabacum*).

2.4.1. Principio Activo.

Microsoft Encarta (2006), menciona que los principios activos son sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre el ser humano o los seres vivos en general. Los principios activos de las plantas pueden ser sustancias simples (como alcaloides) o bien mezclas complejas (resinas, aceites esenciales, etc.). Los compuestos más comunes son los azúcares y heterósidos. Otros componentes activos de las plantas son alcaloides, lípidos, gomas, mucílagos, principios amargos, taninos, aceites esenciales, resinas, bálsamos, oleorresinas, ácidos orgánicos, enzimas y vitaminas.

2.4.2. Aceites Esenciales

Microsoft Encarta (2006), indica que los aceites esenciales son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales; son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. Por lo general no son oleosos al tacto.

Biblioteca Digital de la Universidad de Chile (2006), menciona que los aceites esenciales se encuentran repartidos en todo el reino vegetal y todos los órganos lo pueden contener: flores (manzanilla, jazmín), cortezas (canela), sumidades floridas (menta, lavanda), botones florales (clavo de olor), raíces y rizomas (valeriana, vetiver), frutos (anís, hinojo, cifras diversos), leños (alcanfor); hojas (eucalipto, laurel), semillas (nuez moscada), etc.

Microsoft Encarta (2006), indica que el rol exacto que estos aceites desempeñan en el vegetal se desconoce, pero algunos investigadores dicen que pueden atraer insectos para la polinización, repeler insectos nocivos, poseen acción antiséptica contra ciertos microorganismos o puede ser simplemente un producto metabólico intermedio.

Biblioteca Digital de la Universidad de Chile (2006), indica que los aceites esenciales se obtienen por los métodos siguientes: destilación en corriente de vapor, extracción con disolventes volátiles, expresión a mano o a máquina y enfleurage.

Hoy los aceites esenciales sintéticos u obtenidos de fuentes naturales por cualquiera de esos cuatro métodos, se purifican normalmente por destilación al vacío.

Microsoft Encarta (2006), menciona que los aceites esenciales se utilizan en la industria de la perfumería, cosmética, alimentación, aromaterapia. También tienen importancia en medicina, tanto por su sabor como por su efecto calmante del dolor y su valor fisiológico.

2.4.3. Extractos vegetales

Miranda, *et al.* (2001), se refiere a los extractos vegetales como el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes.

Martín (s.f.), indica que los principios activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos mediante diversas técnicas extractivas que depende de: el tipo de planta a emplear (caracteres organolépticos), la concentración de principios activos y sus propiedades farmacológicas.

Según Miranda, *et al.* (2001), en el mercado farmacéutico existen cuatro tipos de extractos: a) extractos secos; b) extractos blandos; c) extractos hidroalcohólicos (fluidos y tinturas) y d) extractos oleosos.

Martín (s.f.), dice que los extractos secos se obtienen por la concentración de los licores extractivos mediante evaporación al vacío o por atomización, conteniendo

menos de un 4% de agua. Los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en las drogas. De ellas, las variantes más comunes son: a) extracto fluido, en los que 1 gr. de planta equivale a 1 gr. de extracto; b) tintura, en donde el proceso de extracción de principios activos se ha llevado a cabo mediante una maceración, con alcohol-agua.

Miranda, *et al.* (2001), indica que los extractos blandos son líquidos espesos, que se obtienen por concentración de los licores extraídos sin llegar a la sequedad.

El mismo autor anterior indica que las técnicas extractivas empleadas para extraer los principios activos de las plantas, son: maceración, lixiviación o percolación, digestión, infusión, destilación y extracción continua.

2.5. PLANTAS MEDICINALES OBJETO DE ESTUDIO

2.5.1. Salvia

2.5.1.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Lamiaceae
- 2. Nombre científico:** *Salvia officinalis* L.

2.5.1.2. Descripción botánica

Herbotecnia (2002), indica, que la salvia es un subarbusto frondoso y muy ramificado, originario de la región mediterránea, que puede alcanzar 0,20

a 0,60 m de altura; de hojas opuestas, lanceoladas, de color verde grisáceo, gruesas, rugosas, recubiertas por una pubescencia blanquecina, sobre todo en el envés. Flores color azul violáceo que forman una espiga. Fruto, aquenio ovoide.

2.5.1.3. Composición química

Ecoaldea (2004), indica que la salvia contiene principios activos ricos en flavonoides, aceites esenciales (tuyona, alfa y beta pineno, salveno, cineol (15%), borneol, acetatos de bornilo y linalino, delta – alcanfor, picrosalvina), principios amargos (ácido ursólico (2,1%), principio amargo diterpénico (0,35%), germanicol, ácido labiático, ácido fumárico, ácido clorogénico, ácido cafeico, p-cumárico, ácido nicotínico, ácido oceánico) y resinas. Hojas y flores poseen gran cantidad de esencia (rica en alcanfor, cineol y otras sustancias aromáticas); también contiene taninos y sustancias amargas.

2.5.2. Artemisa

2.5.2.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Asteraceae
- 2. Nombre científico:** *Artemisia sodiroi* Hieron.

2.5.2.2. Descripción botánica

Taboas (2004), indica que la artemisa es una planta recta y erguida de hasta un metro de altura, de tallos herbáceos rojizos, estriados y ramificados en

su ápice. Las hojas son verde oscuro en la cara superior y blancuzcas en el reverso. En su extremo se forman grupos de 10 o 12 pequeñas flores rojas que forman un gran ramillete terminal.

2.5.2.3. Composición química

Herbotecnia (2002), indica que diversos estudios demuestran que la planta contiene 0,02 a 0,3% de aceite esencial principalmente cineol, alcanfor y tuyona, además contiene borneol, alfa-cadinol, espatulenol, monoterpenos y lactonas sesquiterpénicas. Contiene también flavonoides (rutósido, isorramnetósido, quercetósido), cumarinas (esculetina, esculina, escopoletina, umbeliferona), poliacetilenos, triterpenos pentacíclicos, fitoesteroles (sitosterol, estigmasterol), carotenoides, resinas, mucílago y, en las partes herbáceas, se hallan pequeñas cantidades de adenina y colina. Las hojas contienen vitaminas A, B y C.

2.5.3. Tabaco

2.5.3.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Solanaceae
- 2. Nombre científico:** *Nicotiana tabacum* L.

2.5.3.2. Descripción botánica

Universitat de les Illes Balears (2006), dice que el tabaco es una planta herbácea, dicotiledónea que puede alcanzar los tres metros de altura. Posee tallo herbáceo recto y subleñoso, hojas lanceoladas, alternas. Las flores hermafroditas tienen forma de trompeta y se agrupan en inflorescencias complejas, panojas o racimos terminales. Sus frutos encapsulados son dehiscentes con numerosas semillas marrones en su interior.

2.5.3.3. Composición química

Red Naturaleza (2006), indica que el principio activo más conocido del tabaco es la nicotina, un alcaloide líquido, incoloro, que se oscurece al contacto con el aire. Las hojas lo contienen en cantidades muy variables, dependiendo de la variedad de que se trate.

2.5.4. Guanto Blanco

2.5.4.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Solanaceae
- 2. Nombre científico:** *Brugmansia arborea* (L.)

2.5.4.2. Descripción botánica

Sánchez (2003), menciona que el guanto blanco es un arbusto o arbolito de 1,5-3,5 m de altura, su tronco es leñoso y de color oscuro, mientras los extremos de las ramas son verdosos. Hojas oblongo - lanceoladas de margen ondulado. Sus flores blancas de hasta 23 cm cuelgan vistosamente. Fruto redondeado a oviforme, de 6,2-8,5 cm de longitud.

2.5.4.3. Composición química

Según Malpica (2003), las hojas, tallos y flores del guanto blanco contienen un 0,3% de alcaloides, de los cuales el 80% es escopolamina, además posee hioscamina, atropina y los variados alcaloides del grupo tropano, tales como norescopolamina, aposcopolamina, metelodina, etc. Las hojas además contienen resina, ácido tánico, glucosa, dextrina, atropina y sales minerales. La composición de la raíz es semejante, aunque en el tejido leñoso de ésta se encuentra el alcaloide en mayor cantidad.

2.5.5. Eucalipto

2.5.5.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Myrtaceae
- 2. Nombre científico:** *Eucalyptus globulus* Labill.

2.5.5.2. Descripción botánica

Sánchez (2003), menciona que es un árbol que alcanza hasta 60 m de altura. Tallos jóvenes blanquecino-pubescentes. Las hojas juveniles son opuestas, sésiles, y de color gris-azulado; mientras que las hojas adultas son alternas, pecioladas, con ápice acuminado, de textura coriácea y color verde oscuro. Las flores axilares, solitarias o en grupos, con numerosos estambres de color blanco y el fruto en cápsula cubierto de un polvo blanquecino.

2.5.5.3. Composición química

Taboas (2004), indica que se destaca su contenido en aceite esencial, cuyo principal constituyente es el cineol o eucaliptol (éter óxido terpénico). Contiene también: terpineol, carburos terpénicos (alfapineno), alcoholes alifáticos y sesquiterpénicos (eudesmol), aldehídos (butírico, valeriánico, caprónico) y cetonas; además, posee tanino (sustancia detoxificante), pigmentos flavónicos (heterósidos del quercetol) y un heterósido fenólico complejo, el caliptósido, ácidos fenólicos (gálico, caféico), resina y un principio amargo.

2.5.6. Jengibre

2.5.6.1. Clasificación botánica

- 1. Familia botánica:** Zingiberáceas
- 2. Nombre científico:** *Zingiber officinale* Roscoe.

2.5.6.2. Descripción botánica

Krapp y Longe, mencionan que el jengibre es una planta herbácea, perenne, rizomatosa, que alcanza hasta 1,30 m de altura y se cultiva principalmente en las tierras calientes del trópico. Los rizomas en forma de mano, son gruesos, carnosos y nudosos, de olor fuerte aromático y sabor agrio, picante, de color cenizo por fuera y blanco amarillento por dentro. De tallos simples y hojas lanceoladas, oblongas, dispuestas a lo largo del tallo en dos líneas paralelas. Las vistosas flores son sésiles, amarillas y labios purpúreos, reunidas en una espiga densa al extremo del tallo.

2.5.6.3. Composición química

Según Buchanon (s.f), el jengibre contiene alrededor de 0.5 – 3% de aceite esencial y 58% de materia resinosa, almidón y mucílago; la esencia de jengibre debe su aroma al contenido de terpenos (β – felandreno), un sesquiterpeno (zingibereno), cineol, citral y borneol. El sabor picante del jengibre se debe a los gingeroles, shogaoles, zingiberol, zingibereno y zingiberona.

2.6. PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS

Suto *et al.* (1991), mencionan que la cromatografía, es una técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas, en el cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases, la fase estacionaria, de gran área superficial y la fase móvil que se hace pasar a lo largo de la fase estacionaria.

Wagner y Bladt (1996), señalan que, a medida que la solución va filtrándose por la columna, cada componente de la mezcla precipita a diferente velocidad, quedando la columna marcada por bandas horizontales de colores, denominadas cromatogramas. Cada banda corresponde a un pigmento diferente y su identificación se efectúa en función del desplazamiento que consiguen en el sistema.

Tejedor (2007), menciona, que varios tipos de cromatografía son posibles, dependiendo de la naturaleza de las dos fases involucradas: sólido-líquido (capa fina, papel o columna), líquido-líquido y gases-líquido (fase vapor).

Rodríguez (2004), asegura que todas las técnicas cromatográficas dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases inmiscibles: una fase móvil, llamada también activa, que transporta las sustancias que se separan y que progresa en relación con la otra, denominada fase estacionaria. La fase móvil puede ser un líquido o un gas y la estacionaria puede ser un sólido o un líquido.

Suto *et al.* (1991), indica que los procesos cromatográficos se consiguen mediante la diferencia entre las fuerzas de adhesión de las moléculas de los componentes a una fase móvil (normalmente, un disolvente) y a una fase estacionaria (la llamada capa fina, que puede ser papel o gel de sílice). Esta diferencia se traduce en un mayor o menor desplazamiento o movilidad de cada componente individual, lo cual permite su separación e identificación. Este fenómeno de adsorción selectiva es el principio fundamental de la cromatografía.

Según Rodríguez (2004), en la cromatografía de capa fina, un adsorbente (sílica gel) está depositado formando una delgada capa sobre una placa de vidrio, papel de aluminio u otros materiales, por la que ascienden, arrastradas por un disolvente (acetona, metanol, ácido acético, etc), una o más sustancias que se pretenden separar o identificar. Con la ayuda de un capilar de vidrio, una pequeña cantidad de muestra se deposita sobre el adsorbente, muy cerca del extremo inferior de la placa. Una vez depositada la muestra, se introduce la placa ligeramente inclinada, en una cubeta de cromatografía, que contiene en el interior el disolvente con el que va a desarrollarse el cromatograma.

El autor anterior, menciona, que el disolvente asciende entonces por capilaridad a lo largo de la placa, arrastrando a los compuestos a diferentes velocidades, según el grado de adsorción de éstos produciéndose así su separación. Transcurridos unos minutos, cuando el frente del disolvente se encuentra próximo al extremo de la placa, se saca ésta de la cubeta, se deja secar y se examina. Los diversos compuestos se localizan directamente si son coloreados, o con la ayuda de un indicador o luz ultravioleta, si son incoloros.

Tejedor (2007), demuestra que bajo unas determinadas condiciones experimentales, un compuesto dado puede recorrer una cierta distancia a lo largo de la placa. Se denomina R_f o registro a la relación existente entre la distancia recorrida por el compuesto y la recorrida por el disolvente en el mismo tiempo, es decir:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

Naturalmente, como indica Tejedor (2007), los valores de R_f para un determinado compuesto varían ampliamente con los cambios de disolvente. El valor de R_f para un compuesto dado depende de su estructura y es una constante física de éste.

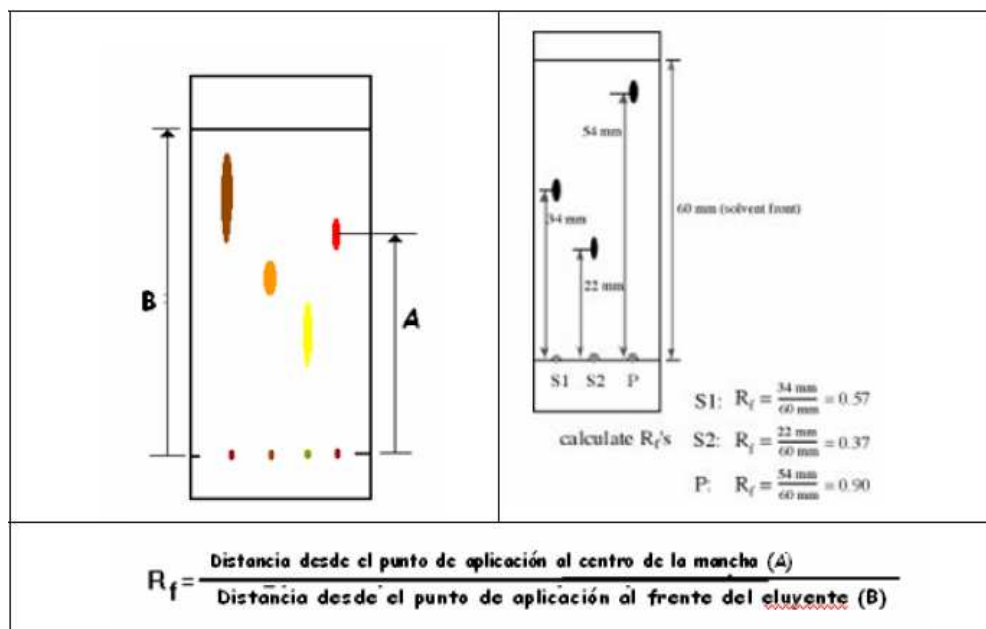


Figura. 3. Esquema de los resultados de una cromatografía en capa fina y cálculo del R_f .

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1. UBICACIÓN ECOLÓGICA

De acuerdo a la clasificación de Holdrige R, que utiliza Gortaire (1963), la Hacienda San Antonio, pertenece al bosque húmedo tropical (bh – T); ésta formación ecológica ocupa la mayor superficie en el territorio nacional y corresponde a toda la zona interior colindante con los declives de la cordillera de los Andes, entre la cota de los 0 y 1000 msnm.

3.1.2. UBICACIÓN POLÍTICA

- Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas
- Cantón: Santo Domingo
- Parroquia: Luz de América
- Lugar: Hda. San Antonio
- Altitud: 270 msnm

3.1.3. UBICACIÓN GEOGRÁFICA

- Latitud: 06° 85' 265" UTM
- Longitud: 99° 41' 067" UTM

3.1.4. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS¹

- Clasificación ecológica: bosque húmedo tropical (bh – T)
- Temperatura media anual: 24 °C
- Precipitación media anual: 3458 mm
- Evaporación media anual: 68.05 mm
- Humedad relativa: 88%
- Heliofanía: 340 horas luz
- Velocidad del viento: 22.3 km/h

3.2. MATERIALES

- Recurso humano (tesista y ayudante)
- Libreta de campo, lápiz y borrador
- 6 vaconas de levante Charolais puro (edad promedio: 1 año)
- Garrapatas adultas (teleoginas) *Boophilus microplus*
- Hojas de plantas en estudio (*Salvia officinalis* L, *Artemisia sodiroi* Hieron, *Nicotiana tabacum* L, *Brugmansia arborea* (L.) Lagerh, *Eucalyptus globulus* Labill)
- Rizomas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.)
- Amitraz (Bovitraz)
- Bomba de mochila
- Corrales
- Balanza analítica

¹ Datos obtenidos en la Estación Meteorológica Puerto Ila

- Equipo de destilación
- Estereoscopio
- Incubadora
- Lámpara ultravioleta
- Algodón
- Bisturí
- Cajas petri
- Capilares
- Cinta de esterilización
- Cuchillo y tabla de picar
- Embudos (con vástago de vidrio y de separación)
- Frascos de vidrio color ámbar
- Frascos de vidrio de cierre hermético de 3 lt de capacidad
- Gasa
- Gradilla
- Guantes quirúrgicos
- Jeringuillas y agujas para aplicación subcutánea
- Lienzo
- Mangas de tela
- Matraz Erlenmeyer
- Mortero de porcelana
- Nevera
- Papel filtro
- Pinzas
- Probeta graduada (250 ml.)

- Regla
- Tapones de caucho
- Tubos de ensayo
- Tubos y agujas vacutainer
- Vasos de precipitación (10 ml y 100 ml)
- Varilla de agitación
- Viales
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol etílico
- Éter
- Glicerina
- Hexano
- Hidróxido de aluminio
- Metanol
- Placas de sílica gel
- Peróxido de hidrógeno (30 vol.)
- Timerosal
- Tolueno

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Elaboración de los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC para el control de garrapatas del ganado bovino.

3.3.1.1. Obtención de extractos y aceites esenciales de las especies vegetales seleccionadas

Como primera actividad, se obtuvieron los extractos de las especies vegetales seleccionadas, para ello se procedió como se indica a continuación:

1. Artemisa (*Artemisia sodiroi* Hieron): En un recipiente de vidrio con tapa, se vertió 1600 ml de metanol, a lo cual se añadió 400 g de artemisa fragmentada en partículas no mayores a 5 mm y se mezcló uniformemente. Se tapó el recipiente y se maceró durante 15 días, agitando 15 minutos dos veces al día (mañana y tarde).

Transcurrido el tiempo de maceración, el líquido resultante se extrajo por decantación, el residuo se filtró y se lavó con metanol hasta completar los 1600 ml iniciales.

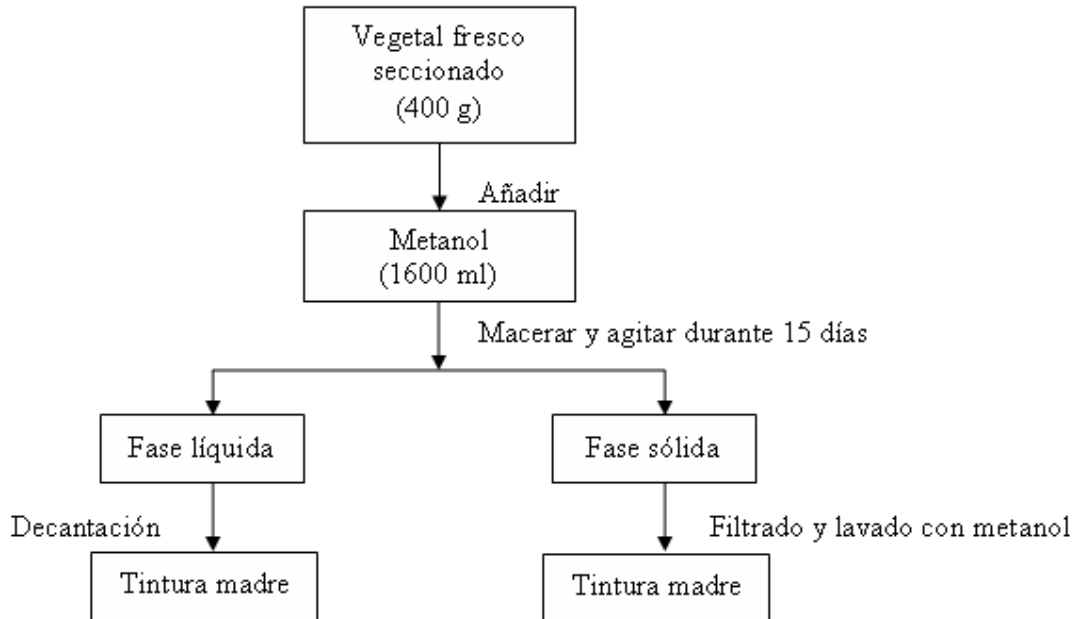


Figura. 4. Diagrama para la preparación de tintura madre de artemisa

2. Guanto (*Brugmansia arborea* (L.) Lagerh): Con el mismo procedimiento anterior se extrajo tintura madre de guanto, empleando 150 g de hojas frescas y añadiendo 1350 ml de metanol. También se obtuvo aceite esencial, empleando el método de trituración y expresión, se recolectó el extracto y se dejó en reposo hasta la formación de dos fases bien definidas, se separó el precipitado de color verde intenso y se agregó éter en proporción 3:1, se separaron las dos fases formadas y se tomó la inferior, sometiéndose a un proceso de destilación y evaporación del cual se obtuvo el aceite esencial.

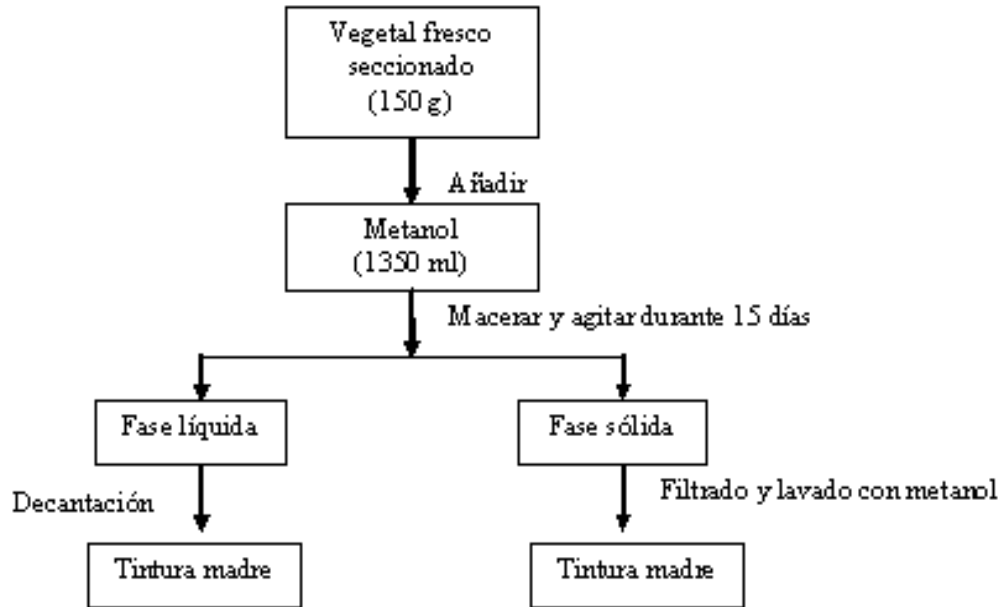


Figura. 5. Diagrama para la preparación de tintura madre de guanto

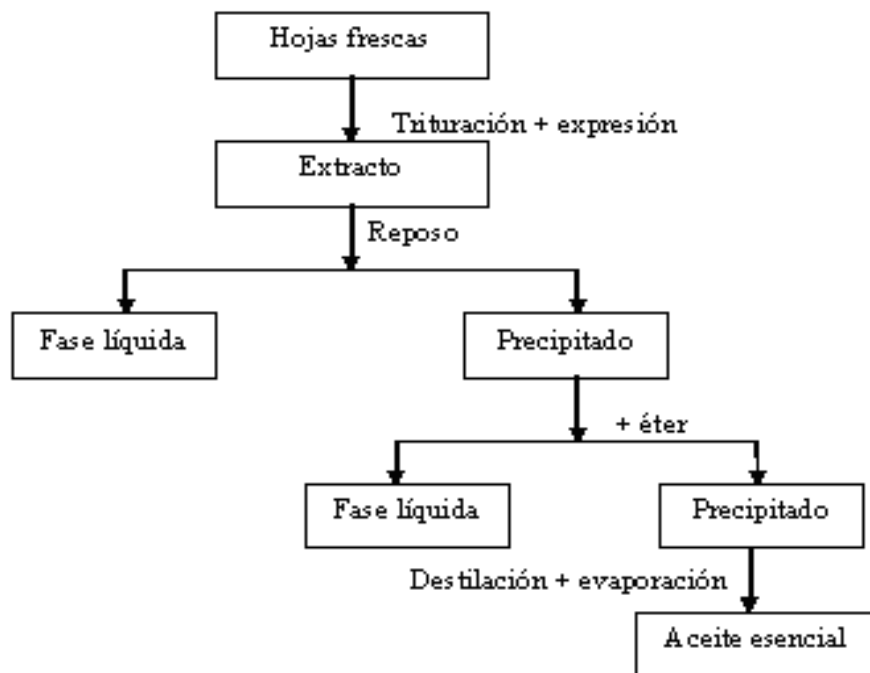


Figura. 6. Diagrama para la extracción de aceite esencial de guanto

3. Tabaco (*Nicotiana tabacum* L): Se obtuvo tintura madre, con 300 g de hojas frescas a las cuales se añadieron 1200 ml de metanol, se dejó reposar la mezcla durante 15 días agitando 2 veces al día, posteriormente como se indicó anteriormente, se filtró y se completó los 1200 ml de macerado inicial.

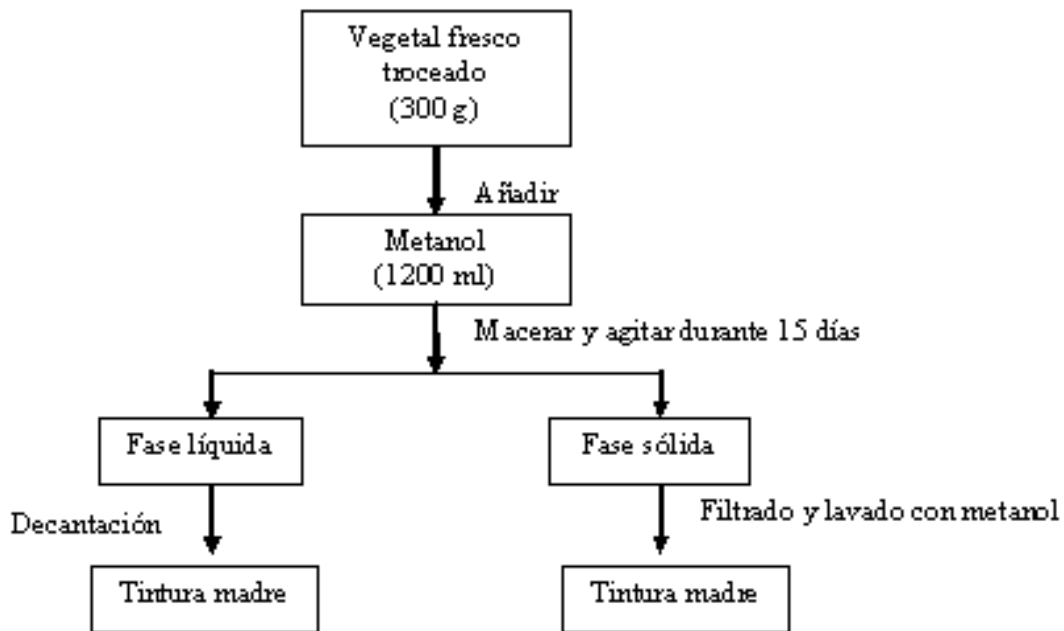


Figura. 7. Diagrama para la preparación de tintura madre de tabaco

4. Salvia (*Salvia officinalis* L): Para obtener su aceite esencial, se empleó el método de expresión, para lo cual se colocó la planta previamente triturada sobre un lienzo limpio, el mismo que se lo comprimió manualmente para extraer el concentrado. El líquido resultante (1200 ml) se recogió en un recipiente de vidrio y se agregaron 120 ml de hexano (solvente), para separar sus componentes, posteriormente se extrajeron 200 ml de la fracción inferior que se formó, y se le añaden 50 ml de hexano, al día siguiente se añadieron 50 ml de etanol absoluto y se procedió a filtrar; la fracción

oleosa se sometió a destilación y evaporación obteniendo así el aromático aceite esencial de salvia.

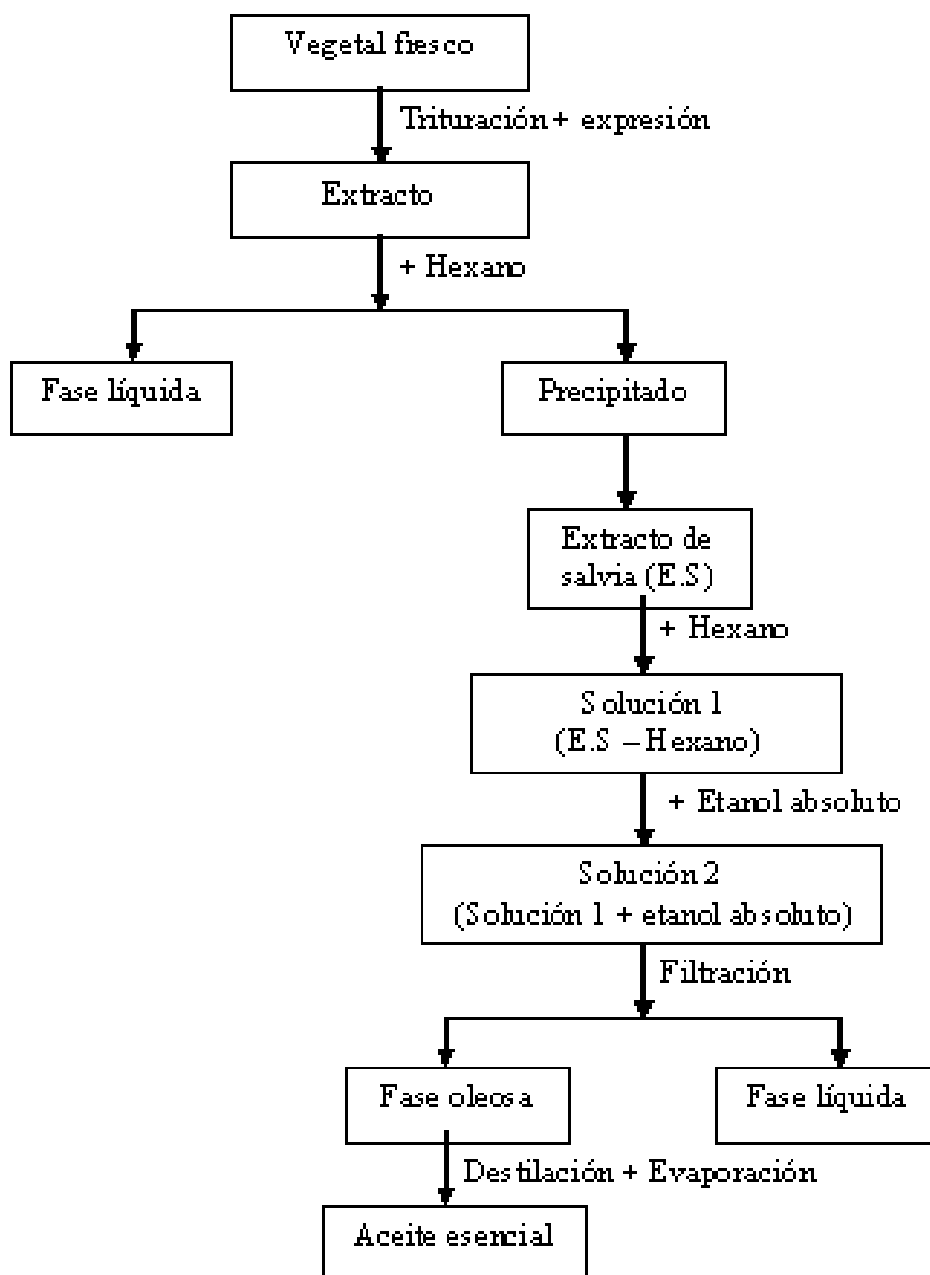


Figura. 8. Diagrama para la extracción de aceite esencial de salvia

5. Eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.): Se obtuvo mediante expresión 1200 ml de extracto de eucalipto aforados con hexano a 1500 ml,

mediante el embudo de separación, se colectó el precipitado y se añadió etanol al 10%, una vez separadas las fases, se colectó el líquido decantado y se lo sometió a destilación y evaporación, dando paso al aceite esencial.

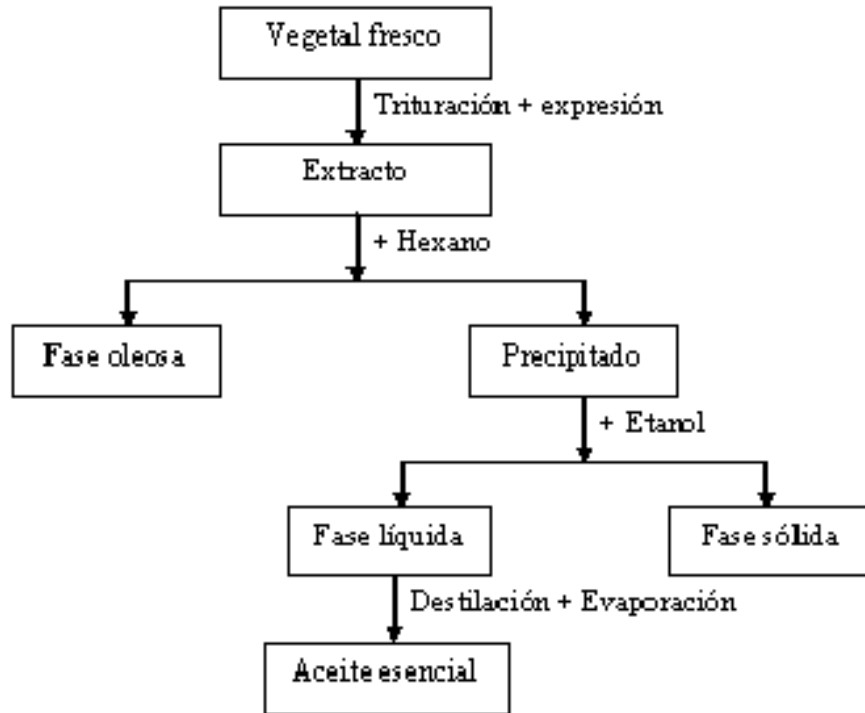


Figura. 9. Diagrama para la extracción de aceite esencial de eucalipto

6. Jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.): El aceite esencial de jengibre se obtuvo a partir del método de expresión, para lo cual, se lavó, troceó y molió los rizomas de jengibre y con un lienzo limpio se extrajo el líquido colectándolo en un recipiente de vidrio, se dejó en reposo durante 24 horas y posteriormente se añadió hexano, después de 45 minutos de reposo se separaron sus componentes en dos fases bien definidas, se procedió a tomar la fracción superior que contiene el aceite esencial, que fue sometido a un proceso de destilación y evaporación dando lugar al aceite esencial de jengibre.

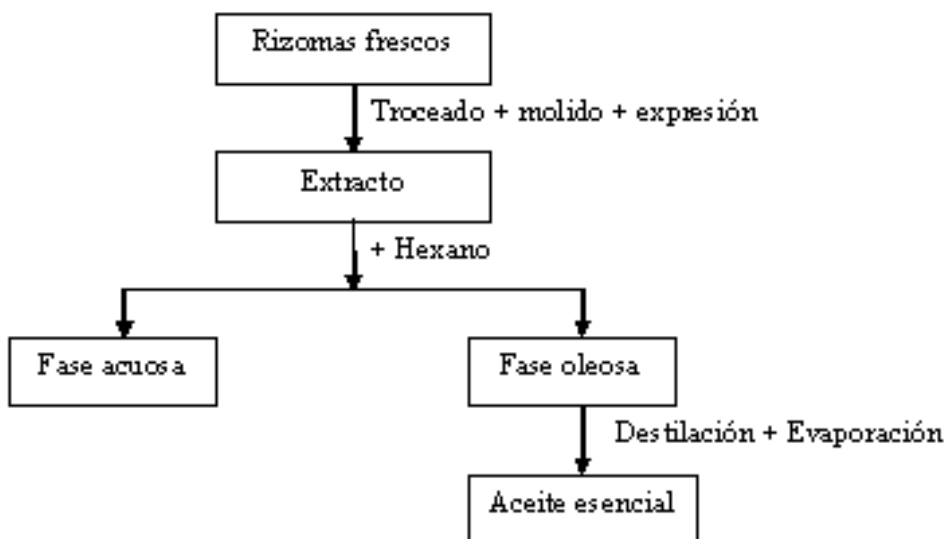


Figura. 10. Diagrama para la extracción de aceite esencial de jengibre

Posteriormente se identificó los compuestos que conforman los extractos y aceites esenciales obtenidos de las plantas en estudio, para ello, se empleó la cromatografía en capa fina, que se desarrolló de la siguiente forma:

Con un lápiz, se dibujó una línea base a 1.5 cm. del borde inferior de la placa de sílica gel y se marcaron e identificaron los sitios sobre los cuales se depositaron con capilares pequeñas cantidades de las 6 muestras a analizar (3 muestras x placa).

En dos vasos de precipitación, que actúan como tanques cromatográficos, se colocó 5 ml del solvente tolueno – alcohol etílico (97:3), dejándolo aproximadamente 30 minutos en reposo, para que la atmósfera se sature con su vapor. Pasado este tiempo, se introdujeron las placas en cada vaso y se cerró el recipiente,

dejando que el líquido ascienda por capilaridad hasta aproximadamente 1 cm del borde superior de la placa.

Se sacaron las placas y se señaló en el margen la altura a la que llegó el disolvente, posteriormente una vez secas se revelaron con la ayuda de una lámpara ultravioleta, en donde mediante la ayuda de pinzas se colocaron las placas de sílica gel y se marcaron con lápiz las manchas obtenidas, para proceder a calcular los Rf (relación entre la distancia alcanzada por el pigmento y la distancia alcanzada por el disolvente) de las sustancias separadas.

3.3.1.2. Formulación de los compuestos inmunológicos ECOVAC y NOSOVAC

En el laboratorio de la Hda. San Antonio, se formuló el compuesto inmunológico ECOVAC, basados en la metodología utilizada por el MSc. Alvaro Marín, el proceso constó de dos etapas, las mismas que se detallan a continuación:

1. Elaboración del nosode de garrapatas

En un matraz de 100 ml, de cuello largo y fondo plano se colocaron 0,25 gramos de garrapatas *Boophilus microplus* secas y trituradas, se agregaron 4 ml de ácido sulfúrico puro, y se lleva a digestión a 60 – 70 °C de temperatura, por 4-6 minutos. Luego se agregó gota a gota, en un período de 10 minutos, 10 a 15 ml de peróxido de hidrógeno de 30 volúmenes. Se dejó enfriar y se le agregó agua desmineralizada estéril hasta completar 100 ml. Posteriormente se agregó 50 ml de

glicerina y 50 ml de alcohol etílico (etanol) de 96°, se homogenizó, y se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar con cierre hermético identificado como **TINTURA MADRE DE “GARRAPATA”**, colocando la fecha de preparación. A partir de ésta tintura madre se elaboró la segunda potencia decimal que es la que se incorpora al preparado final.

2. Formulación del compuesto inmunológico

Finalmente, para la preparación del compuesto inmunológico, se prepararon y emplearon las potencias decimales de los extractos vegetales obtenidos (Artemisa DH4, Tabaco DH1, Guanto DH2, Salvia DH3, Eucalipto DH1, Jengibre DH2) y se mezclaron con el nosode de garrapatas a razón de 5 ml de cada uno. Seguidamente se diluyó hasta obtener un volumen de 1000 ml con agua desmineralizada y se agregó 0,01 ml de timerosal (mertiolato) y 0,5 g de hidróxido de aluminio. Posteriormente, para esterilizar los compuestos, se sometió a un proceso de baño María a 56° por treinta minutos.

- Detalle de nomenclatura

Para elaborar las potencias decimales de los extractos y tinturas obtenidas, se emplearon diluciones decimales hahnemanianas (DH), que se preparan de la siguiente manera: En un recipiente de 10 ml se pone 1 ml de tintura madre o extracto puro y se completa con 9 ml de agua destilada; después se dinamiza (agitación energética) y se obtiene así la primera dilución decimal = 1 DH. Se continúa así

de la misma manera hasta obtener la dilución decimal deseada, teniendo en cuenta siempre que para obtener una dilución superior siempre hay que partir de la dilución anterior. Así:

Artemisa DH4: Significa que la sustancia se ha realizado a base de Artemisa, diluyendo 1 ml de extracto en 9 ml de agua destilada, luego se toma 1 ml de DH1 y se diluye nuevamente en 9 ml de agua destilada y así sucesivamente por cuatro veces.

Tabaco DH1 y Eucalipto DH1: Indica que la sustancia se ha elaborado a base de tabaco y de eucalipto, las mismas que han sido diluidas a la 1/10 una vez.

Guanto DH2 y Jengibre DH2: Significa que las sustancias se han elaborado a base de guanto y jengibre, las que han sido diluidas a la 1/10 dos veces.

Salvia DH3. Simboliza que la sustancia se ha elaborado a base de salvia y ha sido diluida a la 1/10 tres veces.

De igual forma se elaboró el compuesto inmunológico NOSOVAC, empleando la siguiente metodología:

En un mortero de porcelana, se procedió a triturar garrapatas secas más agua destilada en una proporción de 1:5, posteriormente se congeló la trituración y se la trituró nuevamente, esto, por 5 veces, en la estufa se inactivó el lisado a 56° por 30

minutos y se filtró agregándose igual cantidad de alcohol a 96° para luego proceder a dinamizar (100 agitaciones x minuto) y envasar en un recipiente de vidrio color ámbar con cierre hermético etiquetado con el nombre del producto y fecha de preparación.

3.3.2. Evaluación de la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número y capacidad reproductiva de *Boophilus microplus* en los animales seleccionados frente a un placebo.

3.3.2.1. Factores en estudio

En esta investigación se probó la efectividad de los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC, sobre el número y capacidad reproductiva de *Boophilus microplus* frente a un tratamiento placebo.

3.3.2.2. Tratamientos

Se utilizaron tres tratamientos, incluyendo el testigo:

T1: Compuesto inmunológico NOSOVAC

T2: Compuesto inmunológico ECOVAC

T3: TESTIGO (Placebo = 2 ml de agua destilada)

3.3.2.3. Procedimientos

1. Diseño Experimental

- Tipo de Diseño

Para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas, se empleó un diseño completamente al azar, con desigual número de unidades por tratamiento. Cada U.E. estuvo compuesta por 10 garrapatas cada una.

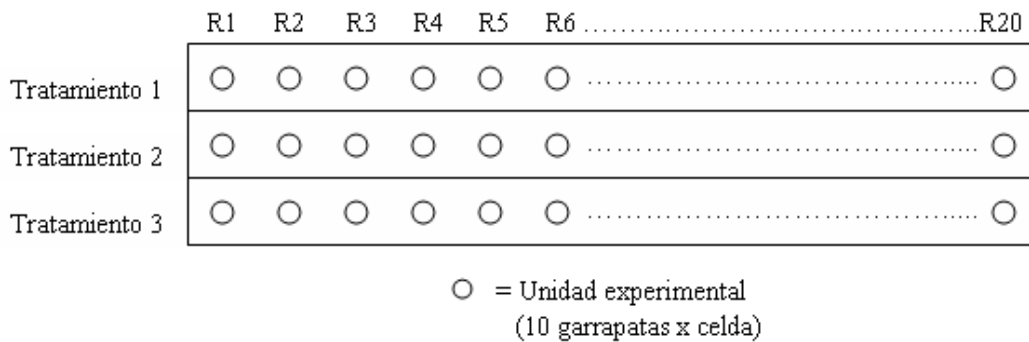


Figura. 11. Esquema del diseño experimental para número de garrapatas

Con el objeto de realizar el análisis estadístico de este diseño, se empleó el análisis de varianza esquematizado en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Esquema de análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas

ADEVA	
Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	52
Tratamientos	2
Error	50

Para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la capacidad reproductiva de *Boophilus microplus*, se trabajó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias “IASA II”, en donde se aplicó a los huevos ovipositados por las garrapatas vivas colectadas, un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones e igual número de unidades experimentales por tratamiento. Como se grafica a continuación:

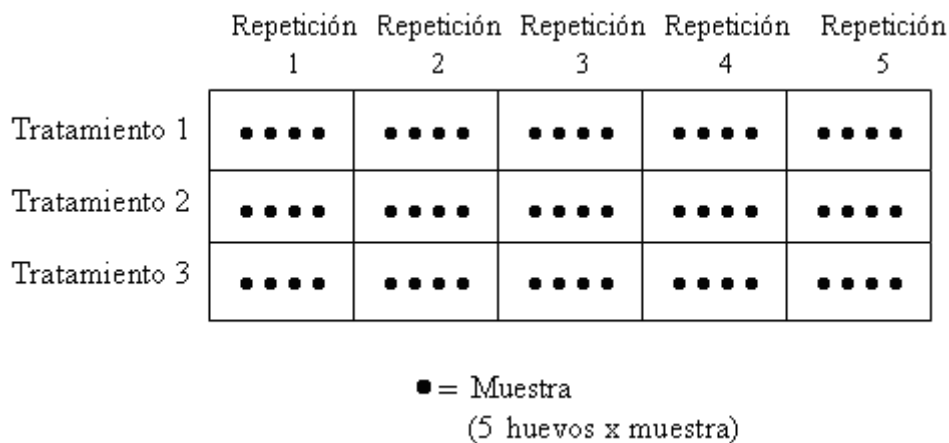


Figura. 12. Esquema del diseño experimental para capacidad reproductiva

Para realizar el análisis estadístico de este diseño, se empleó el análisis de varianza que esquematiza el Cuadro 3.

Cuadro 3. Esquema de análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la eclosión de los huevos colectados de las vaconas sometidas a estudio.

ADEVA	
Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	2
Error	12

- Número de observaciones

Las observaciones, para determinar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas, fue de 200 garrapatas por tratamiento. Mientras que para determinar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la eclosión de *Boophilus microplus* se observaron 100 huevos por tratamiento.

2. Características de las unidades experimentales

Las unidades experimentales evaluadas en la etapa de campo se conformaron por grupos de diez garrapatas *Boophilus microplus* para cada uno de los tratamientos en estudio; mientras que en la etapa de laboratorio fueron de 100 huevos por tratamiento.

3. Análisis estadístico

- Esquema de análisis de varianza

Los esquemas de análisis de varianza correspondientes a ésta sección se encuentran en las páginas 77 y 78 del presente documento.

- Coeficiente de variación

El coeficiente de variación en el ensayo se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{\sqrt{CMEE}}{\bar{X}} \times 100$$

donde:

CV = Coeficiente de variación

CMEE = Cuadrado medio del error experimental

\bar{X} = Media aritmética de todos los elementos de una muestra

- **Análisis funcional**

Se utilizó pruebas de significación de Duncan al 5% para comparar medias y determinar diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

4. Análisis económico

Para realizar el análisis económico de cada uno de los tratamientos, se empleó los métodos del CIMMYT (1983).

5. Datos a tomar y métodos de evaluación

La eficacia de los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC, se evaluó tanto en mortalidad de garrapatas como en afección de su potencial reproductivo, estimándose en porcentaje de reducción de los parámetros: Número de Teleóginas, Oviposición y Eclosión, empleando la fórmula propuesta por el manual de la vacuna Tick Vac de Merck (2006); que se cita a continuación:

Porcentaje de Reducción

$$\left[\frac{(\text{Valor en control} - \text{Valor en vacunados})}{(\text{Valor en control})} \times 100 \right]$$

donde:

Valor en control = Número de teleoginas vivas recolectadas, peso de los huevos ovipositados y número de larvas emergidas en el T3 (testigo).

Valor en vacunados = Número de teleoginas vivas recolectadas, peso de los huevos ovipositados y número de larvas emergidas en el T1 (compuesto inmunológico NOSOVAC) o en el T2 (compuesto inmunológico ECOVAC).

Entonces, los datos tomados para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos fueron:

- **Número de teleoginas.** Se contó y recopiló el número de teleoginas desprendidas de cada una de las unidades experimentales, actividad efectuada durante 14 días, a partir del 20/06/07 al 03/07/07.

- **Oviposición.** Se formaron al azar grupos de 10 teleoginas por tratamiento, y se incubaron a 28°C y humedad relativa del 85%. Los huevos puestos en el lapso de 21 días de incubación se recogieron y se pesaron en balanza electrónica para determinar el porcentaje de reducción de la oviposición.

- **Eclosión.** Para medir la eclosión, se formaron 20 grupos de cinco huevos por tratamiento, se depositaron en una caja petri plástica y se llevó nuevamente a incubación por 36 días para garantizar la eclosión, la cual se midió con un estereoscopio, contando los huevos infértiles y las larvas que emergieron. Posteriormente se determinó el porcentaje de reducción de eclosión.

- **Serología.** Los días 0, 15, 30, 45, 60 y 75, se tomaron muestras de sangre de los animales en estudio y se envió a laboratorio, esto se hizo, con la finalidad de determinar el nivel de anticuerpos presentes en las vaconas.

3.3.3. Determinar los niveles de anticuerpos producidos contra *Boophilus microplus* en bovinos vacunados y no vacunados.

Las muestras de sangre tomadas los días 0, 15, 30, 45, 60 y 75, se enviaron a laboratorio para determinar los niveles de anticuerpos presentes en las vacunas de cada uno de los tratamientos en estudio. Con estos resultados se realizaron comparaciones entre tratamientos mediante un gráfico, relacionando el día experimental y la cantidad de linfocitos (dato proporcionado por el laboratorio), para determinar si efectivamente los compuestos inmunológicos ejercen acción sobre el sistema inmune del animal, lo que colaboraría en la protección y resistencia de los animales a futuras infestaciones de garrapatas *Boophilus microplus*.

3.3.4. Realizar un análisis económico de los tratamientos bajo estudio.

Una vez concluida la fase experimental, se procedió a efectuar el análisis económico de los tratamientos en estudio, de acuerdo al manual CIMMYT (1983). Ver Anexo N° 16.

3.3.5. Métodos específicos de manejo del experimento.

3.3.5.1. Construcción de establos. Para llevar a cabo el trabajo de investigación se construyó en la Hda. San Antonio, seis compartimentos de caña guadua, de 1.0 m de ancho por 2.0 m de largo, con bebederos y comederos; los mismos que se utilizaron para alojar a los bovinos y facilitar los conteos y las observaciones diarias durante la fase experimental.

3.3.5.2. Selección de semovientes. Para el estudio se utilizaron seis vaconas de raza Charolais, de aproximadamente un año de edad, pertenecientes a la Hda. San Antonio, los mismos que se seleccionaron tomando en cuenta su condición corporal.

Los ejemplares se sometieron al azar a los tratamientos con el compuesto inmunológico NOSOVAC, con el compuesto inmunológico ECOVAC y con el testigo.

3.3.5.3. Desparasitación externa. Diecisiete días antes de la aplicación de los tratamientos en estudio, se desparasitó a los animales con la aplicación de un acaricida químico (Amitraz), mediante rociamiento con bomba de mochila, esto se realizó con la finalidad de que al iniciar la aplicación de las vacunas, los animales a emplear, estén totalmente libres de parásitos externos.

3.3.5.4. Pesaje de los animales: Los animales que se sometieron a los tratamientos fueron pesados antes de iniciar el ensayo y al finalizar el mismo.

3.3.5.5. Adaptación de los animales a los establos. Un día después de la desparasitación de las vaconas, se los ubicó en el establo general preparado para tal fin. La alimentación diaria para cada bovino consistió de 1.5 kg de balanceado Nutril 18% de proteína, 33 g de sal mineralizada, pasto saboya (*Panicum maximun*) y agua a voluntad.

3.3.5.6. Recolección de garrapatas: A nivel de campo, se capturaron garrapatas adultas *Boophilus microplus* para emplear una parte como componente de los

compuestos inmunológicos y otra para producir larvas que infestaron a los bovinos del ensayo.

3.3.5.7. Elaboración de compuestos inmunológicos: Una vez recopilados todos los materiales y reactivos necesarios para su elaboración, durante 31 días en el laboratorio de la Hda. San Antonio, se obtuvieron las tinturas madre y aceites esenciales de las plantas en estudio y se prepararon los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC, los mismos que se dosificaron en viales de 3 ml y se mantuvieron en refrigeración hasta la aplicación de los mismos.

3.3.5.8. Selección de áreas de infestación. Se seleccionaron diez áreas de infestación en cada uno de los animales del ensayo, trazándose un círculo de aproximadamente 10 cm de diámetro; alrededor del cual se pegó mangas de tela.

Las mangas se confeccionaron en lienzo, con dimensiones de 12 cm x 20 cm, cuyo extremo libre se cerró mediante una liga elástica para facilitar las observaciones y colectas de especímenes, así como para evitar la fuga de los mismos. Dichas mangas se adhirieron al cuerpo del animal utilizando pegamento, un día antes de iniciar las infestaciones, con el fin de favorecer la volatilización de los solventes presentes en el adhesivo.

3.3.5.9. Aplicación de los tratamientos: La aplicación de los compuestos inmunológicos, se realizó cada 15 días a partir del 24 de abril del 2007, en forma inyectable, 2 ml del medicamento por vía subcutánea, en la tabla del cuello del animal.

Las aplicaciones del producto se efectuaron con la ayuda de jeringas plásticas estériles y desechables; para efectuar las vacunaciones, se movilizaban a las vaconas hacia la manga de los corrales para evitar movimientos bruscos.

3.3.5.10. Descarga de larvas *Boophilus microplus*. El día 40 (3 de Junio del 2007) de iniciados los tratamientos, se realizó la infestación en cada cámara, colocándose, mediante la ayuda de un pincel, 10 larvas *Boophilus microplus*, ubicando en total 100 larvas por animal.

3.3.5.11. Evaluación. Una vez realizadas las actividades anteriores, se dio inicio al período de observación sobre el efecto del medicamento en las garrapatas, para ello a partir de la infestación, diariamente se realizó observaciones y colectas de las garrapatas que cayeron a la manga de tela, hasta el día 30 post infestación. Las teleoginas desprendidas se pesaron y contaron, seleccionándose 10 teleoginas al azar por tratamiento y se las incubó a 28 °C de temperatura y una humedad relativa del 75% por un período de 21 días para permitir la oviposición.

Transcurrido éste período, se registró el peso de los huevos obtenidos por cada muestra de garrapatas. Posteriormente se formó 4 grupos de 5 huevos por tratamiento, se depositó en cajas petri y se llevó nuevamente a incubación por 36 días para garantizar la eclosión, la cual se midió con un estereoscopio, contando los huevos infértiles y las larvas emergidas.

Tanto la oviposición, como la eclosión, son parámetros biológicos necesarios para que finalmente, calculemos el efecto total sobre el potencial reproductivo de los especímenes sujetos a tratamiento comparados con los controles.

IV. RESULTADOS

4.1. EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE TELEOGINAS

En el cuadro 4, se puede observar los totales de garrapatas vivas colectadas en cada uno de los tratamientos estudiados.

Cuadro 4. Total de teleoginas vivas colectadas en cada uno de los tratamientos bajo estudio. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

Rep.	Tratamientos		
	NOSOVAC	ECOVAC	TESTIGO
1	-	2	4
2	3	1	-
3	3	3	4
4	-	2	5
5	1	2	4
6	2	3	-
7	3	3	4
8	1	1	-
9	-	-	3
10	2	4	4
11	2	3	5
12	3	2	5
13	-	2	3
14	1	4	4
15	2	2	3
16	3	3	5
17	2	2	5
18	2	2	4
19	4	3	5
20	3	2	6
Total	37	46	73

Se observa del cuadro anterior, que los animales pertenecientes al grupo testigo, proporcionaron un mayor número de garrapatas vivas, mientras que los animales tratados con los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC presentaron un menor número de teleoginas vivas colectadas.

Cuadro 5. Análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre el número de garrapatas. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

F. de V.	G. de L.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Ft	
					5%	1%
Total	59,00	78,00	-	-		
Tratamiento	2,00	42,40	21,20	33,95	3,16	5,00**
Error	57,00	35,60	0,62			

En el cuadro 5, se aprecian los resultados del análisis de varianza en el estudio del número de garrapatas vivas por tratamiento, mostrando una $F_c = 33,95$, lo cual es altamente significativo (al nivel del 0,01%); valores encontrados en la tabla de F descrita por Padrón (1996), lo que nos permite rechazar la hipótesis nula, de que no hay diferencias entre los tratamientos.

El coeficiente de variación calculado (ver anexo 12), arroja un valor de 26,25%, indicando una alta confiabilidad de los datos, ya que generalmente en experimentos con animales el coeficiente de variación es aceptable hasta en un 40%.

De acuerdo al análisis realizado con la prueba de Duncan (ver anexo 13) para los tratamientos, se observa que el tratamiento 3 con un promedio de 4,29 es significativamente mayor que T1 y T2. Además, T1 y T2 no presentaron diferencias,

debido a que ambos compuestos inmunológicos estimulan las defensas inmunitarias de organismo.

Así mismo, el tratamiento testigo, no ejerce mayor acción sobre el número de garrapatas, mientras que los compuestos inmunológicos si lo hacen, ya que su número disminuye en comparación al testigo, y de entre ellos, el que ejerce un mejor control sobre el número de garrapatas, es el compuesto inmunológico NOSOVAC pues se observa un menor número de teleoginas colectadas vivas.

En el cuadro 6, al emplear la fórmula del índice de Reducción de Supervivencia, tomada del manual de la vacuna Tick Vac de Merck (2006), se obtuvo una reducción de teleoginas del 49,32% en el grupo tratado con el compuesto inmunológico NOSOVAC, con respecto al testigo y del 36,99% en los inmunizados con ECOVAC, de igual manera con respecto al testigo.

Con las pruebas realizadas, se puede apreciar, que los compuestos inmunológicos, elaborados con principios homeopáticos, disminuyen la producción de garrapatas, al estimular al sistema inmunitario, lo que concuerda con Dolisos España S.A, al mencionar que, la Homeopatía utiliza sustancias orgánicas, minerales y vegetales en pequeñas dosis para estimular y fortalecer el mecanismo de defensa natural del organismo, aumentando sus recursos y energía; de este modo, el cuerpo puede movilizar sus defensas propias, en contra de los agentes patógenos (virus y bacterias) y recuperar su equilibrio funcional.

Cuadro 6. Porcentaje de reducción de teleoginas en vaconas Charolais inmunizadas.

Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

Grupo N°	Características	Total Teleoginas	% eficacia
3	TESTIGO	73	0,00%
1	NOSOVAC	37	49,32%
2	ECOVAC	46	36,99%

4.2. EFECTO SOBRE LA OVIPOSICIÓN

El cuadro 7, muestra el porcentaje de reducción de la oviposición, para su cálculo se emplea la fórmula del índice de Reducción de Oviposición, tomada del manual de la vacuna Tick Vac de Merck (2006), el porcentaje de reducción de la oviposición fue de 33,15% en el grupo tratado con el compuesto inmunológico NOSOVAC, y del 8,69% en los inmunizados con ECOVAC.

Cuadro 7. Reducción de la oviposición en teleoginas de animales inmunizados. Santo

Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

Grupo N°	Grupo	Número de Teleoginas	Peso de los Huevos (g)	Reducción de la oviposición
3	TESTIGO	10	1,2585	0,00%
1	NOSOVAC	10	0,8413	33,15%
2	ECOVAC	10	1,1491	8,69%

4.3. EFECTO SOBRE LA ECLOSIÓN DE LOS HUEVOS

En el cuadro 8, se observa los totales de larvas, producto de la eclosión de los huevos ovipositados por cada grupo de los tratamientos en estudio.

Cuadro 8. Total de larvas, producto de la eclosión de los huevos ovipositados por teleoginas provenientes de vaconas Charolais sometidas a tratamiento. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

Rep.	Tratamientos		
	NOSOVAC	ECOVAC	TESTIGO
1	4	9	18
2	4	8	18
3	3	10	19
4	4	10	18
5	5	9	19
Total	20,00	46,00	92,00

Los huevos pertenecientes al grupo testigo, produjeron más larvas que los huevos provenientes de animales tratados con los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC.

Cuadro 9. Análisis de varianza para evaluar la efectividad de los compuestos inmunológicos sobre la capacidad reproductiva de *Boophilus microplus*

F. de V.	G. de L.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	Ft	
					5%	1%
Total	14,00	537,73	-	-		
Tratamiento	2,00	531,73	265,87	531,74	19,42	99,43**
Error	12,00	6,00	0,50			

En el cuadro 9, se pueden apreciar los resultados del análisis de varianza en el estudio del número de garrapatas por tratamiento, el cual muestra una $F_c = 531,74$, lo cual es altamente significativo (al nivel del 0,01%); valores encontrados en la tabla de F descrita por Padrón (1996), lo que nos permite rechazar la hipótesis nula, de que no hay diferencias entre los tratamientos.

El coeficiente de variación calculado arroja un valor de 6,72% (ver anexo 14), lo que indica confiabilidad de los datos obtenidos, puesto que, a medida que disminuye el coeficiente en mención, la confiabilidad será mayor.

Con estos resultados podemos ver, el efecto que tienen los compuestos inmunológicos, especialmente NOSOVAC, para inhibir la eclosión de los huevos ovipositados por garrapatas colectadas de los animales inmunizados.

A continuación se presenta la comparación de los tratamientos en lo que respecta a reducción de la eclosión.

$$\begin{aligned} T3 - T2 &= 18,40 - 9,20 = 9,20 > 0,9739 * \text{ (Ver anexo 15)} \\ T3 - T1 &= 18,40 - 4,00 = 14,40 > 1,0213 * \text{ (Ver anexo 15)} \\ T2 - T1 &= 9,20 - 4,00 = 5,20 > 1,0213 * \text{ (Ver anexo 15)} \end{aligned}$$

Entonces:

T3= 18,40	a	TESTIGO
T2 = 9,20	b	ECOVAC
T1 = 4,00	c	NOSOVAC

La prueba de rangos múltiples de Duncan indica que los tratamientos son diferentes, lo que significa que el tratamiento testigo, no ejerce mayor acción en lo que respecta a reducción de la eclosión, mientras que los compuestos inmunológicos si lo hacen, pues, el número de larvas eclosionadas disminuye en comparación al tratamiento testigo, y de entre

ellos, el que inhibe en mayor proporción la eclosión, es el compuesto inmunológico NOSOVAC ya que se observa un menor número de larvas.

El cuadro 10, muestra el porcentaje de reducción de la eclosión, para su cálculo se emplea la fórmula del Índice de Reducción de la Eclosión, tomada del manual de la vacuna Tick Vac de Merck (2006), se observa que de los huevos recogidos procedentes de las garrapatas de los bovinos inmunizados, nacieron pocas larvas, en contraste con los huevos recogidos del grupo control; el porcentaje de reducción de la eclosión fue de 78,26% en el grupo tratado con el compuesto inmunológico NOSOVAC, y del 50,00% en los inmunizados con ECOVAC.

Cuadro 10. Reducción de la eclosión en huevos de teleoginas colectadas de animales inmunizados. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

Grupo Nº	Característica	Número de Larvas	Reducción de la Eclosión
3	TESTIGO	92	0,00%
1	NOSOVAC	20	78,26%
2	ECOVAC	46	50,00%

4.4. EFECTO SOBRE EL POTENCIAL REPRODUCTIVO

El Índice de Potencial Reproductivo (IPR), combina los diferentes parámetros (Número de Garrapatas, Oviposición, Eclosión) y ofrece una apreciación general del grado en que las teleoginas pueden reproducirse. Esta capacidad reproductiva fue altamente afectada por la vacunación con NOSOVAC. La Inhibición de la Reproducción (IIR), en las garrapatas producidas por vacunas inmunizadas, fue de 81,11% para NOSOVAC y del 46,05% para ECOVAC. Con lo que se puede deducir, que los compuestos inmunológicos

ejercen control, tanto sobre el número de garrapatas, así como en su capacidad reproductiva, pero entre los dos compuestos evaluados, NOSOVAC presenta mayores porcentajes de reducción de los parámetros evaluados. La figura 13 presenta la información descrita anteriormente.

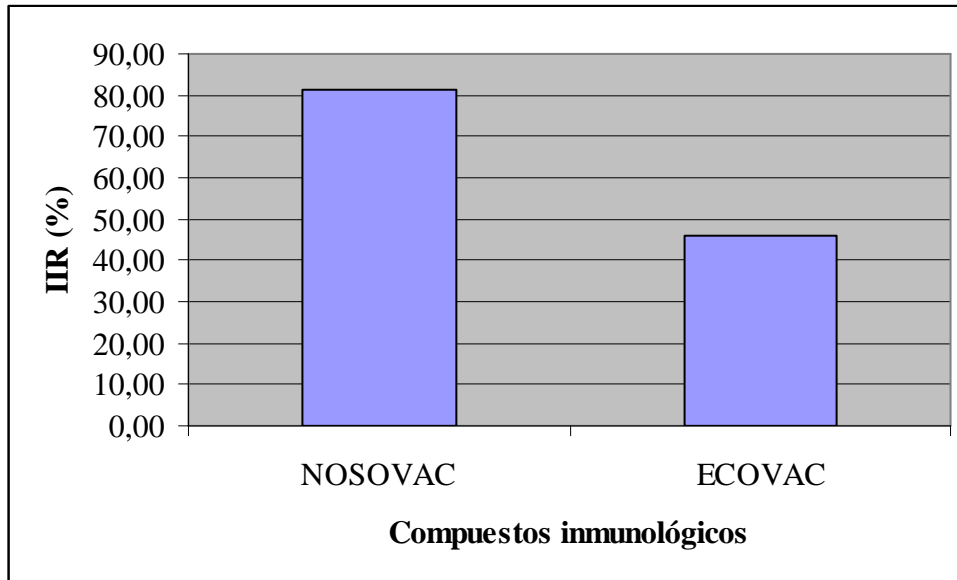


Figura 13. Índice de Inhibición de la Reproducción en garrapatas producidas por vaconas inmunizadas con los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

4.5. SEROLOGÍA

Como se esperaba, en el día 0 del estudio, el número de linfocitos, tanto en los bovinos vacunados como en los controles se hallaban bajo y en los valores normales, en los primeros 15 días después de efectuada la vacunación, se nota un incremento en el número de linfocitos en ambos compuestos inmunológicos, mientras que, el grupo testigo permanece constante, conforme transcurren los días experimentales se nota que

NOSOVAC, incrementa gradualmente la inmunidad, mientras que ECOVAC disminuye su inmunidad y el grupo testigo, prácticamente se mantiene constante, a partir del día experimental 60, se observa nuevamente un repunte de los niveles serológicos de los animales inmunizados con ECOVAC y NOSOVAC, lo que se detalla en la figura 14. (Ver Anexo 9)

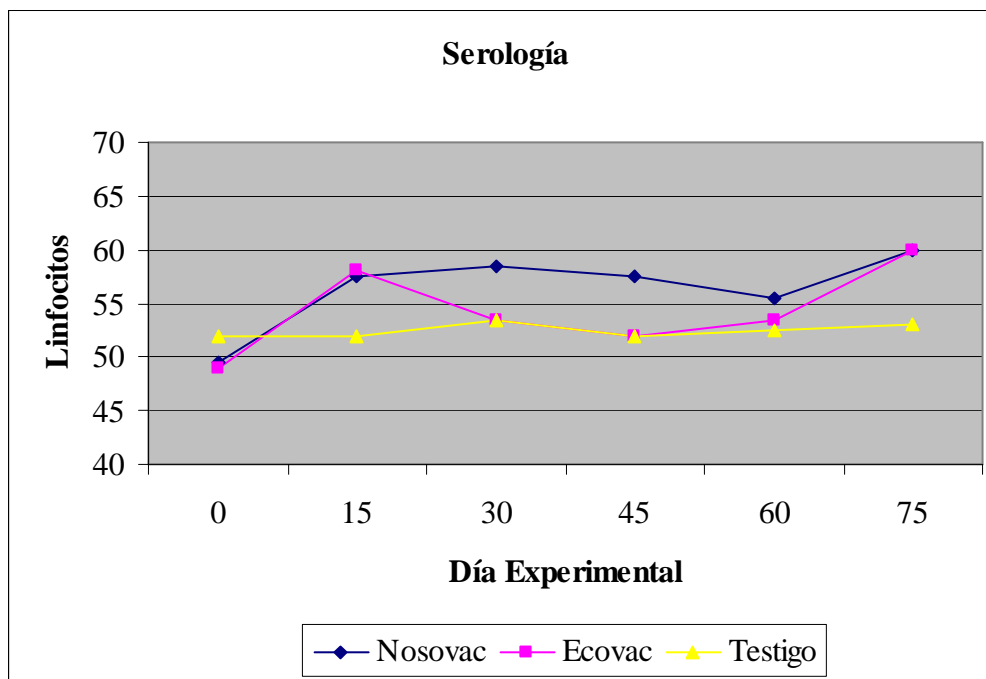


Figura 14. Promedio de linfocitos, en vacas inmunizadas y no inmunizadas. Santo Domingo – Santo Domingo de los Tsáchilas, 2008.

4.6. ANALISIS ECONÓMICO

El análisis económico se realizó, tomando en cuenta, el costo de producción de cada uno de los compuestos inmunológicos evaluados, el cuadro 11 muestra lo anotado.

Cuadro 11. Costos de Formulación de los compuestos inmunológicos NOSOVAC, ECOVAC y TESTIGO, en dólares.

PRODUCTO	Costo 100 ml	Costo 1 ml	Costo Dosis (2 ml)	Costo Tratamiento (20 ml)
NOSOVAC	0,7450	0,0075	0,0149	0,1490
ECOVAC	7,6412	0,0764	0,1528	1,5282
TESTIGO	0,0500	0,0005	0,0010	0,0100

El costo para producir cada ml de compuesto inmunológico varía, en el caso del compuesto inmunológico NOSOVAC es de 0,075 usd, mientras que ECOVAC se eleva a 0,0764 usd, lo que nos indica que NOSOVAC, es un producto de bajo costo y que inhibe el potencial reproductivo de las garrapatas reduciéndolo en más del 80%.

Tomando como base los grupos de animales evaluados, se puede definir el costo de oportunidad, lo que está dado por el aprovechamiento del producto obtenido de los animales, carne en este caso. El cuadro 12, indica la ganancia de peso durante el ensayo de los animales sometidos a los tratamientos, los ingresos que ello significa y la economía a largo plazo al realizar tratamientos contra garrapatas.

Cuadro 12. Ganancia de peso (lb) y utilidades por tratamiento

Tratamiento	NOSOVAC		ECOVAC		TESTIGO	
N° Animal	2	4	3	5	1	7
P. Inicial	503,80	539,00	605,00	440,00	475,20	413,60
P. Final	576,40	602,80	629,20	495,00	534,60	482,90
Ganancia de peso	72,60	63,80	24,20	55,00	59,40	69,30
\bar{x}	68,20		39,60		64,35	
Utilidad (usd)	32,74		19,01		30,89	

Se observa, que el tratamiento, efectuado con NOSOVAC, arroja una ganancia de peso superior a los otros dos tratamientos, generando 68,20 libras durante 100 días de evaluación, lo que al multiplicar por 0,48 usd (costo de cada libra de carne de acuerdo a la ASOGAN Santo Domingo) genera 32,74 usd de utilidad o 0,33 usd diarios, lo que justifica la aplicación de NOSOVAC, para el control de garrapatas, ya que con esta utilidad se cubre el costo del compuesto, a largo plazo y al compararlo con un tratamiento químico, resulta más barato; hay que destacar que no existen períodos de retiro, intoxicaciones o resistencia hacia los mismos.

Cuadro 13. Proyección anual de costos para la aplicación y uso de NOSOVAC, ECOVAC y TESTIGO

Tratamiento	Costos de Control (usd/año/vacona)
NOSOVAC	0,54
ECOVAC	5,58
TESTIGO	0,18

En el cuadro 13 se presentan los costos de control anual de cada compuesto bajo estudio; NOSOVAC, se presenta como un compuesto efectivo, económico y en el que no existen pérdidas de producto o complicaciones inherentes al uso de acaricidas químicos.

V. DISCUSIÓN

El cuadro 14, presenta un resumen de los diferentes parámetros evaluados a lo largo de la realización de este trabajo, de lo cual se observa que existen efectos altamente significativos de los compuestos inmunológicos, sobre el número y la capacidad reproductiva de la garrapata *Boophilus microplus* sobre las vaconas inmunizadas.

Con respecto al efecto sobre la producción de teleoginas, los resultados muestran, que los animales tratados con los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC, presentan un menor número de teleoginas vivas colectadas, con respecto al testigo; de acuerdo al índice de reducción de supervivencia se observa que NOSOVAC disminuye en un 49,32% el número de garrapatas, mientras que ECOVAC lo hace en un 36,99%, no existiendo diferencias significativas entre compuestos inmunológicos.

La oviposición, se ve afectada en un 33,15% con NOSOVAC y en 8,69% con ECOVAC, deduciéndose con los resultados que el primer compuesto tiene una mejor inhibición de la oviposición. En lo que respecta a la eclosión, ésta se reduce al 78,26% y 50%, respectivamente. Por tanto NOSOVAC es más efectivo en la inhibición de la eclosión.

Cuadro 14. Reducción Promedio en Número y Capacidad Reproductiva de garrapatas en vaconas Charolais inmunizadas con ECOVAC y NOSOVAC

PARAMETRO	TESTIGO (%)	NOSOVAC (%)	ECOVAC (%)
Reducción en Número de Teleoginas	0,00	49,32	36,99
Reducción en Oviposición	0,00	33,15	8,69
Reducción en Eclosión	0,00	78,26	50,00

Con estos resultados se puede demostrar, que los compuestos inmunológicos aplicados ejercen acción positiva para contrarrestar el número de garrapatas sobre sus huéspedes, lo que concuerda con Tizard (1989), quien menciona que las garrapatas de los animales no inmunizados son mayores que las de los inmunizados, lo que se debe a la eficacia de aplicación de compuestos a base de nosodes, los mismos que según Dolisos España S.A., dice que, estimulan y fortalecen el mecanismo de defensa natural del organismo, aumentando sus recursos y energía; de este modo, el cuerpo puede movilizar sus defensas propias, en contra de los agentes patógenos (virus y bacterias) y recuperar su equilibrio funcional.

Tizard (1989), menciona que, al administrar antígeno derivado de un agente infeccioso, se produce una respuesta inmunitaria y se logra la resistencia contra ese agente infeccioso, en este caso, al aplicar nosode de garrapatas, se produce una disminución del flujo sanguíneo hacia la zona de la garrapata, lo cual reduce su obtención de alimento y limita su crecimiento.

A través de la inmunización activa o pasiva Tizard (1989), señala que se puede lograr estimular al sistema inmunitario, lo que concuerda con Mohanty y Dutta (1988) quienes

indican que las vacunas inducen inmunidad mediada por células o por complejos inmunitarios, los cuales desempeñan al parecer un papel importante en la protección.

Los resultados obtenidos en la capacidad reproductiva concuerdan con Tizard (1989), que menciona que es posible inmunizar a los cobayos con homogeneizados de garrapatas, y demostrar que las garrapatas alimentadas en estos animales tienen disminuida la fertilidad y la producción de huevos.

Como se observa en la figura 14, el número de linfocitos en las pruebas serológicas, se ven estimulados por la presencia de los compuestos inmunológicos, durante los primeros 15 días; a partir del día 15 al 60, existe una etapa de reconocimiento del antígeno presente en NOSOVAC y ECOVAC, razón por la cual se nota algo de estabilidad de los niveles serológicos, pero a partir del día 60, se genera un incremento en el número de linfocitos, debido a que el sistema inmunológico ha reconocido ya al antígeno presente y ha provocado el inicio de un proceso de desarrollo de anticuerpos por el sistema inmunológico, creando así inmunidad hacia las garrapatas. En el grupo TESTIGO, se observa un leve incremento de linfocitos en el día 30, debido a que en este día los animales del ensayo sufrieron estrés y agotamiento físico al tomar la muestra de sangre.

Las diferencias entre compuestos inmunológicos, presentadas en el cuadro 14, indica que NOSOVAC, reduce en mayor proporción el número y capacidad reproductiva de *Boophilus microplus*, lo que se debe probablemente a la composición de cada compuesto inmunológico elaborado, o a las diferencias propias de cada animal sometido a tratamiento, pues sabemos, que no todos los animales responden de igual manera a las dosis y períodos de tiempo de las aplicaciones, debido a que cada organismo es un individuo único.

VI. CONCLUSIONES

- Los compuestos inmunológicos reducen significativamente el número y la capacidad reproductiva de las garrapatas *Boophilus microplus* que infestaron a los bovinos vacunados.

- La producción de teleoginas en los bovinos inmunizados con NOSOVAC se redujo en promedio 49,32% y los vacunados con ECOVAC se redujo en un 36,99%.

- Los compuestos inmunológicos afectaron sensiblemente la capacidad de la garrapata para ovipositar. El índice promedio de reducción de la oviposición en garrapatas de vaconas inmunizadas con NOSOVAC fue de 33,15% y con ECOVAC fue de 8,69%.

- La eclosión de los huevos fue uno de los parámetros más afectados por la inmunización. El promedio de reducción de la eclosión en huevos de garrapatas producidas por los bovinos vacunados con NOSOVAC fue de 78,26% y con ECOVAC fue de 50,00%.

- El potencial reproductivo total de las garrapatas (el cual combina la reducción en número, oviposición y eclosión), producidas por las vaconas inmunizadas, fue severamente afectado. El promedio de reducción de la reproducción en garrapatas producidas por vaconas inmunizadas con NOSOVAC fue de 81,11% y con ECOVAC fue de 46,05%, lo que indica que NOSOVAC, es el compuesto inmunológico más efectivo para controlar tanto el número de garrapatas como su capacidad reproductiva.

- Las vaconas inmunizadas, respondieron a la vacunación produciendo anticuerpos contra el inmunógeno, a partir del primer día de vacunación, alcanzando su máximo valor el día experimental 75.
- Durante 45 días (desde día experimental 15 al 60), existe un período de reconocimiento del antígeno, durante el cual, el sistema inmunológico se prepara para reaccionar de manera adecuada hacia el antígeno que invade el cuerpo.
- Las mínimas variaciones de linfocitos presentes en el grupo testigo, se deben principalmente a los momentos de estrés o agotamiento físico que presentaban los animales al ser trasladados hacia las mangas y sometidos a la extracción de muestras de sangre para su posterior análisis en laboratorio.
- El patrón de comportamiento de los compuestos inmunológicos ECOVAC y NOSOVAC, en lo que se refiere a número de linfocitos, es similar, aunque, NOSOVAC, en la etapa de reconocimiento del antígeno, es más persistente y constante, manteniendo durante toda esta etapa un número de linfocitos superior a ECOVAC.
- Los animales vacunados con los compuestos inmunológicos, en la presente prueba de establo no presentaron reacciones locales (en el sitio de aplicación), ni generales desfavorables asociadas con la aplicación de la vacuna, la dosis o vías recomendadas, a diferencia de los nódulos que se presentan frecuentemente con la dosis normal de vacunas de uso corriente en Medicina Veterinaria.
- Los resultados del estudio muestran a los compuestos inmunológicos, como una alternativa de elaboración artesanal, limpia y segura para el control de la garrapata

Boophilus microplus, alternativa que puede ser incorporada a programas de manejo integrado de las infestaciones de ganado bovino por dicho parásito.

- Desde el punto de vista económico, el uso de NOSOVAC, es una excelente opción por su bajo costo de oportunidad, el cual se presenta por el aprovechamiento del producto en comparación con el tratamiento químico, en el cual se deben someter los animales a un período de retiro de tres días, perdiéndose así la leche o carne, según sea el caso.

VII. RECOMENDACIONES

- Es importante continuar con la investigación durante un período más prolongado, lo que permitirá obtener resultados más confiables, ya que habrá mayor número de observaciones.

- Incluir en el estudio, un mayor número de variables a investigar, tales como dosis, épocas y frecuencias de aplicación, ingredientes activos, etc, con el fin de poseer un estudio más completo acerca del efecto de los compuestos inmunológicos sobre el número y capacidad reproductiva de las garrapatas *Boophilus microplus*.

- Realizar el estudio con un número mayor de animales, con el propósito de tener mayor confiabilidad y confirmar la efectividad de los compuestos inmunológicos.

- Una excelente opción, sería evaluar el compuesto inmunológico ECOVAC, de forma fragmentada, es decir, nosode de garrapata frente a los aceites esenciales más tinturas madre; para así saber si realmente el factor inmunológico es por parte del extracto de garrapata o si el efecto insecticida se debe a las sustancias contenidas en las plantas empleadas en su preparación.

VIII. RESUMEN

En los sistemas de producción ganadera ubicada en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, las garrapatas son los parásitos externos, que mayor impacto económico ocasiona en la ganadería bovina, debido a las enfermedades que transmite y a la disminución en rendimientos productivos de los animales.

El método de control habitual de este ectoparásito, es la aplicación de acaricidas químicos, que generalmente causan daño al ser humano, a los semovientes y al ambiente, lo que multiplica las dificultades de lucha contra las garrapatas y muestra un futuro poco alentador para este tipo de control.

Una alternativa eficiente para el control de garrapatas y amigable con el ambiente es el uso de compuestos inmunológicos elaborados bajo principios de homeopatía, con lo que pretendemos promover el equilibrio armónico en la naturaleza, y además, lograr un control efectivo de las garrapatas en el ganado bovino de manera orgánica.

En el presente estudio, se elaboró dos compuestos inmunológicos y se evaluó su efecto sobre el número y la capacidad reproductiva de garrapatas *Boophilus microplus* en bovinos *Bos taurus*, comparado contra un grupo testigo.

La investigación, se llevó a cabo en la Hacienda San Antonio, cumpliéndose en dos fases. La primera efectuada en el laboratorio, consistió en la elaboración de los compuestos inmunológicos ECOVAC y NOSOVAC. Posteriormente cada compuesto fue evaluado sobre 20 unidades experimentales.

Se aplicó los tratamientos, cada 15 días y se evaluó cada animal diariamente, durante 120 días. De igual forma, cada 15 días se tomaron muestras de sangre para pruebas serológicas. Una vez colectadas todas las teleoginas desprendidas de cada tratamiento, se seleccionaron 10 garrapatas y se sometió a incubación para determinar los parámetros de oviposición y eclosión.

De los resultados obtenidos se observa que existen diferencias altamente significativas entre los compuestos inmunológicos y el testigo, ya que NOSOVAC y ECOVAC estimularon a los animales para la producción de anticuerpos, ejerciendo control sobre la garrapata tanto en reducción de la supervivencia como en reducción del índice de oviposición y eclosión.

Para NOSOVAC, el índice de reducción de la supervivencia fue de 49,32% y para ECOVAC del 36,99%; mientras que para la oviposición el primer compuesto redujo el índice de oviposición en un 33,15% y el segundo en un 8,69%; la eclosión fue reducida en un 78,26% y 50% respectivamente.

Con los resultados de esta investigación se concluye, que los compuestos inmunológicos NOSOVAC y ECOVAC, elevan el sistema inmunológico de los animales sometidos a tratamiento, lo que se demuestra con la prueba de serología, sin embargo, entre ambos compuestos, NOSOVAC es más eficiente, ya que se observan menores índices de supervivencia, oviposición y eclosión; además, NOSOVAC, de acuerdo al análisis económico, es mucho más beneficioso, debido a su bajo costo.

IX. SUMMARY

In the systems of cattle production located in the tropical and subtropical areas of the world, the ticks are the external parasites that bigger economic impact causes in the bovine cattle raising, due to the illnesses that it transmits and to the decrease in productive yields of the animals.

The method of habitual control of this ectoparasites, is the application of chemical acaricides that they generally cause so much damage to the human being, to the animals, and the atmosphere, what multiplies the fight difficulties against the ticks and sample a not very encouraging future for this control type.

An efficient alternative for the control of ticks and friendly with the atmosphere it is the use of compound immunologic elaborated low homeopathy principles, with what we seek to promote the harmonic balance in the nature, and also, to achieve a working control of the ticks organically in the bovine livestock.

Presently study, was elaborated two immunologic compounds and its effect was evaluated about the number and the reproductive capacity of ticks *Boophilus microplus* in bovine *Bos taurus*, comparative against a group witness.

The investigation, was carried out in the farm San Antonio, being completed in two phases, the first one made in the laboratory, consisted on the elaboration of the immunologic compounds ECOVAC and NOSOVAC. Later on each compound was evaluated on 20 experimental units.

It was applied the treatments, every 15 days and each animal was evaluated daily, during 120 days. Of equal it forms, every 15 days they took samples of blood for serologic tests. Once collected all the removed teleogins of each treatment, 10 ticks were selected and underwent incubation to determine the oviposition parameters and appearance.

Of the obtained results it is observed that highly significant differences exist between the immunologic compounds and the witness, since NOSOVAC and ECOVAC stimulated the animals for the production of antibodies, exercising control so much on the tick in reduction of the survival like in reduction of the oviposition index and appearance.

For NOSOVAC, the index of reduction of the survival was of 49,32% and ECOVAC of 36,99% stops; while for the oviposition the first compound reduced the oviposition index in 33,15% and the second in 8,69%; the appearance was reduced respectively in 78,26% and 50%.

With the results of this investigation you concludes that the immunologic compounds NOSOVAC and ECOVAC, elevate the immune system from the subjected animals to treatment, what is demonstrated with the serology test, however, between both compound, NOSOVAC is more efficient, since smaller indexes of survival, oviposition and appearance are observed; also, NOSOVAC, according to the economic analysis, is much more beneficial, due to its low cost.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aiello, SE *et al.* (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria: Farmacología. 5 ed. Barcelona, ES. Océano Grupo Editorial, S.A. p. 1859 – 1860
- Albán R, GN. 1966. Clasificación Taxonómica de Ixodidos de Bovinos y Equinos en Santo Domingo de los Colorados. Tesis Med. Vet. Quito, EC, Universidad Central del Ecuador. 56p.
- Arístegui, J. 2004. Vacunaciones en el niño. Bilbao: Ciclo Editorial. p. 77-90.
- Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. 2006. Apuntes Botánica y Farmacognosia 2: Drogas y tóxicos de origen biológico (en línea). CL. Consultado 13 nov. 2006. Disponible en http://mazingher.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmacologicas/apbot-farm2c/montesm02/20.html
- Boero, JJ. s.f. Parasitosis animales: Helminthiasis y Entomozoosis. s.l. Editorial Universitaria de Buenos Aires – Rivadavia. v. 1, tomo 3, 600 p
- Buchanon, R. s.f. Manual de Determinaciones Bacteriológicas. MX. Interamericana. p. 217 – 221.
- Canal Agro. 2006. Cultivo de la Salvia (en línea). Consultado 10 sept. 2006. Disponible en <http://canales.hoy.es/canalagro/datos/aromaticas/salviaref2.htm>
- CIMMYT. (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, MX). 1983. Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. CIMMYT. México, DF. 54 p.

- Distilo, CA. 2005. ¿De dónde se obtienen los medicamentos homeopáticos? (en línea). AR. Consultado 01 dic. 2006. Disponible en <http://www.unitashomeopathica.com/articulos/008.php>
- Dolisos España S.A. 2006. Qué es la homeopatía (en línea). ES. Consultado 01 dic. 2006. Disponible en <http://www.dolisos.es/homeo.htm>
- Drugueri, L. 2004. Garrapatas de los animales (en línea). Revista ZOE Tecno – Campo. Consultado 08 dic. 2005. Disponible en <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/garrapata.htm>
- Dupont, V. 2005. “Roundup” y Nosodes: Un caso de posible intoxicación (en línea). Revista Homeopatía Veterinaria. Consultado 13 dic. 2005. Disponible en <http://www.dupont-homeopatia.com.ar/articulo-roundup.html>.
- Ecoaldea. 2004. Índice de plantas medicinales (en línea). Consultado 5 oct. 2006. Disponible en <http://www.ecoaldea.com/plmd/salvia.htm>
- Fernández Ruvalcaba, M. *et al.* 2005. Infectividad de *Metarhizium anisopliae* en contra de cepas de garrapata *Boophilus microplus* sensible y resistente a los organofosforados (en línea). MX. Consultado 08 dic. 2005. Disponible en <http://www.tecnicapecuaria.org/trabajos/200510205376.pdf>.
- Flores, 2001. Centro de Homeopatía Flores (en línea). MX. Consultado 27 oct. 2006. Disponible en <http://www.homeopatiaflores.com/index.html>
- Fragoso Rosario, B. 1999. Nosodes: Terapia Homeopática en las Mastitis Subclínica Bovina. (en línea). CU. Consultado 30 dic. 2005. Disponible en www.ucf.edu.cu/publicaciones/anuario2002/agraria/articulo8.pdf

- Gortaire, G et al. 1963. Esquema del plan nacional de desarrollo del Ecuador. Sector Forestal. Quito, EC. Dirección General de Bosques. 84 pp. (Mimeografiado).
- Hardwood, RF.; James, MT. 1987. Entomología Médica y Veterinaria. 1 ed. s.l. MX. Limusa. p. 429 – 481.
- Herbotecnia. 2002. Especies Vegetales Exóticas (en línea). AR. Consultado 6 sep. 2006. Disponible en <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-salviaoff.html>
- Jensen, R; Mackey, DR. s.f. Enfermedades de los bovinos en los corrales de engorda. MX. s.e. p. 249 – 254
- Kinast Feliú, H. 2005. La Homeopatía. Una ciencia Médica (en línea). Santiago de Chile, CL. Consultado 16 dic. 2005. Disponible en <http://members.tripod.com/cmbick0/id37.htm>
- Krapp, K; Longe J. 2003. Enciclopedia de las Medicinas Alternativas. Barcelona, ES. Océano Grupo Editorial, S.A. p. 158 – 159
- López, A et al. 2001. Guía médica. 1 ed. Madrid, ES. Cultural S.A. 860 p.
- López, G et al. 1998. Utilización de los hongos *Metarhizium anisoplae* y *Beauveria bassiana* para el control biológico de la garrapata *Boophilus microplus*. Noticampo. no. 10:12.
- Malpica, K. 2003. Las drogas tal cual (en línea). US. Consultado 28 oct. 2006. Disponible en <http://www.kinam.com.mx/flori1.html>

- Marín, A. 2003. Metodología para elaboración de tintura madre y vacuna contra el nuche (correo electrónico). Colombia, CIMA.
- Martín Domínguez, C. s.f. Preparaciones plantas (en línea). ES. Consultado 01 nov. 2006. Disponible en <http://personal.redestb.es/martin/pre.htm>
- Merck. 2006. Manual Vacuna Tick Vac. CO. s.n.t. 28 p.
- Microsoft Encarta. 2006. Plantas Medicinales. (disco compacto). Microsoft Corporation. 1 disco compacto, 8 mm.
- Miranda, *et al.* 2001. Farmacognosia y productos naturales. La Habana, CU. Editorial Félix Varela. 127 p.
- Mohanty, S y Dutta, S. 1988. Virología veterinaria. Trad. Por F. Colchero. México, MX. Editorial Interamericana. 110 p.
- Nari, A. *et al.* 2000. Control de la resistencia a los antiparasitarios a la luz de los conocimientos actuales. *In* Resúmenes XXI Congreso Mundial de Buiatría y XXVIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. (en línea). Punta del Este, UY. Consultado 27 dic. 2005. Disponible en <http://www.corpioca.org.co/redectopar>
- Olsen RG; Krakowka S. 1983. Inmunología e Inmunopatología de Animales Domésticos. México DF, MX. Editorial El Manual Moderno S.A. p. 1 - 139
- Padrón Corral, E. 1996. Diseños Experimentales con Aplicación a la Agricultura y Ganadería. México DF, MX. Editorial Trillas. 215 p.
- Paschero, P. 1988. Homeopatía. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, AR. 496 p.

Quiñonez Fiallos, A. *et al.* 2004. Uso de medicina homeopática para el control de garrapatas en el ganado bovino lechero en la EIAG-Rivas. (en línea). NI. Consultado 08 dic. 2005. Disponible en www.cnu.edu.ni/.../trabajo%20homeopatico%20en%20el%20ganado%20bovino%20de%20la%20EIAG%20rivas.ppt

Red Naturaleza. 2006. Guía de referencia de plantas medicinales, setas y animales (en línea). ES. Consultado 28 oct. 2006. Disponible en <http://www.rednaturaleza.com>

Rodríguez, J. 2004. Prácticas de Fundamentos químicos de la Ingeniería. Cromatografía de Capa Fina (TLC) (en línea). ES. Consultado 14 oct. 2007. Disponible en http://www.unedcervera.com/c3900038/quimica_ingenieria/cromatografia.html

Rodríguez Valle, M. 2000. Respuesta inmunológica contra garrapatas (en línea). La Habana, CU. Consultado 08 dic. 2005. Disponible en <http://www.bioline.org.br/request?ba00068>

Sáenz Peña, C. 2005. Elementos de Inmunología (en línea). Corrientes. AR. Consultado 07 oct. 2007. Disponible en <http://www.biologia.edu.ar/>

Sánchez de Lorenzo Cáceres, JM. 2003. Árboles ornamentales (en línea). ES. Consultado 28 oct. 2006. Disponible en <http://www.arbolesornamentales.com>

Sánchez Guillén, JL. 2007. Inmunología (en línea). ES. Consultado 07 oct. 2007. Disponible en

[http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo_ov/2BCH/B5 MICRO INM/T52 INMUNOLOGIA/informacion.htm](http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo_ov/2BCH/B5_MICRO_INM/T52_INMUNOLOGIA/informacion.htm)

Soulsby, E.J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Artrópodos. 7 ed. MX. Nueva Editorial Interamericana. p. 457 – 479.

Suto, K *et al.* 1991. Application of supercritical fluid chromatography to determination of gingerols in zingiberis rhizoma. Shoyakugaku Sassi. Jamaica. p. 77 – 78.

Taboas Guimerans, S. 2004. Fitoterapia (en línea). Consultado 29 oct. 2006. Disponible en <http://www.mailxmail.com/curso/vida/fitoterapia/capitulo3.htm>

Tejedor, MC. 2007. Fraccionamiento y Análisis de Lípidos: Cromatografía en Capa Fina (en línea). ES. Consultado 14 oct. 2007. Disponible en http://www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica/cromatograf-lipidos.pdf.

Tizard, I. 1989. Inmunología Veterinaria. 3 ed. México DF, MX. Editorial Interamericana. p. 84 - 350

Ulloa U, GE. 1954. Resistencia a ectoparásitos en el ganado criollo lechero tropical. Tesis Med. Vet. Quito, EC. Universidad Central del Ecuador. 35 p.

Universitat de les Illes Balears. 2006. Herbario virtual del Mediterráneo Occidental (en línea). ES. Consultado 28 oct. 2006. Disponible en <http://herbarivirtual.uib.es/cas/especie/4169.html>

Valverde Morales, G. 1995. Evaluación de la Hemoterapia vs. Autovacuna para el tratamiento de Papilomatosis Bovina en Trópico. Tesis Ing. Zootecnista. Riobamba, EC. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 45 p.

Wagner, H; Bladt, S. 1996. An Thin Layer Chromatography Atlas. 2 ed. Springer Germany. Alemania. P. 293 - 300