



**UAGro**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# AVANCES EN LA PREVENCIÓN Y CONTROL INTEGRAL DE LA GARRAPATA DEL GANADO BOVINO EN MEXICO

**Dr. Rodrigo Rosario Cruz**

**Unidad de Investigación en Biotecnología**

**Salud y Ambiente (BioSA)**

**UA de Ciencias Naturales**

# Acapulco, Gro., México



# Interacciones garrapata-hospedador- Patógeno-¿productor?



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# ***Daños ocasionados por las garrapatas***

- **Directos**

- Daño a las pieles
- Transmisión de enfermedades
- Disminución de la producción de carne
- Disminución de la producción de leche
- Afección por otras enfermedades oportunistas que infectan los sitios de la picadura.
- Aumento de los costos de producción



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# ***Daños ocasionados por las garrapatas***

- ***Indirectos***

- Aparición de la resistencia
- Incremento del uso de los pesticidas
- Incremento del uso de antibióticos
- Muerte por enfermedades transmitidas por garrapatas.
- Contaminación ambiental
- Contaminación de la leche y carne.



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# Distribución geográfica de la garrapata del ganado



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# La frontera México-USA

SAMPLING, DISTRIBUTION, DISPERSAL

## Distribution of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (Acari: Ixodidae) Infestations Detected in the United States Along the Texas/Mexico Border

K. H. LOHMEYER,<sup>1,2</sup> J. M. POUND,<sup>1</sup> M. A. MAY,<sup>1</sup> D. M. KAMMLAH,<sup>1</sup> AND R. B. DAVEY<sup>3</sup>

J. Med. Entomol. 48(4): 770-774 (2011); DOI: 10.1603/ME10209



Busch et al. Parasites & Vectors 2014, 7:188  
http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/188

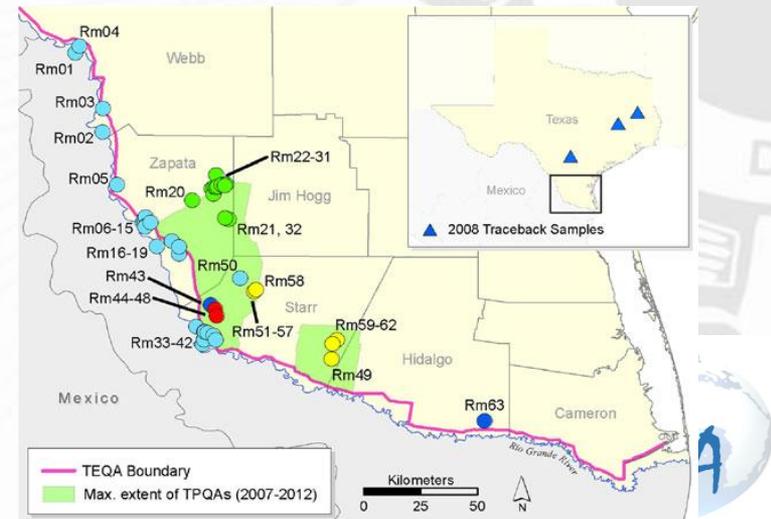


RESEARCH

Open Access

Widespread movement of invasive cattle fever ticks (*Rhipicephalus microplus*) in southern Texas leads to shared local infestations on cattle and deer

Joseph D Busch<sup>1</sup>, Nathan E Stone<sup>1</sup>, Roxanne Nottingham<sup>1</sup>, Ana Araya-Anchetta<sup>1</sup>, Jillian Lewis<sup>1</sup>, Christian Hochhalter<sup>1</sup>, John R Giles<sup>1</sup>, Jeffrey Gruendike<sup>1</sup>, Jeanne Freeman<sup>2</sup>, Greta Buckmeier<sup>2</sup>, Deanna Bodine<sup>2</sup>, Roberta Duhaime<sup>3</sup>, Robert J Miller<sup>4</sup>, Ronald B Davey<sup>4</sup>, Pia U Olafson<sup>2</sup>, Glen A Scoles<sup>5</sup> and David M Wagner<sup>1\*</sup>



Unidad de investigación en Biotecnología Salud y Ambiente.

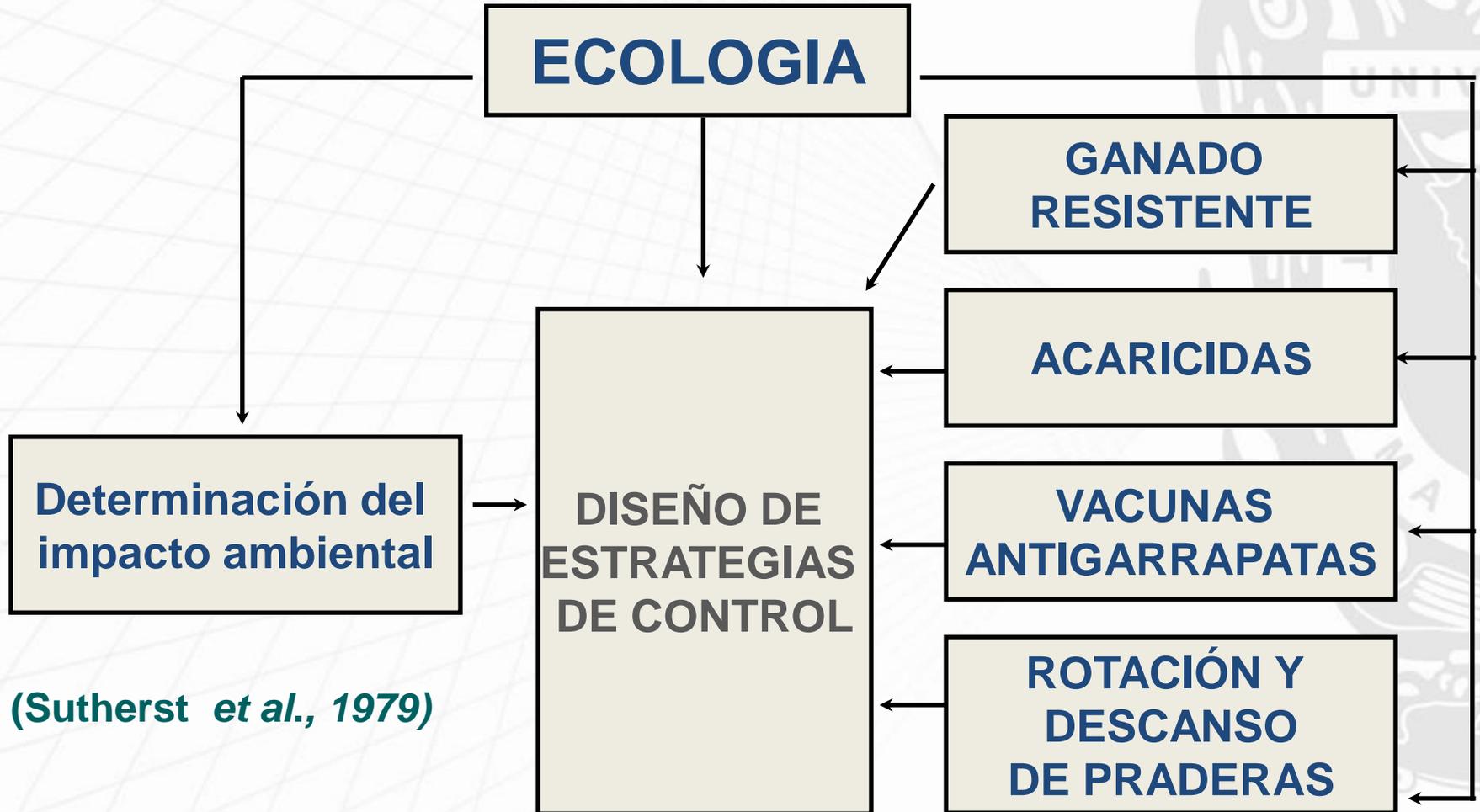
# ***Métodos de control***

- **Control Químico.** Acaricidas
- **Control Biológico.** Hongos entomopatógenos.
- **Control “Cultural”.** Rotación y descanso de praderas, cruzas de ganado resistente.
- **Control inmunológico.** Vacunas.
- **Control integral.** Combinación de dos o mas métodos de control.



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.

# Control integral



# Control químico

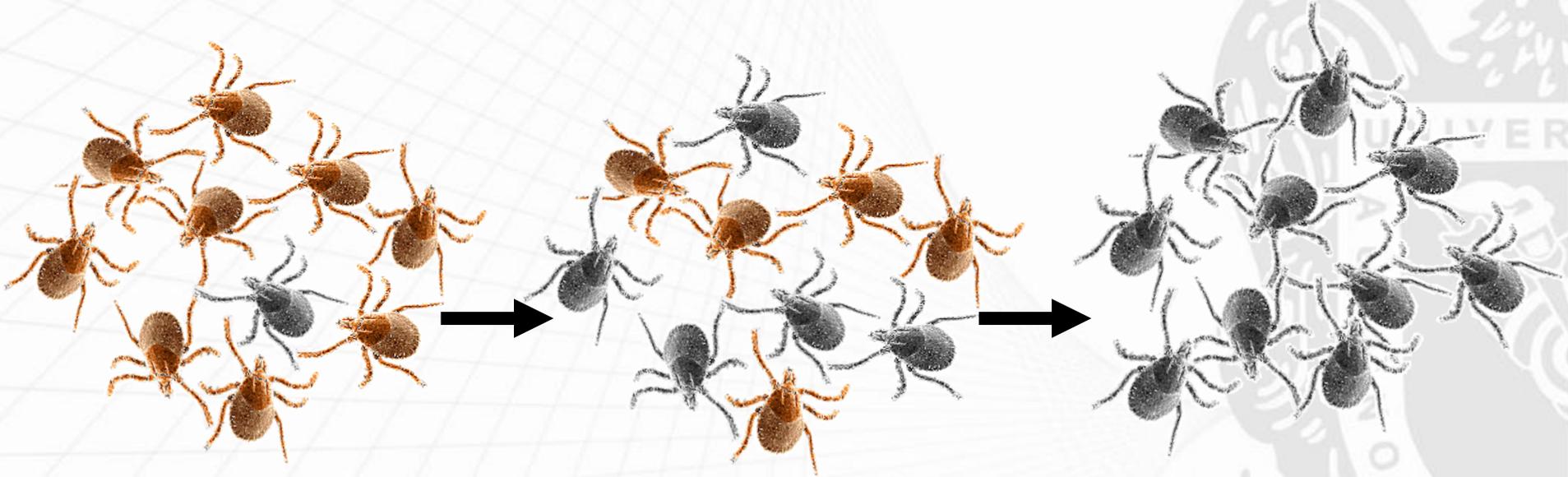


- Arsenicales
- Carbamatos
- Organoclorados
- Organofosforados
- Piretroides
- Formamidinas

Aplicación tópica: fluazurón y fipronil

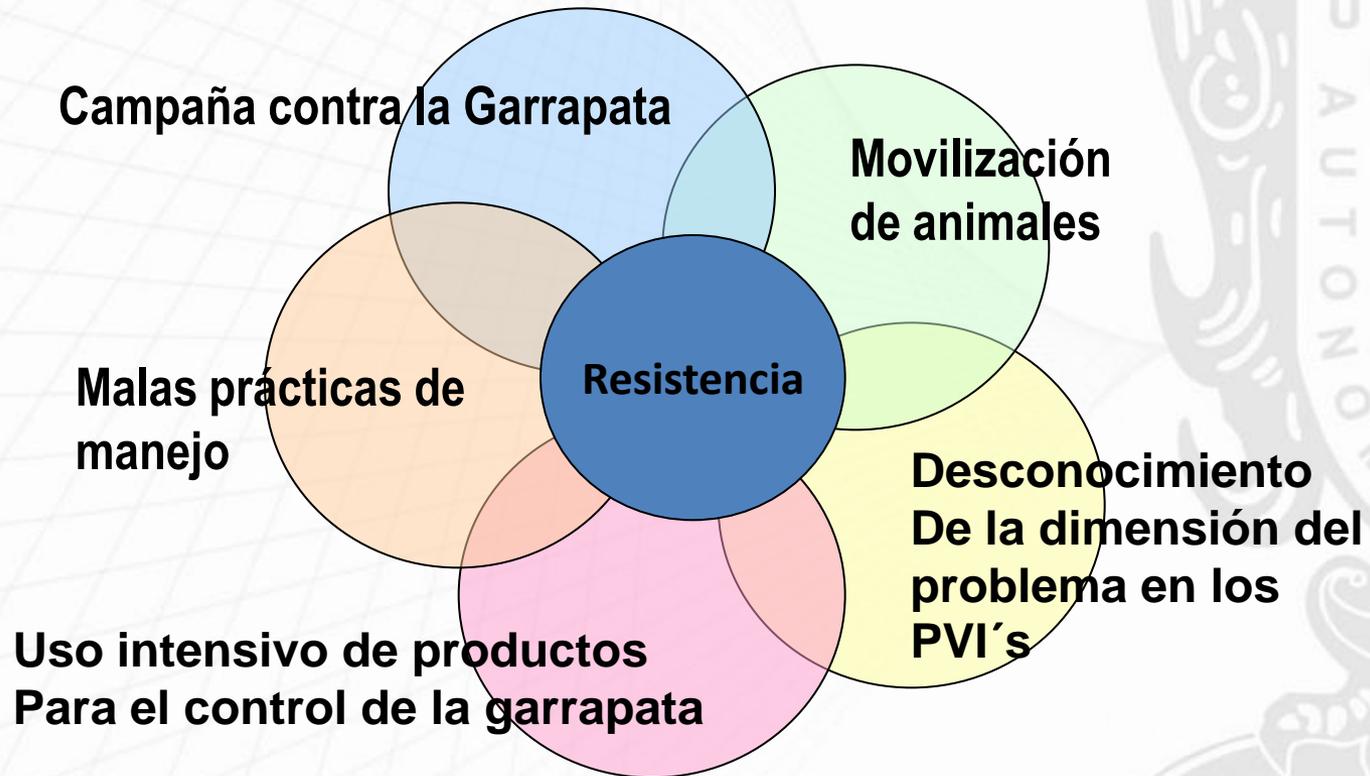
Inyectables: Lactonas macrocíclicas

# Selección de la resistencia



Condición genética que le confiere a una población de artrópodos la capacidad para adaptarse exitosamente a un ambiente tóxico a partir de un proceso progresivo de selección promovido artificial y/ó naturalmente (Rosario-Cruz, 2008).

# ***La resistencia es un fenómeno multifactorial***



# ***La solución requiere de la participación de todos***

- La ganadería representa un oportunidad de negocios importante, por la demanda existente.
- Existe la necesidad de resolver el problema de la resistencia por las limitaciones que infringe sobre la comercialización, debido a las restricciones no arancelarias y los gastos colaterales en las unidades de producción.
- Se cuenta con el personal científico capacitado.

# *Consecuencias Biológicas de la Resistencia*



# ***Consecuencias Biológicas de la Resistencia***

- Los pesticidas son una presión de selección constante en las poblaciones de garrapatas.
  - Selección de genes asociados con la resistencia.
  - Incremento progresivo de la concentración letal de los pesticidas utilizados para el control de las garrapatas, en cada generación.
  - Incremento en la contaminación ambiental.
  - Incremento en la concentración de residuos contaminantes en la carne la leche y el agua.
  - Falla general de los pesticidas.

# ***Control inmunológico***



***Se han desarrollado dos vacunas en el mundo, pero su eficiencia en México es muy baja (GAVAC) o nula (TICK GUARD).***

***Se requiere la utilización de una vacuna que prevenga las infestaciones por garrapatas.***

***No existen vacunas disponibles en el mercado en este momento.***

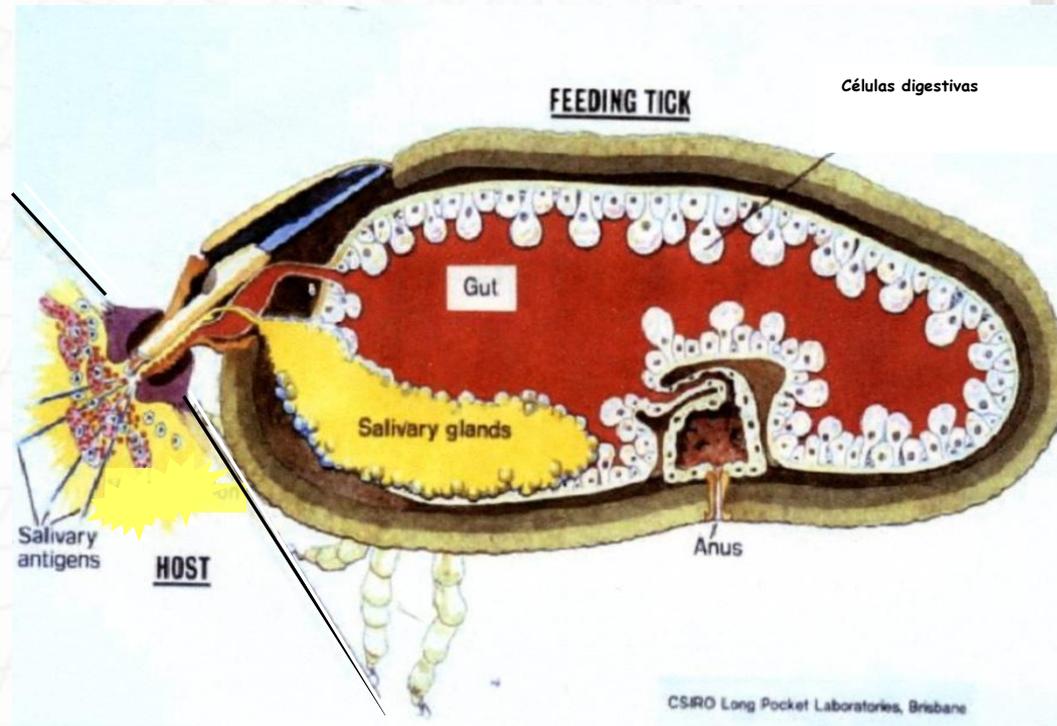
# *¿Qué son las vacunas?*

- Las vacunas son derivados proteicos de agentes patógenos que nos ayudan en la prevención de enfermedades producidas por parásitos, virus, bacterias, etc., activando los mecanismos inmunitarios.

# ***Tipos de Vacunas***

- Vacunas subunitarias. Proteína (s) purificada (s) a partir de proteínas totales de Parásitos, virus ó bacterias.
- Vacunas recombinantes. Proteínas producidas en bacterias a partir de la Tecnología de DNA recombinante.
- Vacunas vivas/muertas. Generalmente producidas a partir de parásitos, virus ó genotipos de bacterias apatógenas.

# ¿Cómo funcionan las vacunas Vs. Garrapatas?



CSIRO Longpocket Laboratories, Brisbane, Australia

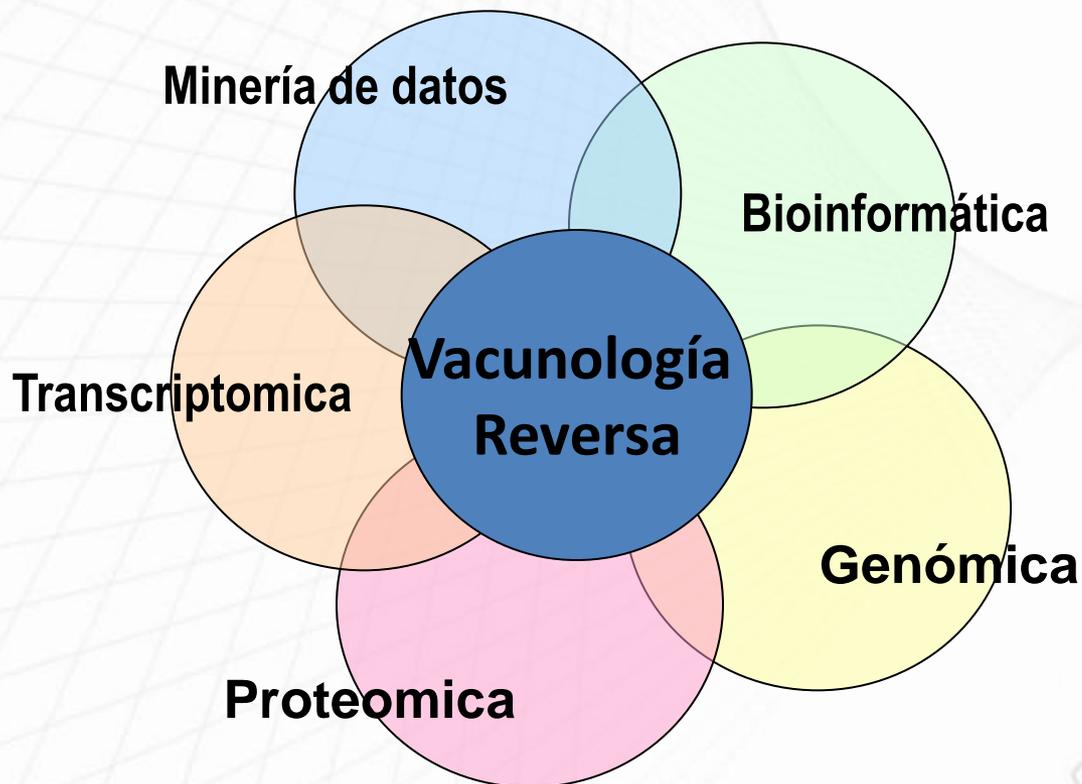
# *Ventajas de las vacunas*

- Disminuyen el uso de pesticidas.
- Reducen las poblaciones de garrapatas.
- Disminuyen la mortalidad del hato debida a las infecciones por *Babesia y anaplasma*.
- No contaminan el ambiente.
- No contaminan la carne ni la leche.
- disminuyen significativamente los costos de producción y los riesgos de intoxicación.

# ***Vacunas contra Garrapatas***

- Antigenos expuestos Vs. Antígenos ocultos?
  - Bm86
  - Subolesin
  - Ferritin
  - Aquaporin

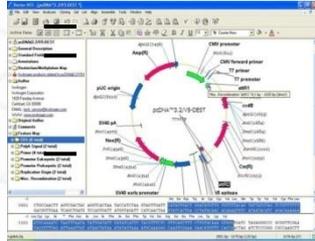
# ***La Bioinformática y el desarrollo de vacunas: BioSA***



# Objetivo

- Diseñar, vacunas potencialmente útil para la prevención y el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México.

# Estrategias Biotecnológicas para el desarrollo de vacunas reversas



Análisis *in silico* del gen y diseño de oligos

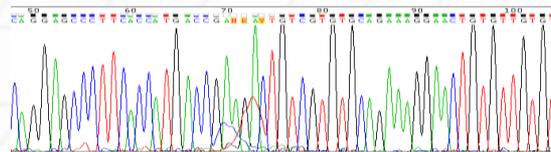


Larvas de *Bm* sin alimentar

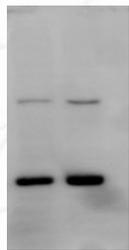
ARN total



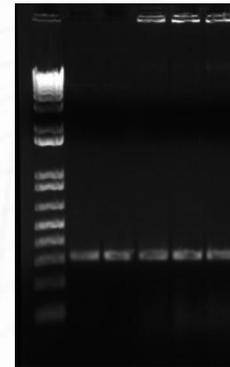
Amplificación por PCR



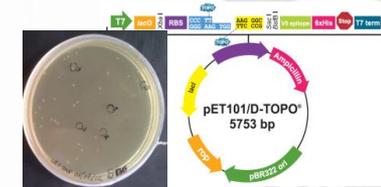
Secuenciación de los productos de amplificación por PCR



expresión en *E. coli* y Purificación



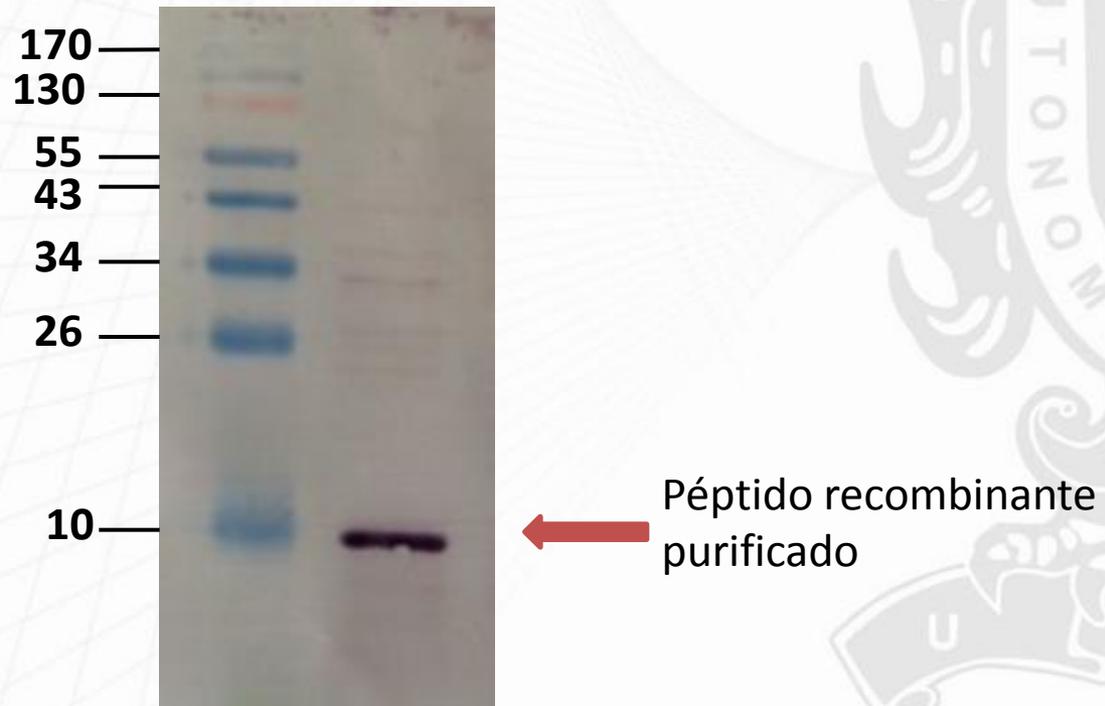
Análisis electroforético de los fragmentos clonados



Clonación de los productos de PCR en *E. coli*

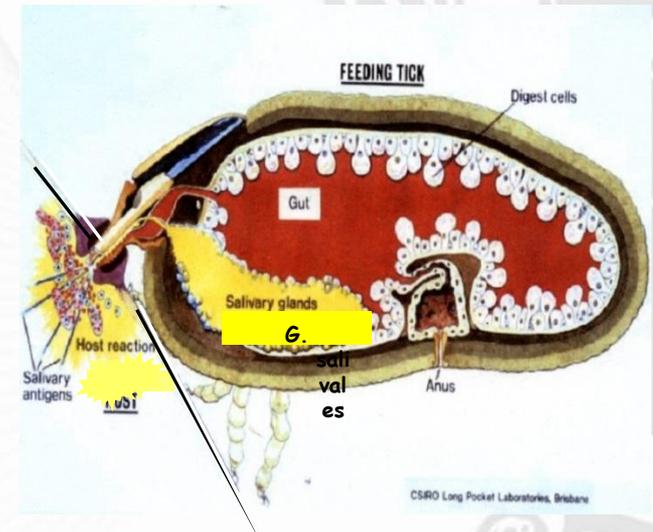
# Producción de una proteína

- El péptido se purificó por cromatografía de afinidad en columnas de níquel que contiene ligandos que retienen las etiquetas de Histidina con la que se marcó el gen y por lo tanto el péptido recombinante

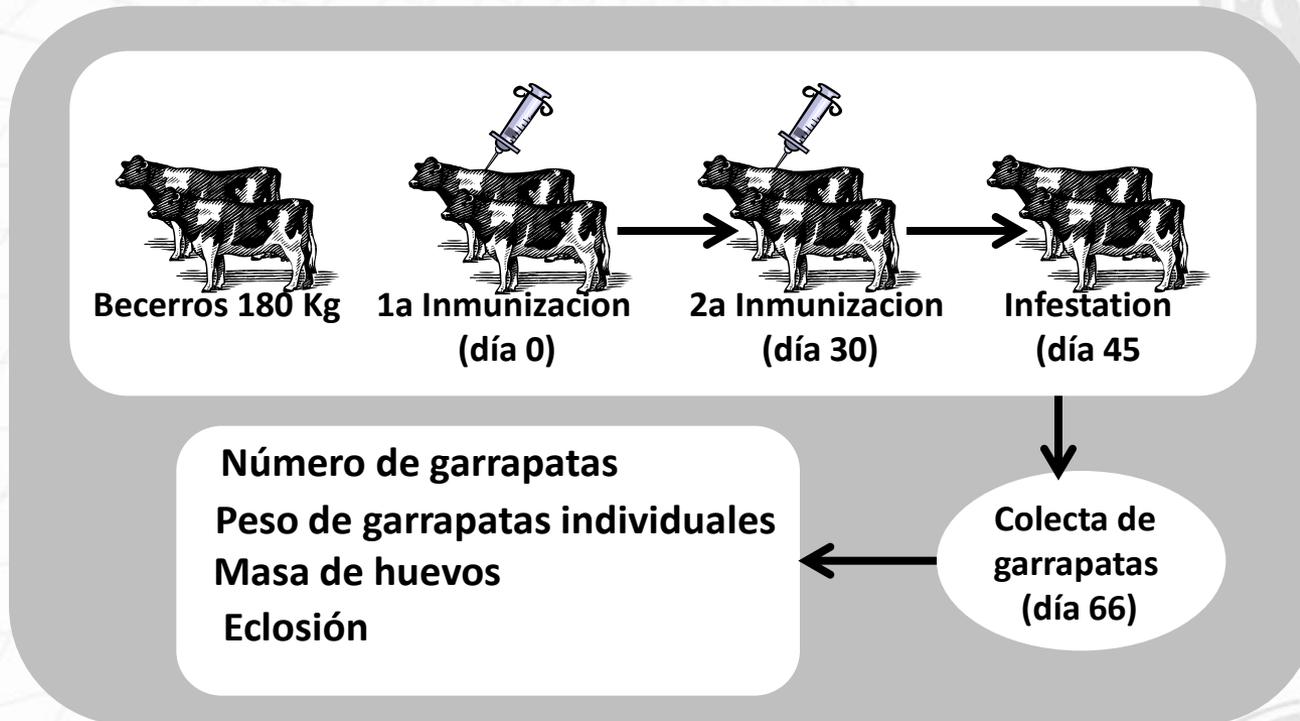


# CANDIDATOS VACUNALES

- **Subolesin.** Una proteína intracelular ortóloga de las akirinas identificada en la garrapata *Ixodes scapularis*.
- **Bm86.** Proteína de superficie de las células intestinales.

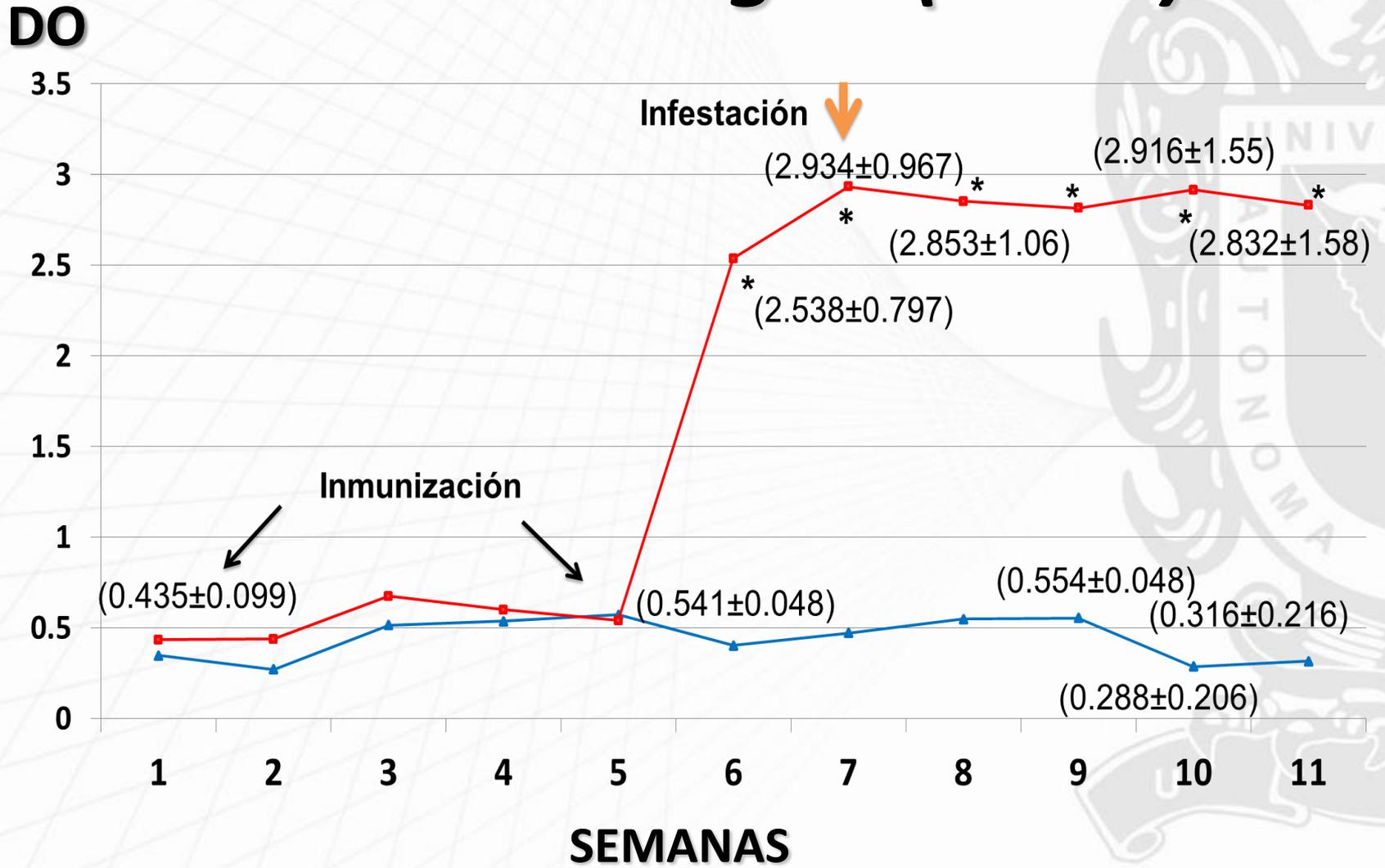


# Inmunización subolesin



SE TOMARON MUESTRAS DE SANGRE CADA SEMANA DESDE EL INICIO DEL EXPERIMENTO.

# Análisis serológico (ELISA)



# Efectos en los parámetros reproductivos

? Valores de los parámetros reproductivos evaluados post inmunización en becerros infestados con larvas de la cepa Mexicana "Media Joya Strain" (Promedio $\pm$ desviación estándar)				
Grupo Experimental	Número de garrapatas (TN)	Peso de garrapatas (TW)	Masa de huevos (EM)	Eclosión (EH)
Peptido recombinante	367	297	141	0.43
	179	307	149	0.45
	(273 $\pm$ 133)*	(302 $\pm$ 87)	(145 $\pm$ 50)	(0.44 $\pm$ 0.25)*
control Adyuvante/sol. salina	1147	253	118	0.59
	1459	293	134	0.67
	(1303 $\pm$ 221) *	(273 $\pm$ 42)	(126 $\pm$ 36)	(0.63 $\pm$ 0.16)*
<sup>a</sup> Reducción global (%)	<b>79%</b>	(NS)	(NS)	<b>30%</b>

?

# Inmunización Bm86



587 animales inmunizados (15 ranchos)	Number of pesticide application by year	Interval of pesticides applications	Annual Cost/animal based on an IPM program	Overall reduction of production cost
Vacunados (90%)	2.8	155 days	128.00 MX	68.6%
No vacunados (10%)	14	27 days	408.00MX	

# Ensayo de inmunización Bm86



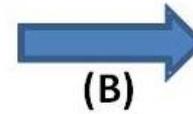
Grupo	Peso de garrapatas (mg)	masa de huevos (mg)	Indice reproductivo	Reduction de la masa de huevos
Vacunado	25.85±8 mg	1.62 mg (2.21%)	0.062	<b>86%</b>
No vacunado	166±17 mg	73±14 mg (100%)	.4397	



Colecta de garrapatas en cada rancho



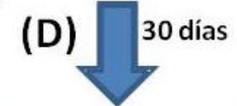
Diagnóstico toxicológico



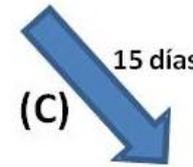
Aplicación del pesticida



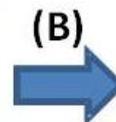
Primera dosis De la vacuna



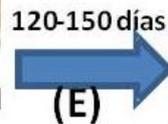
Revacunación



Aplicación del pesticida



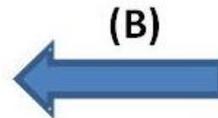
Monitoreo de garrapatas



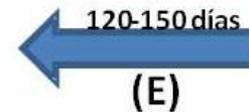
Revacunación



Aplicación del pesticida



Monitoreo de garrapatas



# ***Consideraciones finales***

- de genes clonados  
pueden ser utilizados para el control  
de artropodos hematófagos.

# ***Consideraciones finales***

- La tecnología de vacunas desarrollada en un país no necesariamente funciona para otro, la variación genética existe y es una limitante seria en este tema.
- El uso de genes locales de la proteína *Bm86*, mostraron una reducción significativa en la frecuencia de baños y de los costos de producción.
- El uso de una vacuna derivada del subolesin mostró una reducción significativa en el número de garrapatas y la eclosión pero no en el peso ni en la masa de huevos.

# *Consideraciones finales*

- 

las ya existentes.

tica, para mejorar



# ***Consideraciones finales***

- n de vacunas de manufactura Nacional, marcarán la diferencia entre los sistemas de control integrado y los métodos tradicionales, en un futuro cercano.

# ***Consideraciones finales***

- 

s largos.



# ***Consideraciones finales***

- 

nimos de pesticidas.



# ***Consideraciones finales***

Las estrategias de control integrado son importantes:

n de enfermedades.

n de babesiosis y anaplasmosis.

sustentable, amigable con el ambiente y con la salud humana, al producir alimentos inocuos.

# CAPACITACION EN TODOS LOS NIVELES



Unidad de investigación en  
Biotecnología Salud y Ambiente.



# AGRADECIMIENTOS

- A la REDGATRO, por la Invitación y apoyo para participar en esta reunión.
- CONACyT por el apoyo financiero otorgado a la Dra. Delia Inés Domínguez García y al Dr. Rodrigo Rosario-Cruz, Ambos profesores Investigadores de la Escuela Superior de Ciencias Naturales de la UAGro, para el equipamiento del Laboratorio de Investigación en Biotecnología Salud y Ambiente (BioSA).



Gracias por su atención ¡!

