PR-PAR -01

Nombre:	**Estudio de eficacia a campo de los garrapaticidas de aplicación y/o distribución “epicutánea”**
Fecha edición:	29/07/2013
Elaborado por:	Ulises Cuore P. con fecha 27/06/2013 11:18:08
Revisado por:	Valeria Gayo O. con fecha 11/07/2013 11:18:08
Aprobado por:	María A. Solari con fecha 27/07/2013 11:18:08
Motivo modificación:	
Documento anexo:	

Documentos relacionados:
No existen relaciones
Descripción:
No hay datos

1. Alcance de aplicación y objetivo

Evaluar la eficacia, tolerancia y residualidad de un garrapaticida de aplicación y/o distribución epicutánea (caravanas, *pour on*), en condiciones de campo frente a infecciones artificiales de *Riphicephalus (Boophilus) microplus*.

El criterio de aprobación, estará basado en la síntesis de los resultados de la prueba de establo y la de campo. Estos criterios se encuentran establecidos en el protocolo de prueba de establo (PR-PAR-01).

Los indicadores a tener en cuenta seran:

- la eficacia en el ciclo parasitario deberá ser igual o superior al 95%
- el período residual se fija restando a la cantidad de días post tratamiento sin caídas de garrapatas los 21 días del ciclo parasitario y estará determinado por el resultado menor de ambas pruebas.
- la curva de biodisponibilidad del producto con acción sistémica, será un insumo complementario a los resultados de la prueba biológica. Los diagnósticos estarán a cargo del laboratorio registrante.
- los resultados obtenidos deberán confirmar la información técnica (eficacia, residualidad y biodisponibilidad en productos sistémicos) suministrada en el dossier del producto

2. Responsables

Es responsable de la ejecución y supervisión de este ensayo el personal del Departamento de Parasitología, sección de Ectoparásitos del Laboratorio DILAVE "Miguel C. Rubino".

3. Materiales y equipos

3.1 Instalaciones de campo (potreros aislados con tubo adecuado para revisación)
3.2 Bovinos (*Bos taurus*) , raza Hereford, con un peso entre 120 a 200 Kg.
3.3 Población de garrapata de referencia sensible (*R. microplus*-cepa Mozo)
3.4 Coladores
3.5 Papel secante
3.6 Cajas de Petri
3.7 Etiquetas
3.8 Termómetro de máxima y mínima
3.9 Cubas para eclosión
3.10 Algodón
3.11 Espátula
3.12 Fuente de luz
3.13 Jeringas
3.14 Estufa regulada a 27°C y más de 80% de humedad
3.15 Balanza de precisión
3.16 Balanza para ganado
3.17 Freezer (menos 80ºC)
3.18 Lupa estereoscópica

3.19 Dispositivo para medir garrapata
3.20 Planilla de campo y de laboratorio

4. Procedimiento

4.1. Ubicación
La prueba se desarrollará en un campo de la DILAVE "Miguel C. Rubino".

4.2. Animales de prueba
Se trabajarán 12 terneros, de 8 a 10 meses de edad (aproximadamente 150 kg), raza Hereford, sin contacto previo con garrapata y sin tratamientos químicos que interfieran con el normal desarrollo de la parasitosis. Serán distribuidos en 2 grupos; control y tratado.
Los bovinos que ingresan a la prueba deben estar identificados individualmente (caravanas) y se vacunan contra Carbunclo, Clostridiosis y se los desparasita con Levamisol o Benzimidazol.

4.3. Potreros
Cada grupo de animales será ubicado en un potrero sobre campo natural. Los potreros cuentan con un alambrado perimetral convencional, con sombra natural. La separación entre ambos es de una calle de 6 metros de ancho.

4.4. Alimentación
Los animales serán suplementados con ración pelleteada.
La cantidad de ración a suministrar se basará en 3% del peso vivo de cada animal.
Dispondrán de agua *ad libitum*.

4.5. Infestación experimental
Se utilizará la cepa Mozo de *R. microplus*, originaria del Departamento de Cerro largo, Uruguay, la cual desde 1973 es mantenida y cultivada en el laboratorio del departamento de Parasitología, sin ser presionada por acaricidas ni presentar infección con hemoparásitos.
Desde 25 días previos al tratamiento los animales serán infestados individualmente con 100 mgr de larvas de 4 semanas de edad, dos veces por semana. Esto asegurará un buen grado de infestación y que al momento del tratamiento estén presentes los 3 estadios parasitando al bovino, larva, ninfa y adulto. Luego del tratamiento se mantiene infestaciones semanales con 100 mgr de larvas por animal, hasta que la primera garrapata mayor a 4,5 mm ingurgitada sea visualizada. Descontando los 21 días del ciclo parasitario obtenemos el tiempo de residualidad absoluta del producto sobre larvas infestantes. Las larvas infestantes se aplicarán en la zona ventral del animal, por considerarse una zona de predilección del parásito, evitando el lamido y en caso del *pour on* por ser la zona más distal a la aplicación del producto.

4.6. Técnica de recuento
Los animales se revisarán 2 veces por semana de acuerdo a la metodología descrita por Warthon y col. 1970, en horas de la mañana, registrándose la cantidad de ejemplares adultos (mayores a 4,5 mm) de un mismo lado del animal, esto representará la mitad de los parásitos presentes en el animal. Las garrapatas menores a 4,5 mm se registraron mediante un sistema de cruces (+), donde (+) representa hasta 10 garrapatas, (++) hasta

20 garrapatas y (+++) más de 20 garrapatas. Estas garrapatas menores de 4,5 mm deberán ser identificadas en su estadio evolutivo.
Se utilizarán instalaciones individuales para cada grupo de prueba.
Primero se realizará la observación del grupo testigo y luego el tratado.

4.7. Tratamiento

A los 3 días previos al tratamiento (días -3, -2, -1) se contará la cantidad de ejemplares adultos (mayores a 4,5 mm) para determinar el Porcentaje de Sobrevida de acuerdo a Roulston, W. J, y col 1968, y las garrapatas preferentemente deben superar 100 ejemplares por animal en promedio de cada grupo.
De acuerdo a las características usuales de caída de garrapata (modo), la fecha probable del tratamiento será a los 25 días de la primera infestación artificial considerada como el día 0 de la prueba.
Los animales serán tratados de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

4.8. Estudio reproductivo

Una vez realizado el tratamiento y en cada revisación, se seleccionarán hembras adultas mayores a 4,5 e ingurgitadas de cada grupo, las cuales serán llevadas al laboratorio (limpias, sin resto de materia orgánica y secas).

En el laboratorio se realiza un lavado con agua de canilla a baja presión y posterior secado con papel absorbente y se procede de acuerdo a la siguiente metodología:

1 Colocar diariamente 20 ejemplares seleccionadas al azar, en cajas de Petri plásticas (previamente pesada), con el registro de la fecha de caída.
2 incubar a 27ºC y 80% de humedad.
3 Luego de 14 días de incubación, desde la caída de la teleógina, se eliminan los cadáveres.
4 Registro de postura, se pesa la masa de huevos y se mantiene en estufa (27ºC y 80% de humedad) por 25 días.
5 Registro de % de eclosión.
6 Aplicación de fórmulas para determinar la performance de reproducción.

4.9. Poder residual

El estudio del poder residual se realizará mediante lectura de un mismo lado de los animales, registrando los estadios parasitarios presentes hasta que se encuentre ejemplares de garrapata ingurgitadas, los cuales serán incubados y analizado su comportamiento reproductivo.

4.10 Muestreo de plasma/suero

En productos de acción sistémica, previo al tratamiento y cada 7 días, se obtiene y procesa el plasma/suero.

4.11 Expresión de resultados

Con los datos obtenidos se aplicarán las siguientes fórmulas para evaluar la eficacia del producto "a campo".

Porcentaje de sobrevivencia (P.S.)

$$P.S.= \frac{A}{B} * \frac{D}{C} * 100$$

A- Promedio de ejemplares adultos del grupo testigo, por vacuno y por día durante los tres días pretratamiento.
B- Promedio de ejemplares adultos del grupo tratado, por vacuno y por día durante los tres días pretratamiento.
C- Promedio de ejemplares adultos en un día determinado del grupo testigo.
D- Promedio de ejemplares adultos en un día determinado del grupo tratado.

Porcentaje de control (% C)

$$\% C = \frac{\text{Media ejemplares del grupo testigo - Media ejemplares del grupo tratado}}{\text{Media ejemplares del grupo testigo}} \times 100$$

El poder residual será establecido en base a la primera garrapata mayor a 4,5 mm ingurgitada (restando los 21 días del ciclo parasitario), relacionado con el comportamiento reproductivo de las mismas.

4.12 Registros meteorológicos

Los mismos se obtendrán del Servicio Meteorológico Nacional (www.tutiempo.net).

4.13 Cronograma de actividades

Día	Evento
- 25	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 22	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 18	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 15	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 11	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 8	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 4	Infestación experimental de animales en campo (100 mg - Mozo)
- 3	Recuento de garrapata un lado del animal
- 2	Recuento de garrapata un lado del animal
- 1	Recuento de garrapata un lado del animal
0	Tratamiento e infestación (100 mg - Mozo)
+ 1 al 90 (o más)	Recuento de garrapata un lado del animal, 2 veces por semana e infestación (100 mg - Mozo). Muestreo para estudio reproductivo y biodisponibilidad en productos sistémicos)
+ 1 al 150	Trabajo de laboratorio
+ 180	Informe final

REGISTRO: Se lleva registro diario de los parámetros antes mencionados. Se adjunta planilla.

MINISTERIO DE GANADERÍA AGRICULTURA Y PESCA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY	**PROCEDIMIENTO**	DILAVE División Laboratorios Veterinarios Dr. Miguel C. Rubino
PR-PAR-03	**Estudio de eficacia a campo de los garrapaticidas de aplicación y/o distribución "epicutánea"**	Revisión 01

PLANILLA PRUEBA DE CAMPO APROBACION GARRAPATICIDAS

Laboratorio.....
Técnico.....
Telefono.....

Nombre comercial.....
Principio Activo.....
Dosis.....
Forma de aplicación.....
Tiempo de espera.....
Faena a partir de:.....

Fecha de 1ra.Infestación: **100 mg larvas.** **Cepa.....MOZO**
Fecha de última infestación:

Grupo

		Número de Caravana / Peso Vivo											
Día	Fecha	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)	Chicas	Nº Adultas (>4,5 mm)
-3													
-2													
-1													
0													

+ hasta 10 garrapatas< 4,5mm
++ de 10 a 20 garrapatas < 4,5 mm
+++ más de 20 garrapatas < 4,5 mm

PLANILLA ESTUDIO REPRODUCTIVO GARRAPATICIDA

GRUPO ………………………………..	
Laboratorio................................ Técnico...................................... Telefono.....................................	Nombre comercial................. Principio Activo..................... Dosis................................. Forma de aplicación.............. Tiempo de espera................. Faena a partir de:.................

		HEMBRAS CAIDAS		PESO HEMBRAS	PESO HEMBRAS	GRAMOS	%
DIA	FECHA	CHICAS	NORMALES	CAIDAS	INCUBADAS	HUEVOS	ECLOSION

MINISTERIO DE GANADERÍA AGRICULTURA Y PESCA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY	**PROCEDIMIENTO**	DILAVE División Laboratorios Veterinarios Dr. Miguel C. Rubino
PR-PAR-03	**Estudio de eficacia a campo de los garrapaticidas de aplicación y/o distribución “epicutánea”**	Revisión 01