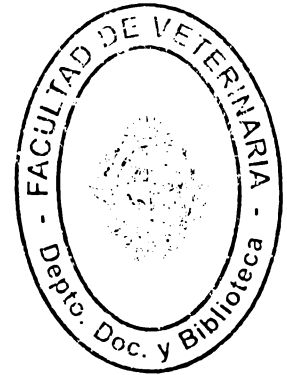




UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE UNA POBLACIÓN DE
Rhipicephalus (Boophilus) microplus, MANTENIDA EN CONDICIONES DE
CONFINAMIENTO SOBRE UN TERNERO**

por



Laura Rifran Franco
María del Rosario Silveira Soares de Lima

TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener
el Título de Doctor en Ciencias
Veterinarias

Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental



FV/28838

MONTEVIDEO
URUGUAY
2011

PÁGINA DE APROBACIÓN

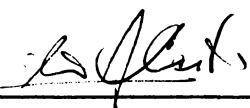
TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:




Dra. Perla A. Cabrera

Segundo miembro (Tutor):



Dra. Eleonor Castro Janer

Tercer miembro:



Dr. Álvaro Freyre McCall

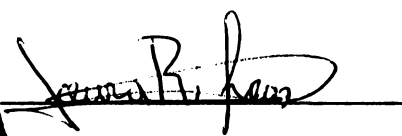
Fecha:

28/02/2011

Autor:

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 12 (doce) votos

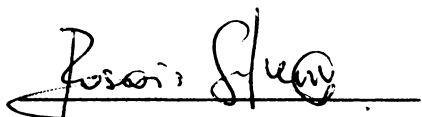


Br. Laura Rifran Franco

Autor:

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 10 (diez) votos



Br. Rosario Silveira Soares de Lima

AGRADECIMIENTOS

1. A la Dra. Eleonor Castro quien aceptó ser nuestra tutora y guía para hacer posible la realización de nuestro trabajo.
2. Al departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, por permitirnos usar las instalaciones.
3. Al Dr. Gustavo De Souza quien nos ayudo a adquirir el ternero para el ensayo.
4. Al tribunal de tesis por las sugerencias realizadas.
5. Al Departamento de Parasitología de la DILAVE (MGAP) por habernos cedido la cepa Mozo para iniciar el trabajo.
6. Al personal de biblioteca por su paciencia, colaboración y dedicación.
7. A nuestras familias, amigos y compañeros que nos acompañaron y apoyaron en las buenas y en las otras durante este proceso.

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

Cuadros

Cuadro 1.....	10
Cuadro 2.....	13
Cuadro 3.....	21
Cuadro 4.....	22
Cuadro 5.....	29

FIGURAS

Figura 1.....	5
Figura 2.....	6
Figura 3.....	6
Figura 4.....	7
Figura 5.....	8
Figura 6.....	10
Figura 7.....	17
Figura 8.....	18
Figura 9.....	22
Figura 10.....	24
Figura 11.....	24

GRÁFICAS

Gráfica N°1.....	20
Gráfica N°2.....	20

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	III
1) RESUMEN	1
2) SUMMARY.....	2
3) INTRODUCCIÓN	3
4) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
4.1 GARRAPATAS EN EL URUGUAY	4
4.2 GENERALIDADES DEL PARÁSITO	4
4.2.1 Ciclo Evolutivo	5
4.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	8
4.4 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS	9
4.5 PRODUCTOS UTILIZADOS PARA EL CONTROL.....	9
4.5.1 Desarrollo de la resistencia a pesticidas	11
4.6 LEGISLACIÓN ACTUAL.....	14
5) MATERIALES Y METODOS	15
5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	15
5.2 INSTALACIONES Y ANIMALES.....	15
5.3 CONFECCIÓN Y COLOCACIÓN DE CELDAS	15
5.4 INFESTACIÓN	16
5.5 INCUBACIÓN DE TELEÓGINAS Y REGISTROS A EVALUAR.....	16
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
6) RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
7) CONCLUSIONES.....	25
8) BIBLIOGRAFÍA	26
9) ANEXOS	29

1) RESUMEN

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, garrapata común del bovino, es una de las principales plagas que afectan a los bovinos. Su control se realiza principalmente con acaricidas, lo que ha llevado a la aparición de resistencia. Para la confirmación de la misma, las poblaciones de campo son reproducidas y mantenidas en terneros estabulados. Estas pruebas son de muy alto costo estando restringidas a Centros de Diagnóstico. Estos costos se pueden disminuir usando una menor infraestructura y una metodología de infestación que no interfiera con el comportamiento reproductivo del parásito. De esta manera se podrá contribuir con el monitoreo de la resistencia y permitirá, también, la realización de estudios biológicos de algunas poblaciones.

En el presente trabajo se estudió la influencia del confinamiento de una población de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en un ternero, sobre su comportamiento reproductivo.

Se realizaron 26 infestaciones confinadas de larvas de garrapata de la cepa Mozo, a través del uso de 6 celdas colocadas sobre la piel de la región toracoabdominal de un ternero. Las variables estudiadas entre las celdas fueron: peso de las teleóginas, número de teleóginas, peso de los huevos en los días 7 y 14, porcentaje de eclosión, protoquia y duración de la infestación. Se utilizó un modelo de regresión múltiple para los análisis de las variables determinándose una alta correlación entre el peso de las hembras ingurgitadas y el peso de los huevos. El confinamiento no influyó en ninguna de las variables estudiadas, aunque el porcentaje de recuperación fue bajo (2,6%). Tanto los valores de peso medio de las teleóginas (0,27 gr), como el porcentaje de eclosión (80%) fueron similares a los observados por otros autores en condiciones de infestación no confinadas.

Se concluye que la utilización de celdas colocadas en la piel del ternero para infestaciones confinadas es una alternativa viable para la ejecución de diversas pruebas biológicas y/o farmacológicas con poblaciones de garrapatas en un mismo animal, ya que los parámetros reproductivos no fueron alterados por las condiciones de confinamiento.

2) SUMMARY

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, the common cattle tick, is one of the major plagues affecting cattle. Its control is accomplished, mainly with acaricides which has led to the emerging of resistance. To confirm it, field populations are reproduced and maintained in tabulated calves. These tests are very expensive and are confined to Diagnostic Centers. The costs can be reduced using less infrastructure and a methodology of infestation that does not interfere with the reproductive behavior of the parasite. This way can contribute to monitor the resistance y will also allow the accomplishment biological studies of some populations

In this document we studied the influence of the confinement in a population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on a calf in its reproductive behavior.

There were made 26 confined infestations of Mozo strain tick larvae, through the use of 6 cells, placed on a calf's thoracic abdominal region skin. The variables studied were: engorged weight and number, egg weight at 7th and 14th days, percentage of hatching, protoquia and length of infestation. It was used a multiple regression model for variables analysis, determining a high correlation between the weight of the engorged females and egg weights.

The confinement did not have influence in any of the studied variables, although the recovery rate was low (2.6%). Both, the average weight values of engorged (0,27 gr), and the percentage of hatching (80%) were similar to those observed by other authors under unconfined infestation.

We conclude that the use of cells placed on calves skin for confined infestations is a viable alternative for the execution of various biological and / or pharmacological tests, with diverse ticks populations in the same animal as the reproductive parameters were not altered by the confinement conditions.

3) INTRODUCCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un importante ectoparásito obligatorio del ganado vacuno de diversas regiones templadas, tropicales y subtropicales del mundo (Cardozo y Franchi, 1994), es el principal vector de babesiosis y anaplasmosis bovina, causa considerables pérdidas económicas en la industria pecuaria como disminución de carne, leche y daños en el cuero, así como también es importante el impacto ambiental producido por los químicos empleados y los residuos dejados por el tratamiento. Las pérdidas directas e indirectas fueron estimadas a nivel mundial en US\$ 7 billones (Food and Agricultural Organization FAO, 2004) y en Uruguay en US\$ 45 millones anuales (Ministerio de Agricultura y Pesca-División General de Servicios Ganaderos- MGAP-DGSG, 2005).

El combate de las garrapatas con distintos grados de participación estatal, ha sido tan estimulante como preocupante. Estimulante, por sus posibilidades de aplicación en los más diversos sistemas productivos, tanto en sistemas marginales de subsistencia familiar como en los más modernos emprendimientos, con gran inversión de capital y tecnología. Pero a la vez preocupante, por las posibilidades de desarrollar resistencia, crear desequilibrios ecológicos y ocasionar residuos en carne y leche (Nari, 2005).

Esto ha justificado los esfuerzos para controlar y/o erradicar esta garrapata en aquellos lugares donde la erradicación es factible. En Uruguay su control está legislado desde el año 1940 y en 1956 fue aprobada una Ley (12.293) para su erradicación y donde se la declara plaga nacional (Barré y col., 1994).

Actualmente, las poblaciones de campo son reproducidas y mantenidas en terneros estabulados para el monitoreo de resistencia a plaguicidas. Este tipo de mantenimiento es de alto costo estando limitado a centros específicos de referencia y en nuestro país se realiza en el Laboratorio Miguel C. Rubino (DI.LA.VE - MGAP). Para que otros laboratorios puedan contribuir con el monitoreo, así como también poder realizar estudios biológicos de cruzamiento de poblaciones, es necesario disminuir esos costos adaptándose a lugares con menor infraestructura y con costos de mantenimiento más bajos. La realización de lo antedicho, no debe producir detrimento del comportamiento reproductivo de la garrapata y debe respetar los requisitos de bioética y bienestar animal.

Por otro lado, para la realización de estudios biológicos viables en centros educativos con infraestructura limitada, se justifica el estudio y la validación de nuevas alternativas de infestación. Muy pocos trabajos se han realizado en relación a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Recientemente, Labruna y col. (2009) estudiaron el cruzamiento de diferentes poblaciones de garrapatas en condiciones de confinamiento sobre un ternero, trabajo que ha inspirado la presente propuesta.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento reproductivo de una población de garrapatas en condiciones confinadas, a través de infestaciones controladas de larvas en celdas adheridas a la piel de un ternero, determinándose algunos valores morfológicos y biológicos entre garrapatas ubicadas en diferentes celdas sobre un mismo animal.

4) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 GARRAPATAS EN EL URUGUAY

El clima templado y húmedo que presenta el país durante la mayor parte del año y el pastoreo extensivo en pasturas nativas, conlleva al desarrollo de importantes desafíos parasitarios, que junto a otros problemas de salud animal, afectan la producción y productividad animal (Food and Agricultural Organization, FAO, 2006).

En el país han sido diagnosticados cinco géneros de garrapatas los cuales pueden parasitar al ganado. Estos géneros son: *Boophilus*, *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Barré y col., 1994).

La campaña sanitaria en Uruguay está referida exclusivamente al combate del género *Boophilus* debido a dos razones: por ser una garrapata de un solo huésped y porque los otros géneros no inciden económicamente en la producción pecuaria, siendo la única garrapata que transmite los agentes que producen la tristeza bovina (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*).

La garrapata adquiere gran importancia en el ganado vacuno, debido a que se presenta en un 70% de los predios ganaderos ubicados al norte de Río Negro y un 45% de los del Sur (Cardozo, 2007).

4.2 GENERALIDADES DEL PARÁSITO

Es un parásito externo del orden de los ácaros y forma parte de los artrópodos, que en griego significa "los que tienen patas articuladas". La garrapata se sitúa sobre la piel del hospedador, alimentándose de la sangre y otros fluidos de animales domésticos, salvajes y del hombre.

Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera:

Phylum: Arthropoda

Clase: Arachnida

Orden: Acarina

Familia: Ixodidae

Género: *Boophilus*

Especies: *B. microplus*, *B. decoloratus* y *B. calcaratus*.

El género *Boophilus* es vulgarmente conocido como la "garrapata común del ganado" (Drugueri, 2002).

Es originario de Asia y fue introducido en casi todo el mundo fundamentalmente con el ganado cebú. Como es un parásito con un buen poder de adaptación fue colonizando las regiones que le presentaban ciertas condiciones de clima para desarrollarse en las etapas de vida libre (Cardozo y col., 1984).

Boophilus microplus se distribuye geográficamente entre los paralelos 32 de los hemisferios norte y sur, considerándose uno de los principales ectoparásitos de los bovinos en algunos países tropicales y subtropicales (Lima y col., 2000).

Es precisamente la garrapata más evolucionada y adaptada al huésped, habiendo desarrollado a través de cientos de miles de años de evolución, la capacidad de mantener todos sus estadios de muda sobre el huésped. Dicha adaptación con el hospedador le ha permitido, a pesar de ser una garrapata relativamente delicada, disminuir drásticamente las pérdidas de individuos en el medio ambiente y así conservar eficientemente su especie (Barré y col., 1994).

4.2.1 Ciclo Evolutivo

El ciclo biológico está dividido en 2 fases.

Fase no parasitaria: se inicia cuando la hembra ingurgitada (teleógena) se desprende del bovino y busca un lugar oscuro y fresco para desovar, finalizando en la larva que migra a la vegetación en busca de un hospedero susceptible. Esta fase puede durar hasta 7 meses dependiendo de las condiciones ambientales (Nari y Fiel, 1994).

Fase parasitaria: inicia cuando la larva se sube a un hospedero, muda para transformarse en adulto donde se diferencia el sexo, se produce la copula y la hembra se ingurgita y desprende del huésped. Esta fase del ciclo no varía ya que las condiciones ambientales las crean la humedad y calor del cuerpo del bovino y es de 19 a 21 días promedio (Núñez y col., 1982).

Las garrapatas presentan cuatro estadios en su ciclo: huevo, larva, ninfa y adulto.

Una vez que la teleógena se desprende del huésped y cae al suelo, comienza el ciclo de vida libre, el cual se divide en los siguientes períodos: protoquia, ootoquia y metatoquia.

Protoquia: es el período comprendido entre el desprendimiento y el comienzo de la ovoposición. La teleógena ingurgitada (Figura 1) se desprende espontáneamente del huésped y busca lugares sombríos y protegidos para desovar.

Núñez y col. (1982) citando a Lahille, autor que estudió el ciclo de vida libre del *Boophilus microplus* en nuestro país, determinó que la protoquia dura de 2 a 4 días en los meses de verano, prolongándose en los meses mas fríos hasta 90 y 97 días.

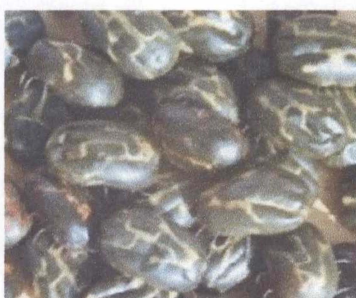


Figura 1. Teleógenas ingurgitadas Fuente: Junquera

Ootoquia: Se denomina así al período que se extiende desde que la teleógena desova el primer huevo hasta que desova el último, llegando a poner entre 2800 y 3000 huevos (figura 2).

Los factores ambientales tienen cierta influencia sobre la duración de este período siendo éste de 13 a 15 días en verano y de 35 a 45 días en invierno. En condiciones controladas de temperatura (27 °C) y humedad (95%) es de 15 días (Núñez y col., 1982).

En términos generales se puede decir que la ootoquia tiene doble duración en invierno que en verano y que en condiciones climáticas muy rigurosas puede triplicar en invierno las cifras estivales.

Metatoquia: Es el período de tiempo que transcurre entre el cese de la ovoposición y la muerte de la hembra denominada kenógina, es decir la hembra ovígera que ya cumplió su función. Según Núñez y col., (1982) este período varía entre 2 a 15 días.

Los huevos son de forma elíptica, miden aproximadamente 400 micras (Figuras 2 y 3), de color marrón oscuro y de superficie brillante como se observa en la figura 3. Durante el período de incubación los factores ambientales pueden influir decisivamente en su evolución ya que condiciones de temperatura y humedad pueden acortarlo o prolongarlo notablemente. Núñez y col. (1982) citando a Lahille, dice que en nuestro país las cifras extremas van de 19 a 51 días, con un promedio de 22. Durante la eclosión los factores ambientales también toman gran importancia, la luz solar la puede afectar seriamente, así como también la humedad del ambiente ya que si bien valores entre 80 y 90 % la favorecen, un exceso tiene consecuencias perjudiciales.



Figura 2.

Fuente: Junquera



Figura 3.

La larva de *B. microplus* mide aproximadamente 500 micras, es de forma ligeramente ovoide, posee 3 pares de patas y es de color marrón.

Poco después de la eclosión las larvas trepan el pasto y se ubican en gran número en el borde de las hojas evitando la luz solar (Figura 4). Estos grupos de larvas aumentan su actividad cuando en las cercanías detectan movimiento de algún cuerpo, adoptan una posición característica afirmándose en los 2 pares de patas posteriores y extendiendo el par anterior para prenderse al posible huésped. Las lluvias copiosas, pastos altos y temperaturas elevadas acortan al máximo el período de incubación pudiendo ser menor a tres semanas, así como el tiempo frío alarga notablemente el período (Núñez y col., 1982).



Figura 4. Fuente: Junquera

Una vez que la larva trepó al huésped, comienza rápidamente a buscar lugares apropiados para fijarse, estos son por lo general las zonas de piel laxa y con rica vascularización como entrepierna, zona perineal, papada, cuello y borde anterior de las orejas. En la etapa larval se reconocen características morfológicas como los tres pares de patas y la doble hilera dentaria en el hipostoma. Tras tomar contacto con el huésped perfora la piel de éste con los quelíceros, se fija por intermedio del hipostoma y comienza a alimentarse.

Aproximadamente 3 días más tarde pasa por un período que se denomina metalarva en el cual muestra una disminución del movimiento y sufre un proceso de metamorfosis y luego de la ecdisis pasa a ser ninfa 6 días más tarde.

En la etapa ninfal la característica morfológica más clara son los cuatro pares de patas. La ninfa no suele trasladarse lejos, luego de la ecdisis que ocurre a los 6 días, suele fijarse casi al lado de su ubicación anterior y rápidamente comienza a ingurgitarse tomando un color grisáceo. Una vez que la ninfa se inmoviliza, se convierte en metaninfa fase bastante prolongada del ciclo (9 días), en donde en los últimos días del estadio existe dimorfismo sexual bien marcado, las hembras denominadas neóginas son más grandes y de color más claro, mientras que los machos denominados gonandros son más pequeños y de color más oscuro.

Luego de la cópula la hembra empieza a ingurgitarse y cae para desovar (Núñez y col., 1982). En la figura 5 se observa el ciclo completo del parásito.

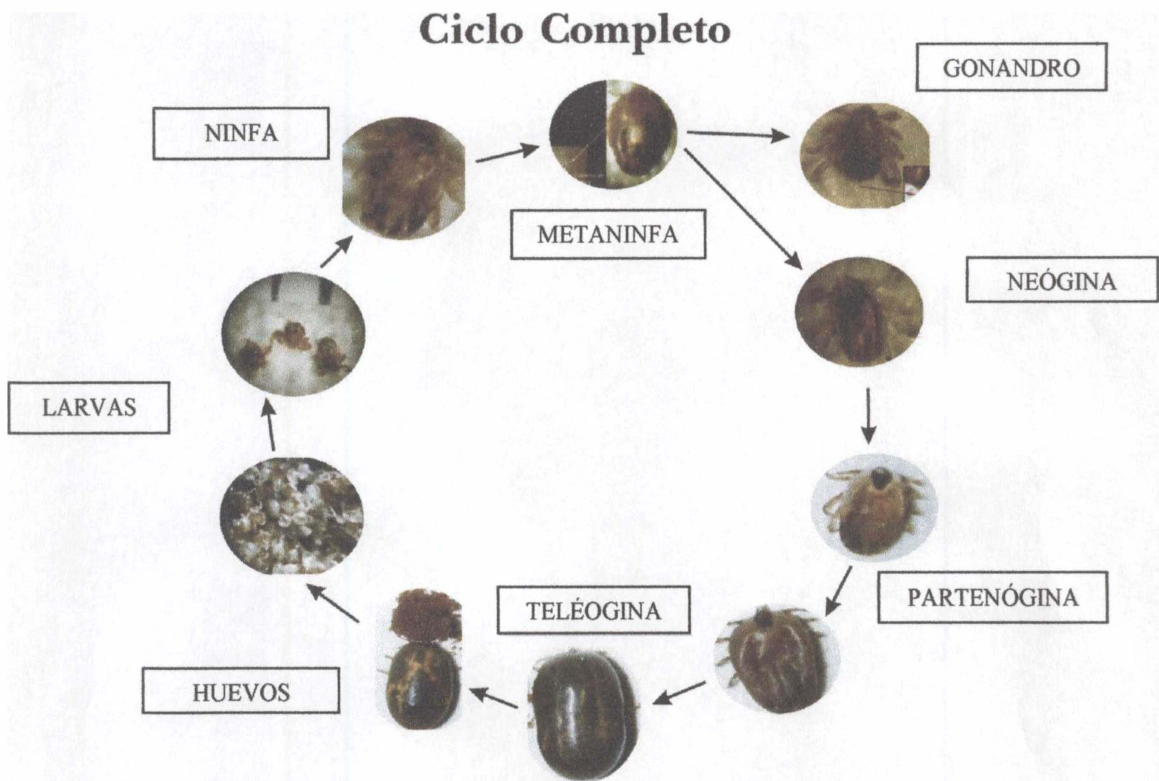


Figura 5. Ciclo del parásito

Fuente: MGAP, 2006.

4.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA

Como país netamente agropecuario, Uruguay cuenta con una importante población bovina de 11.735.796 cabezas (DI.CO.SE, 2009) que junto con la ovina, proveen el 57 por ciento del total de divisas anualmente disponibles en el país. En el corto plazo, se estima que el sector agropecuario es el único sector productivo nacional, con capacidad de crecimiento y potencialmente capaz de fortalecer la economía del país.

La garrapata común del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, es considerada el ectoparásito más importante en bovinos y su combate ha sido reglamentado desde año 1940 por Ley N° 9.965. En 1956 se declara plaga nacional y se crean recursos para combatirla, lo que demuestra la importancia asignada a su erradicación y control por parte de las autoridades nacionales (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca - MGAP, 2006).

Las pérdidas se pueden dividir en directas e indirectas. Las pérdidas directas son las producidas por la acción mecánica de inserción del hipostoma en la piel del hospedador, lo cual produce alteraciones permanentes en el cuero, afectando el curtido y utilidad de los mismos. La pérdida de sangre por la hematofagia produce anemia en infestaciones importantes (una garrapata succiona de 2 a 3 ml de sangre en su vida parasitaria).

Las pérdidas indirectas son causadas por el efecto inoculante de microorganismos como babesias, anaplasma, estafilococos, hongos, virus y

toxinas. Se deben considerar como pérdidas las relacionadas con el manejo del rodeo para la aplicación de ixodicidas que se traduce en un aumento del stress del animal con la consiguiente pérdida de peso, descenso de la producción de leche, retardo en la ganancia de peso, machucamiento de las reses, pérdidas de terneros por ahogo en los baños y abortos.

A esto debe sumarse, el mayor costo de producción por la introducción de gastos en otros rubros de inversión como la instalación de bañaderos, corrales, mangas y equipos para el tratamiento de los animales, el costo del garrapaticida como insumo sanitario y mano de obra para los diversos trabajos de las acciones sanitarias (Barré y col., 1994).

4.4 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS

Se asocia la presencia de garrapatas en los bovinos con la enfermedad denominada "tristeza". Este término, engloba en realidad a dos enfermedades, la babesiosis causada por *B. bovis* y *B. bigemina* y la anaplasmosis causada por *Anaplasma marginale*.

La prevalencia de la tristeza está íntimamente relacionada con la dinámica poblacional anual del *B. microplus*, apareciendo la babesiosis entre marzo-mayo, en cambio la anaplasmosis está más dispersa en el tiempo pudiendo ocurrir en pleno invierno y su transmisión es compartida con otros artrópodos y fómites.

Babesia y *Anaplasma* se ubican en el interior del glóbulo rojo y, al destruirlo, originan la anemia característica. Se presenta aumento de temperatura, lento desplazamiento, estupor (pérdida de la relación del animal con el medio) y excitación. Eventualmente, la intensa destrucción de glóbulos rojos hace que parte de su contenido (la hemoglobina) se elimine por la orina, que presenta un color rojizo (hemoglobinuria) (Radostits y col., 2002).

Las pérdidas causadas por los hemoparásitos están en función de las muertes, enfermedad, aborto, atraso en el ciclo productivo y tratamiento con antibióticos (Barré y col., 1994).

4.5 PRODUCTOS UTILIZADOS PARA EL CONTROL

La elección de un garrapaticida debe ser el resultado de la conjunción de dos aspectos, por un lado la evaluación que realiza el productor de acuerdo a las posibilidades operativas de su establecimiento, (instalaciones, disponibilidad de recursos humanos y financieros) y por otro lado la evaluación técnica global de la situación a cargo de un Veterinario (Cuore, 2006).

En nuestro país existen 4 formas de aplicación de los garrapaticidas: inmersión, aspersion, pour on (derrame dorsal) e inyectable.

Los productos utilizados en el Uruguay se presentan en el cuadro N° 1.

Cuadro N°1

Principio activo	Vía de aplicación
Piretroides	Inmersión
Mezclas	
Amidinas	
Ivermectina 1%	Inyectable
Doramectina 1%	
Abamectina 1%	
Moxidectin 1%	
Moxidectin 0,5%	
Eprinomectina 0,5%	<i>Pour on</i>
Ivermectinas 3,15%	
Flumetrin	<i>Pour on</i>
Fipronil	<i>Pour on</i>
Fluazurón	<i>Pour on</i>

Fuente: Cuore y col., 2008.

El conocimiento epidemiológico generado en el país, demuestra la presencia de tres generaciones por año de garrapatas, lo cual puede variar levemente dependiendo de las condiciones climáticas (factor año) y de los distintos ecosistemas. Como se muestra en la Figura 6, tradicionalmente la primera generación de garrapatas comienza a la salida del invierno, principio de agosto y se extiende hasta noviembre, en diciembre y enero se da la segunda generación y en los meses de febrero a mayo la tercera (Nari y col., 1986).

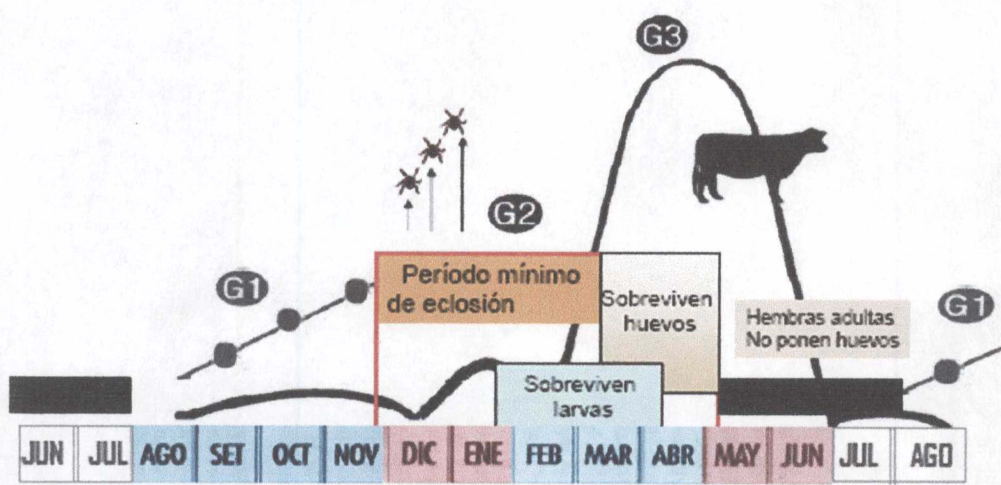


Figura 6.

Fuente: Nari y col., 1986.

4.5.1 Desarrollo de la resistencia a pesticidas

Para lograr los objetivos de una campaña como la que lleva adelante Uruguay debe sumarse el esfuerzo de todos los que están involucrados en la misma, a saber:

- El Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
- La profesión liberal
- Los productores rurales
- La industria farmacéutica

Solo el cumplimiento de los deberes y obligaciones de cada uno interactuando en forma conjunta podrá asegurar el logro de un bien común.

Debemos aceptar que aunque todos estos puntos se cumplieren existen factores inherentes al parásito que comprometen el éxito del objetivo planteado y uno de estos factores, es el desarrollo de la resistencia parasitaria (Cuore, 2006).

La resistencia se define como la capacidad adquirida por individuos de una población parásita que les permite sobrevivir a dosis de químicos que generalmente son letales para una población normal (Alonso y col., 2006).

La cría de especies productivas cada vez más intensiva y eficiente trajo como consecuencia la aparición de problemas de parásitos internos y externos que se constituyen en las principales causas de pérdidas económicas en los países con producción pecuaria. En las últimas décadas las industrias químicas han desarrollado acaricidas, insecticidas y antihelmínticos de gran eficiencia y aplicación práctica lo que llevó al productor agropecuario a su utilización sistemática, sin diagnóstico ni asesoramiento profesional. Esto trajo como consecuencia la aparición de resistencia de los parásitos a los productos químicos. Este problema se ha difundido en todas partes del mundo donde fueron utilizados intensivamente.

Un trabajo reciente llevado a cabo por la FAO (2003) a solicitud de la OIE, muestra que el 55% de los países miembros de la OIE (n=151) admite tener problemas de resistencia en especies de endo y ectoparásitos de importancia económica en rumiantes. El 22% de estos países presentan 2 o más especies con resistencia (ej: *Boophilus microplus* y *Haematobia irritans*) por lo que es importante considerar el control, a aquellas especies que conviven en el mismo huésped. Resulta cada vez más evidente la necesidad de disponer de alternativas de control, que manejen globalmente el problema resistencia y utilicen tecnologías de bajo costo. Esto es especialmente cierto en países en vías de desarrollo, cuyas prioridades pasan más por la sustentabilidad del sector agropecuario, que por la aplicación de costosas tecnologías (Nari y col., 2000).

La resistencia constituye el principal problema técnico en los programas de control de pestes y vectores en la agricultura, en la producción pecuaria y en la salud pública (Shidrawi, 1990). Hasta el momento, se ha diagnosticado resistencia de *R. (B.) microplus* a organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz, ivermectina y, recientemente, fipronil. Debido a los grandes problemas de resistencia, hay una urgente necesidad de desarrollar contramedidas para su control, pero es necesario, entre otras cosas, realizar un diagnóstico de situación y monitorear el uso de los plaguicidas a lo largo del tiempo. Para ello, se utilizan bioensayos *in vivo* o *in vitro*.

Para los bioensayos *in vivo*, se utilizan boxes experimentales para colectar garrapatas de acuerdo al diseño descrito por Roulston y Wilson (1964). Se requieren como mínimo 3 animales para control y 3 para tratamiento, es necesario que pertenezcan a rodeos de cría libres de garrapata y que no hayan tenido exposición previa a garrapaticidas.

En estos boxes permanecen los animales control y tratados los cuales son infestados artificialmente con 10000 larvas de una cepa seleccionada. Luego de 20 días las teleóginas se recogen diariamente mediante el lavado de los pisos donde caen. En el laboratorio se cuentan y pesan para luego ser incubadas a 27° con 85% de humedad relativa, a los 7 días siguientes se pesan los huevos. Dependiendo del estadio que se quiera testear es cuando se realiza el tratamiento, pudiendo ser luego de la infestación, en la mitad o al final del período, (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority).

Cuore y col., (2007) en uno de sus trabajos para diagnóstico de resistencia a Fipronil utilizó 9 animales de la raza Hereford con un peso promedio de 150 Kg, con los requisitos sanitarios antes mencionados. Formó 3 grupos de 3 animales cada uno, usó un grupo de testigo el cual fue desafiado con la cepa susceptible de referencia, y los otros dos fueron desafiados con la población de garrapata con sospecha de resistencia, los animales fueron infestados con 100 mg de larvas.

Uno de los grupos con la cepa sospechosa y el grupo con la cepa susceptible fueron tratados con acaricidas y el grupo restante con la cepa sospechosa lo usó como testigo del tratamiento.

Este tipo de ensayo es útil ya sea para diagnóstico de resistencia o susceptibilidad así como también para estudiar la eficacia o aprobación de un producto ixodicida nuevo en el mercado, en este caso se usan varios testigos para poder compararlos.

Bioensayos *in vitro*: Son los más usados en el mundo, unos utilizan larvas y otros teleóginas.

Dentro de estos se destacan el TIA (Test de Inmersión de Adultos (Drummond y col., 1973) que utiliza teleóginas inmersas en una concentración acaricida, TPL (Test de Paquete de Larvas) (Stone y Haydock, 1962), las larvas son expuestas en un papel filtro impregnado en acaricida, en 24 horas se cuantifica la mortalidad.

TIL (Test de Inmersión de larvas (Shaw, 1966), en este caso las larvas son inmersas en concentraciones distintas de acaricida. Las larvas deben tener 6 semanas en ambos tests.

Cuadro N° 2 Reportes de Resistencia en algunos países.

Principio Activo	Uruguay	Brasil	Argentina	México
Fosforados	+	+	+	+
Piretroides	+	+	+	+
Amidinas		+	+	+
Lactonas macrocíclicas		+		+
Fipronil	+	+		
Fluazurón				

Fuente: Adaptado de Cuore y col., 2007.

En Uruguay se comienzan a usar los acaricidas organofosforados a fines de la década del 50. Estos se usaron con buen éxito durante 18 años, en que comenzaron a aparecer los primeros problemas de resistencia. En esos momentos, ante la aparición de los piretroides sintéticos en el mercado y obedeciendo más a razones comerciales que técnicas, se cambiaron los fosforados por piretroides. Estos se mantienen dominando en el mercado por 16 años, momento en el cual se comenzaron a diagnosticar los primeros problemas de resistencia a estos núcleos químicos a mediados de la década del 90. Las amidinas se comenzaron a usar en la década de los 60 pero su aplicación se hizo más intensiva luego de la aparición de los primeros problemas con los piretroides.

Actualmente existen reportes de problemas de resistencia en Brasil, Argentina, Colombia y México (Cuadro N°2). En los últimos años han salido al mercado nuevos núcleos químicos como las lactonas macrocíclicas (LMs), fipronil y fluazurón. Se reportó resistencia a las LMs y fipronil en Brasil (Río Grande del Sur), (Martins y Furlong, 2001; Castro-Janer, 2010) y en Uruguay fue diagnosticado recientemente resistencia a fipronil (Cuore y col., 2007; Castro-Janer y col., 2009).

En México, Pérez- Cogollo y col. (2009) diagnosticaron resistencia a LMs.

4.6 LEGISLACIÓN ACTUAL

Con fecha 17 de abril de 2008, se aprobó la nueva Ley de garrapata N° 18.268. Esta ley toma la ley anterior del año 1956 y recoge la realidad del país que es la existencia de una zona con garrapata que es endémica en el norte y esporádica en algunas áreas del sur.

La estrategia de lucha se basa en el estudio de riesgo de establecimiento y las diferentes zonas, por lo cual es fundamental el trabajo de las comisiones locales y de los veterinarios privados.

Los elementos más destacables incorporados en la Ley son:

Un articulado que permite adecuar la estrategia de la campaña sanitaria de lucha contra la garrapata *B. microplus* mediante:

- La zonificación del país en zonas libres, de control y erradicación.
- La calificación de riesgo epidemiológico.
- El uso responsable de los específicos veterinarios para proteger la inocuidad de los alimentos, la salud y el medio ambiente.
- Mayores responsabilidades a los propietarios del ganado y a los veterinarios del libre ejercicio.

Se creó un área de control en el Norte del país donde la garrapata es endémica (en el que se aplicarán medidas diferenciales y se dictará la interdicción del mismo), una zona o área libre, ubicada en el Sur y litoral Oeste, así como un área de erradicación que comprende las zonas donde, por razones ecológicas, se puede llegar a eliminarla (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca – Dirección General de Servicios Ganaderos, MGAP/DGSG, 2010).

5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un ternero de tres meses de edad durante cuatro meses, el cual fue infestado con larvas de *B. microplus* de la cepa Mozo. Las infestaciones se realizaron de forma confinada con celdas de contención las cuales fueron pegadas en diferentes regiones del tronco del animal. Se realizó la colecta manual de teleóginas para posterior registro de valores reproductivos.

5.2 INSTALACIONES Y ANIMALES

Se seleccionó un ternero de la raza Holando de 3 meses de edad (Manolo) de un establecimiento de la zona libre de garrapatas. Fue alojado en un box de hormigón de 3 x 6 m, localizado en la Facultad de Veterinaria, Montevideo, donde permaneció desde el mes de enero hasta abril.

El sector abierto, así como la puerta de ingreso al box, fueron completamente cubiertas con malla sombrite (80%) para evitar el ingreso de moscas (*Mosca domestica* y *Stomoxys calcitrans*).

El ternero tuvo un período de adaptación de 15 días donde se le realizó un análisis coprológico para la determinación de huevos de nematodos gastrointestinales y ooquistes de coccidias con la técnica de Mc. Master. A la semana se lo vacunó contra clostridiosis. Durante los dos primeros meses se realizaron análisis coprológicos quincenales y luego mensuales. En el período de confinamiento se le administró heno, sal mineral, vitaminas, ración y agua a voluntad.

5.3 CONFECCIÓN Y COLOCACIÓN DE CELDAS

Las celdas se confeccionaron con tela de lona de algodón con una base anular de 20 cm de diámetro y 5 cm de largo, cosida por su diámetro interno a un cilindro del mismo tejido, de 18 cm de longitud. La metodología de aplicación fue realizada de acuerdo a trabajos de Labruna, quien ha aplicado este tipo de modelo experimental utilizando celdas de contención sobre animales (perros, conejos y terneros). En unos de sus trabajos realiza la cruce de *R. microplus* provenientes de Australia, África y América para estudiar su comportamiento reproductivo teniendo como resultado cepas fértiles y otras infértiles, también demostró que cepas de garrapata de África y Argentina son de la misma especie, mientras que las de Australia son genéticamente diferentes. (Labruna, 2009).

En otro trabajo realizado con perros con la misma metodología estudió si *R. microplus* en perros infectados experimentalmente con *Rickettsia rickettsi*, podrían transmitir la bacteria a huéspedes susceptibles y si esas garrapatas podían mantener la bacteria por las transmisiones transtadial y transovárica (Labruna, 2008).

En 3 oportunidades se rasuró todo el tronco del ternero con máquina eléctrica para la colocación de las celdas y para facilitar la observación de posibles

fugas de larvas o ninfas. El lugar de fijación de las celdas, se rasuró con hoja de afeitar (superficie de 20 cm de piel).

El tronco del ternero fue sectorizado imaginariamente en 6 regiones por lado donde fueron ubicadas las celdas. Para la adhesión de la celda se utilizó un pegamento inocuo para la piel (Kamar®, USA) sobre la base de la misma y se dejó secar por un minuto antes de pegarlo a la piel. El extremo libre de la celda fue cerrado con leucoplast. Luego de 24 horas, las celdas fueron abiertas para colocar las larvas de garrapatas.

5.4 INFESTACIÓN

Se usaron larvas de la cepa Mozo cedida por el Laboratorio de Parasitología de la División de Laboratorio Veterinarios (DI.LA.VE) "Miguel C. Rubino". Esta cepa susceptible a los acaricidas es conocida internacionalmente y es mantenida en el laboratorio desde 1973, a través de pases sucesivos en bovinos cada 70 días.

Para evitar que el ternero se quitara las celdas, se le colocó un collar realizado con dos maderas (Figura 8). Diariamente por la mañana y la tarde, se controló la completa adhesión de la celda a la piel.

De acuerdo a la disponibilidad de larvas, durante 14 semanas se realizó una o dos infestaciones semanales, con una cantidad media de 100 mg por celda, que corresponden aproximadamente a 2000 ejemplares, en total se utilizaron 26 celdas durante el experimento.

A partir del día 19 de infestación, las celdas fueron abiertas para la recuperación manual de las teleóginas (hembras ingurgitadas con un tamaño mayor de 4,0mm), como se muestra en la Figura 9. Este procedimiento fue realizado durante 7 días o más en aquellos casos donde todavía se constataba la presencia de teleóginas. Las celdas se retiraron definitivamente de la piel del animal a los 45 días.

5.5 INCUBACIÓN DE TELEÓGINAS Y REGISTROS A EVALUAR

Después de la colecta manual las teleóginas se contaron, pesaron, agruparon por celda y por día y se colocaron en placas de Petri previamente identificadas. Se registraron los siguientes parámetros: peso y cantidad de teleóginas, peso de los huevos y % de eclosión.

Las placas fueron mantenidas en estufa a temperatura entre 27 - 28 °C y con 85 - 90 % humedad relativa del aire por 15 días, condiciones ideales para que comenzaran la ovoposición (Figura 10 y 11).

A los 7 y 14 días de comenzada la postura se registró el peso de la masa de los huevos, luego se colocaron en tubos, se taparon con algodón y se mantuvieron en las mismas condiciones de temperatura y humedad antes mencionadas para que comenzara la eclosión.

A la 6ª semana, se registraron los porcentajes de eclosión de las posturas. Las larvas eclosionadas fueron utilizadas para posteriores infestaciones en el animal.

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa Stata 10 (StataCorp, 2007). Con el objetivo de tener un resultado de aplicación práctica para estudios futuros de resistencia fue determinada la correlación entre el peso de los huevos a los 7 (ph7d) y 14 (ph14d) días. También se estudió la correlación entre el peso de las hembras y el peso de los huevos.

Para el cálculo del índice de fecundidad (IFec) fue usada la siguiente fórmula:

IFec= (peso de los huevos depositados (g)/peso de las hembras (g)) x % de eclosión.

Fue realizada una regresión múltiple donde la variable respuesta fue el IFec y las variables independientes fueron: peso de las teleóginas, peso de los huevos, protoquia, fecha de infestación y región donde fue colocada la celda. También fueron realizadas regresiones múltiples teniendo como variable respuesta el peso y el número de hembras colectadas.

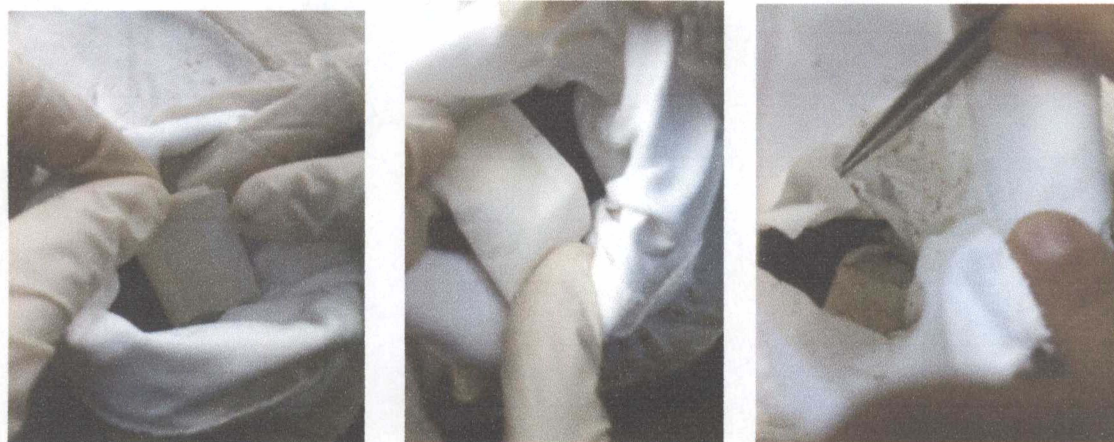


Figura 7. En la imagen se muestra el procedimiento de la infestación dentro de las celdas.



Figura 8. Se muestran los lugares de ubicación de las celdas sobre el ternero.

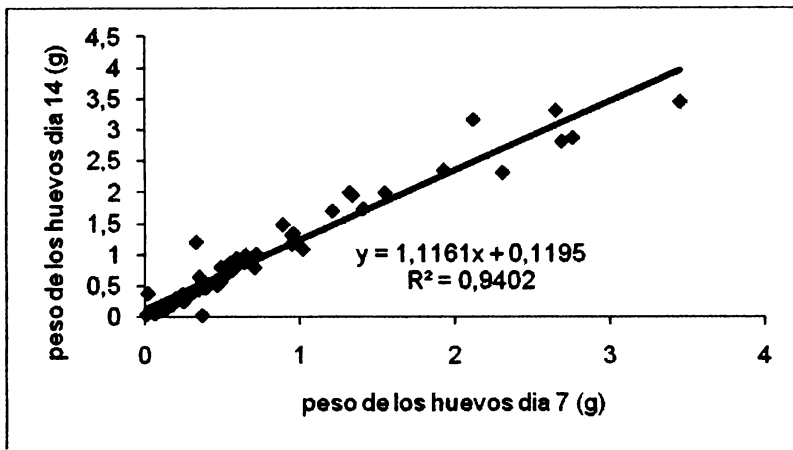
6) RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En términos generales, la adhesión de las celdas en las distintas regiones del animal se mantuvo completa a lo largo del experimento. Sin embargo, dos celdas ubicadas en regiones diferentes presentaron problemas de adhesión. Una celda ubicada en la región dorso-escapular fue despegada parcialmente en tres oportunidades. Esta celda tal vez no fue pegada apropiadamente desde el inicio, por lo cual el roce del collar contribuyó a despegarla. La celda que se colocó en el anca, fue retocada con pegamento casi diariamente. Es posible que esa localización haya ofrecido mayor accesibilidad al rascado contra las paredes que las otras regiones, por lo que esa región se utilizó sólo una vez para la colocación de las celdas. Otro hecho que también pudo haber contribuido fue que en un par de oportunidades, el collar del ternero se corrió permitiendo que el mismo alcanzase con la boca el extremo libre de la celda e intentara arrancarlo. En ninguna oportunidad hubo desprendimiento total de las celdas. Algunas celdas fueron retocadas con pegamento cuando se observó que la base anular comenzaba a levantarse. En concreto, se puede decir que una vez que hay desprendimiento de la celda es muy difícil mantener una adhesión total, tal vez porque no se puede retirar completamente el pegamento anterior, por lo cual se exige una atención diaria.

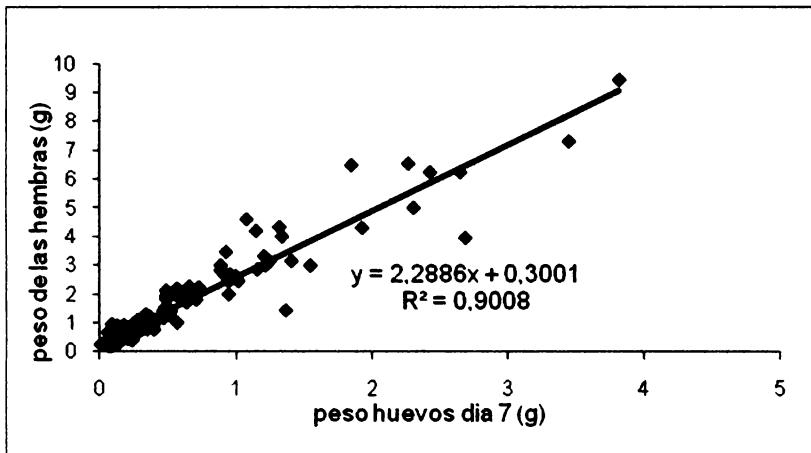
En la Figura 9 se muestran las teleóginas dentro de las celdas en el momento de su recolección. Las Figuras 10 y 11 se muestra el acondicionamiento de las teleóginas para la postura. Se estudiaron los parámetros en un total de 1264 garrapatas. La correlación entre el peso de los huevos a los 7 y 14 días fue muy alta ($R^2=0,94$, $n=1264$), coincidiendo con lo registrado previamente por Castro Janer y col. (2009), gráfica N° 1. El confinamiento no influyó en la postura.

El registro del peso en dos oportunidades es con el objetivo de determinar precozmente un valor confiable que puede ser usado para el diagnóstico de resistencia, si bien ese no es el objetivo de este trabajo, estudiamos este parámetro con una finalidad práctica para quienes deseen realizar estudios de resistencia en infestaciones controladas.

Sin embargo, hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el peso de los huevos registrado a los 7 (0,072 g) y a los 14 días (0,095 g), lo que era esperable ya que las teleóginas tienen un período de ovoposición de 14 días promedio (Núñez y col., 1982). Asimismo se destaca que la mayor cantidad de huevos ocurre en la primera semana. La alta correlación registrada entre el peso de las hembras y el peso de los huevos a los 7 días ($R^2=0,90$) es similar con los datos de Núñez y col. (1982) quienes usaron la misma cepa, y observaron que las hembras más pesadas ponían más huevos, gráfica N° 2.



Gráfica 1. Relación entre el peso de los huevos registrados al día 7 y al día 14.



Gráfica 2. Relación entre el peso de las garrapatas y el peso de los huevos al día 7

Cuadro N° 3. Valores promedio y extremos de los parámetros estudiados.

VARIABLES	n	MEDIA	MÍNIMA-MÁXIMA
Peso de las teleóginas (g)	1264	0,274	0,187- 0,338
Período de prepostura (días)		2,8	2-4
Duración de la caída (días)		5,8	3,6- 8,4
Eclosión (%)		80	65- 90
Recuperación (%)		2,6	1,63- 5,8

n: número de teleóginas.

Contrariamente a lo esperado, el número de garrapatas recuperadas por celda fue independiente del número de larvas por infestación (ver anexo 1). Esto puede explicarse por el pequeño espacio físico ofrecido por la celda.

Este resultado sugiere que se puede utilizar una menor cantidad de larvas para obtener una recuperación de adultos similar a la que se obtiene con una infestación mayor. Tampoco fue detectada interferencia debido a la fecha de infestación ni a la región donde fue colocada la celda ($p > 0,05$). Resultado semejante fue obtenido para el peso de las teleóginas obtenido por celda, no habiendo diferencias significativas debida al peso de las larvas por infestación, fecha de infestación y región. Este es un resultado interesante porque se podrían utilizar las celdas en cualquier lugar del cuerpo del animal teniendo preferencia de ubicarlas en las regiones donde el animal no se alcanza fácilmente para evitar el desgarre o desprendimiento de las mismas.

La media del peso de las hembras fue 0,274 g, resultado similar al obtenido por otros autores en infestaciones no confinadas (Núñez y col., 1982; Gallardo y Morales, 1999; Cuore y col., 2007) (Cuadro 4).

Cuadro Nº 4. Parámetros reproductivos de *Boophilus microplus* comparado con otros autores

	Población de garrapata	Media Protoquia (días)	% eclosión	Media peso huevos día 14 (g)	Media Peso hembras (g)
Rifran y Silveira, 2010 ¹	Mozo, Uruguay	2,8	80	0,095	0,274
Alvarado y Gonzales, 1979	sn, Brasil	3	87	-	-
Cardozo y col. 1984	Mozo, Uruguay	3	-	-	-
Cuore y col. 2007	Mozo, Uruguay	-	70	0,14	0,296
Gallardo y Morales, 1999	sn, Venezuela	4,7	-	-	- (0,174- 0,426)*
Núñez y col. 1982	sn, Argentina	3,4	-	-	0,240

¹: datos sin publicar. Sn: sin nombre.

*: valores extremos.



Figura 9. Teleóginas dentro de las celdas.

Tanto el porcentaje de eclosión (%E) como el índice de fecundidad (IFec) no fueron influidos por la protoquia, número de teleóginas recuperadas y región. Los porcentajes de eclosión fueron superiores al 80%, valores similares a los observados por Alvarado y Gonzales (1979) y Cuore y col. (2007). El porcentaje de recuperación de garrapatas en el presente trabajo fue de 2,6 % cifra menor a la calculada para Cuore y col. (2007). Estos autores infestaron terneros 2 veces por semanas con 100 mg de larvas (2000 larvas) obteniendo un porcentaje de recuperación promedio de 38%. Tal vez esta baja recuperación de nuestro experimento sea debida a que las celdas fueron colocadas en lugares poco propicios para el desarrollo del parásito y al limitado espacio físico de la celda antes mencionado. Alvarado y Gonzales (1979), Gallardo y Morales (1999) y Núñez y col. (1982) no incluyen el porcentaje de recuperación en sus trabajos y a partir de los datos publicados sólo se pudo calcular el mismo para el trabajo de Cuore y col. (2007).

La duración de la protoquia estuvo influida por la fecha de infestación ($p < 0,05$). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cardozo y col. (1984), quienes observaron un aumento en la duración de la protoquia conforme disminuían las horas luz y la temperatura. El tiempo medio de protoquia registrado en el presente trabajo (2,8 días) fue un poco menor al observado por Núñez y col. (1982) en condiciones no confinadas de infestación (3,4 días), sin embargo fue 2 días más corto con respecto a lo observado por Gallardo y Morales (1999). Estas variaciones pueden ser debidas a la extracción manual ya que es posible que en algunos casos las teleóginas no hubiesen completado la ingurgitación total.

Sin embargo la moda calculada para la protoquia (2,7 días) es semejante a la obtenida por Alvarado y Gonzales (1979) (3 días). La duración de la caída tuvo una media de 5,8 días con un mínimo de 3,6 días y un máximo de 8,4 días.

La utilización de las celdas fue eficiente para los estudios de comportamiento, resultado semejante a los de Labruna y col. (2009) quienes consiguieron realizar cruzamientos de poblaciones de garrapata dentro de las celdas.

7) CONCLUSIONES

1. La utilización de celdas adheridas a la piel de un ternero para infestaciones confinadas es una alternativa viable para el mantenimiento de diversas poblaciones de garrapatas en un mismo animal, si bien el método no asegura la identidad original de todos los individuos de una población; en el transcurso de un ensayo.
2. Los parámetros reproductivos no fueron alterados por las condiciones de confinamiento.
3. Desde el punto de vista económico es ventajoso ya que en un solo animal se pueden ejecutar diferentes pruebas biológicas o farmacológica con *B. microplus*, lo que resolvería problemas de espacio físico, insumos y mano de obra.

8) BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso, M., Rodríguez, R., Fragoso, H., Cruz, R. (2006). Resistencia de La garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch Med [on line]. 2006, vol. XXXVIII, n° 2 p.105-113.
Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301732X2006000200003&script=sci_arttext. Fecha de consulta: 19/06/2010.
2. Alvarado, R., Gonzáles, J. (1979). A postura e a viabilidade do *Boophilus microplus* (Acarina, Ixodidae) em condições de laboratório. Rev. Lat. Microbiol. 1: 31-36.
3. Barre, E., Cardozo, H., Chans, E., Nari, A., Solari, M. (1994). Garrapata: *Boophilus microplus*: Epidemiologia y Campaña Sanitaria. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo, 58 p.
4. Cardozo, H., Nari, A., Franchi, M., López, A., Donatti, N. (1984). Estudio sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas enzooticas del Uruguay. Veterinaria (Montevideo) 20: 4-10.
5. Cardozo, N. (2007). Resistencia de la garrapata *B. microplus* a los acaricidas.
Disponible en:
<http://vademecum.com.uy/articulos-tecnicos/bovinos-articulos-tecnicos/resistencia-de-la-garrapata-b-microplus-a-los-acaricidas.html>.
Fecha de consulta: 12/08/2010.
6. Castro Janer, E., Rifran, L., Piaggio, J., Gil, A., Miller, R., Schumaker, T. (2009). *In vitro* tests to establish LC₅₀ and discriminating concentrations for fipronil against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and their standardization. Vet. Parasitol. 162: 120-128.
7. Castro Janer, E., Martins, J.R., Mendes, M.C., Klafke, G.M., Schumaker, T.S. (2010) Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. Vet. Parasitol. 173: 300 – 306.
8. Cuore, U. (2006). Resistencia a los acaricidas, manejo y perspectivas. Jornadas Uruguayas de Buiatría, N° 34, Paysandú, Uruguay, p. 30-35.
9. Cuore, U., Trelles, A., Sanchis, J., Gayo, V., Solari, M. (2007). Primer diagnóstico de resistencia a Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. Veterinaria (Montevideo) 42: 35-41.
10. Cuore, U., Solari, M., Cicero, L., Gayo, V., Nari, A., Trelles, A.
Tratamiento generacional de la garrapata.
Disponible en:
http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DILAVE/Parasitolog%C3%ADa/Publicaciones/20_Tratamiento%20Generacional%20de%20la%20Garrapata..pdf.
Fecha de consulta: 12/08/10.
11. Cuore, A., Cardozo, H., Trelles, A., Nari, A., Solari, M. (2008). Características de los garrapaticidas utilizados en Uruguay. Eficacia y poder residual. Veterinaria (Montevideo) 43: 13-24.
12. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca/DI.CO.SE (2009).
Disponible en:

- http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DICOSE/Informe2009/DJ_TotalNacional2009.pdf.
Fecha de consulta: 30/08/2010.
13. Drugueri, L. (2002). Garrapatas del ganado bovino (*Boophilus microplus* *B. decoloratus* y *B. calcatus*).
Disponible en:
<http://www.zoetecnocampo.com/forog/Forum2/HTML/000226.html>
Fecha de consulta: 8/06/2010
14. Food and Agricultural Organization,(FAO) (2006). Aplicación del control integrado de parásitos (CIP) a la garrapata *Boophilus microplus* en Uruguay.
Disponible en:
http://www.rlc.fao.org/es/ganaderia/pdf/uru_3003.pdf
Fecha de consulta: 14/05/2010.
15. Food and Agricultural Organization, (FAO) (2003). Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con Énfasis en América Latina.
Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/y4813s/y4813s03.htm>
Fecha de consulta: 13/09/2010.
16. Food and Agricultural Organization (FAO) (2004). Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants: Guidelines.
Disponible en: <http://www.fao.org/ag/aga.html>.
Fecha de consulta: 12/05/2010.
17. Gallardo, J., Morales, J. (1999) *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): Preovoposición, ovoposición, incubación de los huevos y geotropismo. *Bioagro*. 11: 77- 87.
18. Grupo técnico de garrapata (MGAP/DIGESEEA) Una nueva ley de lucha contra la garrapata *Boophilus microplus* en el Uruguay.
Disponible en:
http://www.planagro.com.uy/publicaciones/revista/R131/R_131_42.pdf.
Fecha de consulta: 17/08/2010
19. Guideline for the Establishment of the Efficacy and Management Data in Support on Applications for the Registration of Products to be Used in Control of the cattle Tick (*Boophilus microplus*).
Disponible en:
http://www.apvma.gov.au/publications/guidelines/gl20_cattletick.php
Fecha de consulta: 3/11/2010.
20. Labruna, M., Piranda, L., Faccini, J., Adriano, P., Saito, T., Pacheco, R., Hagiwara, M. (2008) Infección experimental de perros con una cepa de Brasil *Rickettsia rickettsii*: hallazgos clínicos y de laboratorio. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 103 (7): 696 – 701.
21. Labruna, M., Naranjo, V., Mangold, A., Thompson, C., Estrada, A., Guglielmone, A., Jongejan, F., De la Fuente, J. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*.
Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/9/46>
Fecha de consulta: 07/07/2010.
22. Lima, S., Ribeiro, M., Guimarães, M. (2000). Seasonal variation of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in cattle in Minas Gerais State, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 32: 375-380.
23. Luciani, C. (2003). Babesiosis y Anaplasmosis, la tristeza bovina.

Disponible en:

http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitariasbovinos/47-babesiosis_y_anaplasmosis.pdf.

Fecha de consulta: 19/08/2010.

24. Martins, JR., Furlong, J. (2001) Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Vet Rec.* 149: (2): 64.
25. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. (2005) "Jornada-Taller: Programa de Lucha contra la Garrapata", Durazno, Uruguay. 50p.
26. Nari A. (2005). Estado actual de la resistencia de *Boophilus microplus* en America latina y el Caribe. Perspectivas de aplicación del control integrado.

Disponible en:

http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DILAVE/Parasitolog%C3%ADa/Publicaciones/13_Estado%20actual%20de%20la%20resistencia%20a%20la%20garrapata%20y%20Control%20Int.pdf

Fecha de consulta: 11/08/2010

27. Nari, A., Fiel, C. (1994) Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 365 p.
 28. Nari, A., Hansen, J., Eddi, C., Martins, J. (2000) Control de la resistencia a los antiparasitarios a la luz de los conocimientos actuales. Congreso mundial de Buiatría, N° XXI, Jornadas Uruguayas de Buiatría, N° 28, Punta Del Este, Uruguay, p2, n° 662.
 29. Núñez, J., Muñoz, M., Moltedo, H. (1982) *Boophilus microplus*: La garrapata del ganado vacuno. Buenos Aires, Hemisferio Sur, 184p.
 30. Perez-Cogollo, L.C., Rodriguez-Vivas, R.I., Ramirez-Cruz, GT., Miller, R.J. (2009) First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol.* 168:165-169.
 31. Radostits O. (2002) *Medicina Veterinaria*. 9a. ed. Madrid, Ed McGraw Hill Interamericana, 2215 p.
- Shidrawi, G.R. (1990). A WHO global programme for monitoring vector resistance to pesticides. *Bull. World Health Org.* 68: 403-408.

9) ANEXOS

Cuadro 5. Parámetros registrados por celda de infestación.

Región		Peso larvas (g)	Número teleóginas	Peso teleó- ginas (g)	Peso huevos día 7 (g)	Peso huevos día 14 (g)	Protó- quia (días)	Ifec	Recupe- ración (%)
	Total	0,22	145	35,21	7,37	8,94	5,75	0,73	3,37
Detrás del codo 3*	Média	0,07	48	11,74	2,46	2,98	2,88	0,24	3,37
	Desvío standard	0,03	21	6,45	2,20	2,71	0,88	0,10	3,30
Dorso- Escapular 5*	Total	0,52	151	45,83	17,27	20,83	6,00	0,62	1,45
	Média	0,13	37	11,46	4,32	5,21	3,00	0,21	1,45
	Desvío standard	0,03	32	10,79	4,14	4,19	0,71	0,15	5,59
	Total	0,41	370	103,25	21,38	28,27	8,10	0,43	4,50
Dorsal 5*	Média	0,08	74	20,65	4,28	5,65	2,70	0,22	4,50
	Desvío standard	0,04	48	11,44	4,72	6,24	0,26	0,05	6,86
Dorso- Lumbar 5*	Total	0,49	185	54,51	9,00	12,93	2,75	1,70	1,88
	Média	0,10	37	10,90	1,80	2,59	2,75	0,43	1,88
	Desvío standard	0,06	38	11,95	1,23	1,84	0,26	0,25	3,10
Costo- ventral 3*	Total	0,35	100	26,08	9,32	12,79	2,33	0,57	1,43
	Média	0,12	33	8,69	3,11	4,26	2,33	0,29	1,43
	Desvío standard	0,05	24	5,67	2,17	2,95	0,16	0,05	2,26
Costo- abdominal 4*	Total	0,43	271	69,77	12,25	17,89	9,60	0,68	3,14
	Média	0,11	68	17,44	3,06	4,47	3,20	0,23	3,14
	Desvío standard	0,08	51	12,67	0,44	0,63	0,61	0,03	3,24
Anca 1*	Total	0,05	20,00	5,51	1,66	2,51	2,60	0,02	2,13

* El número corresponde a las veces que se realizaron las infestaciones en esa región.