

Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay



Implementation of the Tick Generational Treatment in the Eradication of a Multiresistant Population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Uruguay

Cuore, U.¹, Altuna, M.², Cicero, L.³, Fernández, F.⁴, Luengo, L.⁴, Mendoza, R.⁴, Nari, A.¹, Pérez Rama, R.⁴, Solari, M.¹, Trelles, A.⁵

RESUMEN

Se describe una metodología de erradicación de una población de garrapatas del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* multirresistente a los acaricidas, basada en el Tratamiento Generacional de la Garrapata. Los principios activos utilizados (Ivermectina, Fipronil y Fluazuron) fueron seleccionados en base a los resultados de bioensayos en garrapatas adultas (test de Drummond) y larvas (test de Stone y Haydock). Este diagnóstico permitió establecer el primer caso oficial de resistencia al Amitraz en Uruguay. Todo el rodeo presentaba alta carga de garrapata (promedio 100 ejemplares adultos por animal) y se encontraba en estabilidad enzoótica para *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma* sp. (más del 85% seropositivos). En base a los conocimientos de la eficacia, residualidad de las formulaciones y al modelo epidemiológico conceptual desarrollado en el país, se estableció la frecuencia de aplicación y el momento de rotación de los productos. Se aplicó inmunización artificial a los terneros por los hemoparásitos, dada la perspectiva de que estarían en riesgo al disminuir la población de garrapata. Asimismo, se realizó un seguimiento serológico de los terneros antes de la inmunización. Se evaluó mensualmente la eficacia de los tratamientos midiendo el número y estadio de garrapatas por animal. Esta estrategia de tratamientos supresivos aseguró el uso de una molécula diferente de acaricida en cada generación de garrapata al año, optimizando el uso de las moléculas eficaces y a su vez al minimizar la presión de selección se dilata la aparición de la resistencia. El tiempo para lograr la erradicación del parásito fue de 28 meses, involucrando 2 temporadas de garrapatas. Los errores operativos y las condiciones climáticas adversas, fueron las principales causas para mantener la reinfestación del campo.

Palabras clave: Tratamiento Generacional de la Garrapata, erradicación, garrapatas multirresistente, predio de alto riesgo, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

SUMMARY

A methodology to eradicate a multiresistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick population is described based on Tick Generation Treatment concept. The active ingredient used (Ivermectin, Fipronil and Fluazuron), were selected as a result of the bioassay performed on adult tick (Drummond test) and in larvae (Stone & Haydock test). In vitro tests led to the first official diagnostic of resistance to Amitraz in Uruguay. The bovines presented high tick infestation and were in enzootic stability to *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma* sp. (more than 85% positive serology). The frequency of treatments and the moment to rotate the active ingredient were based on previous knowledge of the efficacy and residual period of the acaricide. Calves were artificially immunized due to the high risk of getting blood parasites when decreasing burden of ticks. Animals were monthly inspected to determine efficacy treatment, number and tick stage. Calves were serologically followed prior to immunization. This strategy assures suppressive treatment using a different molecule of acaricide in each generation of ticks per year, optimizing the use of molecules effective and in turn to minimize selection pressure expands the emergence of resistance. Time needed to eradicate tick was 28 months, involving 2 tick periods. Operative mistakes and adverse weather conditions were responsible of maintaining the non-parasitic cycle. Field treatment evaluations were monthly performed.

Key words: Tick Generation Treatment, eradication, multiresistant ticks, high risk farm, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

¹DMV Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: ucuore@mgap.gub.uy

²DMV División de Sanidad Animal Zonal Artigas. Berreta 482. Artigas, Uruguay.

³Ing. Qui. Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay.

⁴DMV División de Sanidad Animal Sede Central. Constituyente 1476. Montevideo, Uruguay.

⁵Tec. Agr. Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay.

Recibido: 27/4/12 Aprobado: 4/7/12

Cuore, U. y col.

INTRODUCCIÓN

La actual Ley contra la garrapata N° 18.268 del 17 de abril de 2008, tiene entre sus cometidos el control o la erradicación del parásito dependiendo de la zona en la cual se encuentre el establecimiento y de su calificación por parte de la Autoridad Sanitaria en predio de alto o bajo riesgo epidemiológico. Uno de los criterios establecidos en que se aplica la erradicación, es en los predios calificados de alto riesgo por constatarse presencia de garrapatas resistentes a núcleos químicos aun no diagnosticados en el país. En este marco, en marzo de 2009, el Servicio Zonal de Artigas asistió a un establecimiento el cual presentaba una sospecha fundada de resistencia al Amitraz (núcleo químico al cual aun no existía diagnóstico en el país). Con los resultados del laboratorio, se confirmó la existencia de una población de garrapata resistente al Amitraz diagnosticada en forma oficial. El antecedente de uso del mismo principio activo en el establecimiento era de 12 años en forma ininterrumpida. Dado que las moléculas garrapaticidas actualmente en uso en el país datan de la década del 80, exceptuando el Fipronil y Fluzuron que son productos registrados en la década del 90 y que en nuestro país ya existe diagnóstico oficial de resistencia a los Piretroides, Organofosforados, mezclas Piretroides + Organofosforados, Fipronil (Cardozo, 1995; Cuore 2007) y actualmente al Amitraz, se plantea la hipótesis que, la aparición de poblaciones de garrapatas multiresistentes será un hecho frecuente a corto plazo; por lo tanto es imperativo que a nivel predial se establezcan estrategias de lucha contra la garrapata, que impliquen una metodología de trabajo que permita mantener la utilidad de las moléculas, dilatando la aparición de resistencia.

Tradicionalmente la actitud de muchos productores frente al problema de resistencia es de cambiar el producto sin criterio técnico, asesorado por el comercio veterinario, o de aumentar la concentración del baño de inmersión sin cambiarlo, o de disminuir el intervalo entre baños, terminando con una frecuencia de un tratamiento por semana y por último se recurre a un profesional veterinario. Pasado ese tiempo, muy probablemente la resistencia está instalada y sea más difícil su manejo.

La sostenibilidad en el control de las parasitosis en los sistemas productivos se basa en primera instancia en contar con un diagnóstico de situación, determinando la incidencia, la sensibilidad de los parásitos, el entorno ecológico, el sistema productivo así como el manejo del establecimiento. Posteriormente se debe llevar a cabo una metodología que implique el desarrollo de estrategias dentro de un modelo epidemiológico a nivel nacional (Cuore, 2006).

El objetivo del trabajo es presentar los resultados de una nueva metodología de trabajo con carácter demostrativo para erradicar una cepa de garrapata multiresistente a los acaricidas de un establecimiento calificado de alto riesgo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Antecedentes del predio foco

A los efectos de confirmar la sospecha de resistencia, se inspeccionó el ganado, se extrajeron muestras de baño de inmersión, de

garrapatas teleoginas y sangre de diferentes categorías de bovinos, todo lo cual fue remitido al Laboratorio DILAVE «Miguel C. Rubino» donde se realizó el diagnóstico de situación. Se aplicaron técnicas analíticas de cromatografía de gases para determinar la concentración del baño de inmersión, bioensayos en garrapatas adultas y en larvas para analizar el grado de resistencia de las garrapatas a los acaricidas y técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Card Test para determinar el grado de seroprevalencia de hemoparásitos (IICA 1987).

Con el resultado de los estudios realizados y de acuerdo a lo establecido en la normativa vigente se determinó que se trataba de un predio de alto riesgo por presentar alto grado de infestación de garrapatas, resistencia al Amitraz y tener alta prevalencia a los hemoparásitos (Artículo 4° del decreto reglamentario del 12 de enero de 2010). Este hecho permitió realizar el primer diagnóstico oficial de resistencia al Amitraz.

A partir de esta situación, se presentó ante la Autoridad Sanitaria un proyecto de erradicación (Expediente de la Dirección General de los Servicios Ganaderos N° 9227 del 29 de julio de 2009) basado en la descripción teórica del Tratamiento Generacional de la Garrapata (Cuore, 2008 b) y hemoparásitos.

- Se trabajó en el predio foco el cual se ubica en el Paraje «Pintado», 3^{ra} Sec. Pol. del Departamento de Artigas, Uruguay (30° 27' Lat. Sur, 56° 29' Lat. Oeste).
- Presenta suelo: Formación Basalto superficial y Areniscas.
- Superficie: 450 ha.
- Animales: Raza Hereford y cruza (*Bos taurus*).
- Stock inicial estaba compuesto por 48 terneros, 63 vaquillonas, 21 novillos, 112 vacas y 3 toros.
- Sistema de producción: extensivo, para cría y venta de terneros.
- Historia de tratamientos acaricidas: Baños de inmersión con Amitraz durante los últimos 12 años.

Propuesta de tratamientos acaricidas

La frecuencia de aplicación de los tratamientos se estableció de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de establo para el registro oficial (Cuore, 2008a) (cuadro 1).

El período entre la tercera y primera generación, junio – agosto de 2010 y 2011, fueron cubiertos con Ivermectina 3,15%.

Ganado con destino a consumo: tratamientos *pour-on* con productos disponibles con tiempo cero de espera para el consumo: Flumetrin, Eprinomectina, Alfacypermetrina.

Diseño de trabajo

- Evaluación de los tratamientos: se estableció una frecuencia de revisión en todo el rodeo cada 30 días.
- Diagnóstico de resistencia: se utilizan técnicas diagnósticas *in vitro* convalidadas por la FAO, 2004 en garrapatas adultas (Drummond, 1973) y en larvas con dosis discriminadora (DD) (Wilson, 1981) y Probits* (Stone y Haydock, 1962).

*El método de Probits es el procedimiento utilizado para evaluar la relación dosis respuesta de un contaminante sobre un organismo, medida en términos de la concentración letal media (DL50) y su precisión o intervalo de confianza.

La Dosis Letal 50 (DL50) se define como la concentración a la cual el acaricida mata el 50% de la población mientras que la DD se define como el doble de la concentración de la DL99,9 de la cepa sensible de referencia para un principio activo.

Tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente

Cuadro 1. Pruebas de establo para el registro oficial de productos

| Evento | Época | Tratamiento-Frecuencia |
|----------------------------|-------------------|---|
| 1ª Generación de garrapata | Agosto-Noviembre | Ivermectina 3,15% c/ 55 días |
| 2ª Generación de garrapata | Diciembre-Febrero | Fipronil 1% cada 35 días |
| 3ª Generación de garrapata | Febrero-Mayo | Flumetrin 1% + Fluazuron 12,5% c/ 35 días |

- Confirmación *in vitro* (Test de Drummond) de la falta de eficacia de la molécula Amitraz a concentraciones crecientes en la población de garrapata con sospecha de resistencia.
- Diagnostico de prevalencia de hemoparásitos: se utilizaron técnicas de IFI para *Babesia* y Card Test para *Anaplasma* de acuerdo a protocolos de trabajo convalidados por la FAO (IICA, 1987).
- Premunición: se vacunó anualmente la categoría de terneros, menores a 9 meses de edad, con una vacuna refrigerada conteniendo inmunógenos de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma centrale* producida de acuerdo a protocolos del Departamento de Parasitología de la DILAVE «Miguel C. Rubino».
- Análisis de concentración de baños acaricidas: se utilizaron técnicas de cromatografía de gases de acuerdo al protocolo de trabajo del Departamento de Parasitología de la DILAVE «Miguel C. Rubino».
- Las acciones y los tratamientos programados fueron realizados exclusivamente por personal de la Dirección General de Servicios Ganaderos del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP).
- Registros pluviométricos diarios de la zona de trabajo.
- Identificación individual de los animales, se realizó a través de las caravanas de trazabilidad, registrando mediante planillas la concurrencia al tratamiento.
- Período de estudio: agosto de 2009 - enero 2012.

Resultados y monitoreo de evolución

El resultado del análisis de concentración del baño de inmersión cargado con Amitraz fue de 625 ppm.

El estudio de eficacia *in vitro* a las garrapatas del predio indicó que las mismas eran resistentes a los piretroides sintéticos (Cypermtrina y Flumetrin), a la mezcla de Cypermtrina-Ethion y al Amitraz (cuadro 2).

Una vez realizada una primera prueba de Drummond donde se constató que a concentración de pie de baño (200 ppm) las garrapatas fueron resistentes se realizó un segundo ensayo desafiando las garrapatas a un gradiente de concentración de 200 a 1200 ppm en las concentraciones más altas los porcentajes de control estuvieron entre 80% a 85% que es el punto de corte de la técnica para determinar resistencia (cuadro 3).

El diagnóstico inicial de hemoparásitos había arrojado en terneros un 83% de seropositividad para *B. bovis* y *A. marginale* y 89% para *B. bigemina* (cuadro 4).

Después de 10 meses de iniciado los tratamientos, en terneros menores a 6 meses y sin inmunizar, los niveles serológicos de *Babesia* spp. se mantuvieron en niveles altos, en cambio, con respecto a *Anaplasma* sp. disminuyó francamente la seropositividad al 21% (cuadro 5).

Al cabo de 2 años (julio 2011) en la categoría terneros sin inmunizar, la seropositividad de *A. marginale* y *B. bovis* cayó al 0% correspondiendo a lo esperado en principio por la nula tasa de infestación, en cambio para *B. bigemina* existió una reducción al 13%.

Cuadro 2. Diagnóstico del perfil de sensibilidad en predio foco

| Estadio | Fipronil | Cypermtrina y Ethion | Flumetrin | Cypermtrina | Amitraz | Ivermectina |
|---------|----------|----------------------|------------|-------------|------------|-------------|
| Adulto* | Sensible | Resistente | Resistente | Resistente | Resistente | SR*** |
| Larva** | Sensible | Sin resultado*** | Sensible | Resistente | Resistente | Sensible |

*Test Drummond **Test Stone y Haydock ***SR: Sin resultado dado que la técnica no aplica al estadio.

Cuadro 3. Perfil de sensibilidad de garrapatas adultas frente al Amitraz

| Concentración (ppm) | 200 | 400 | 600 | 1200 |
|---------------------|------|------|------|------|
| Peso de 10 ♀ (g) | 2,88 | 2,98 | 2,86 | 3,25 |
| Peso de huevos (g) | 0,40 | 0,55 | 0,39 | 0,59 |
| % de eclosión | 40 | 40 | 15 | 15 |
| % de control | 60 | 47 | 85 | 80 |

Cuore, U. y col.

Cuadro 4. Diagnóstico de seropositividad a hemoparásitos en diferentes categorías (previo a los tratamientos)

| Categorías | n | <i>Anaplasma sp.</i> | | <i>B. bovis</i> | | <i>B. bigemina</i> | |
|-------------------------|----|----------------------|-----|-----------------|----|--------------------|------------|
| | | + | % | + | % | + | % |
| Terneros | 18 | 15 | 83 | 15 | 83 | 16 | 89 |
| Sobreaño | 5 | 5 | 100 | 4 | 80 | 5 | 100 |
| Adultos | 17 | 13 | 76 | 14 | 82 | 17 | 100 |
| Porcentaje de Positivos | | 82,5 | | 82,5 | | 95,0 | |

Cuadro 5. Evolución de la serología a hemoparásitos en la categoría terneros

| Categoría terneros | n | <i>Anaplasma sp.</i> | | <i>B. bovis</i> | | <i>B. bigemina</i> | |
|--------------------|----|----------------------|----|-----------------|----|--------------------|----|
| | | + | % | + | % | + | % |
| Junio 2010 | 14 | 3 | 21 | 8 | 57 | 8 | 57 |
| Diciembre 2010 | 13 | 1 | 8 | 1 | 8 | 5 | 38 |
| Julio 2011 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 13 |

La eficacia y residualidad de los tratamientos en el predio se evaluó mediante revisiones de los bovinos cada 30 días, partiendo de una infestación natural de 100 garrapatas teleoginas promedio por animal en agosto de 2009. En el cuadro 6 se describe la evolución de la infestación en relación al tratamiento aplicado.

Cabe señalar que por problemas operativos no siempre todos los bovinos asistían al mismo momento al tratamiento, quedando a responsabilidad del productor el tratamiento de los animales faltantes.

A medida que se avanzó en el control de las garrapatas, se observó que no todos los animales estaban parasitados, generalmente las garrapatas colectadas se encontraron en un bajo porcentaje de animales. De cualquier manera, al ser un plan de erradicación y al utilizarse una frecuencia de tratamientos supresivos, igualmente se trataron todos los animales del rodeo.

A partir de la revisión de mayo de 2010, se observó un período sin la presencia de garrapatas adultas plenamente ingurgitadas, sin embargo fueron hallados estadios de metaninfa y adultos jóvenes (cuadro 6).

Posteriormente, en febrero de 2011 y a consecuencia de un bovino que quedó sin tratamiento en diciembre de 2010, se encontraron 5 garrapatas adultas ingurgitadas por lo cual la continuidad de los tratamientos se debió postergar hasta diciembre de 2011. En ese momento se cumplieron 10 meses en que los animales estuvieron totalmente libres de formas parasitarias

Estimación de los costos

El total de los tratamientos aplicados consistió en 8 dosificaciones de Ivermectina 3,15% (total 8 L), 6 tratamientos de Fipronil (total 60 L) y 6 aplicaciones de la mezcla Fluazuron-Flumetrin (total 60 L). Se inmunizó en dos años a la categoría de terneros, (total 100 dosis). El costo de la erradicación basada en

los productos Veterinarios utilizados y la inmunización, ascendió a USD 6.100, equivalente a USD 20,3 por animal, sobre una base estimada de 300 animales promedio. Para este cálculo se consideraron valores de mercado de USD 106 por litro de Ivermectina 3,15%, USD 12 por litro de Fipronil, USD 60 por litro del producto mezcla Fluazuron-Flumetrin y USD 300 de las 100 dosis para inmunizar.

DISCUSIÓN

La metodología del Tratamiento Generacional de la Garrapata aplicada en el proyecto logró erradicar la población de garrapatas multirresistente sin ejercer, en teoría, una excesiva presión de selección de los genes resistentes. Esta hipótesis no se pudo confirmar debido a que no se dispuso de garrapatas sobre la finalización del ensayo, como para realizar estudios comparativos con los resultados obtenidos al inicio. No existen antecedentes de comunicación a nivel nacional de experiencias de erradicación de una población de garrapatas multirresistente a los acaricidas.

En el estado actual de la resistencia, considerando que las drogas disponibles en el país tienen más de 20 años de uso, exceptuando al Fipronil y Fluazuron cuyos registros son de la década del 90, se hace cada vez más imperioso rotar los principios activos basado en el modelo conceptual propuesto por el Departamento de Parasitología en 1990, con la finalidad de disminuir la presión de selección de genes resistentes evitando la consecuente pérdida de eficacia de la molécula, (comunicación personal Nari).

Kemp (2005), del CSIRO de Australia, proponía no utilizar en una misma temporada de garrapatas más de 5 veces el mismo principio activo. En este proyecto, los principios activos fueron utilizados exclusivamente en la misma generación de garrapatas y en no más de tres oportunidades por temporada. El marco epidemiológico para la rotación de principios activos es

Tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente

Cuadro 6. Cronograma de tratamientos realizados y evolución del grado de infestación de los bovinos

| Temporada | Generación/meses | Tratamiento (aplicación - intervalo) | Rodeo con garrapata | Estadios | Lluvia acumulada (mm) | Obs |
|--------------------------------------|--|--|---------------------|----------|-----------------------|--|
| 2009 -2010 | 1^a Agosto-Noviembre | IVM 3,15% (2 - c/55 días) | 100% | Todos | 1176 | Faltan 2 animales |
| | | | 1% | Adultos | | |
| | | | 1% | Todos | | Falta 1 animal |
| | 2^a Noviembre -Febrero | FIPRONIL 1% (2 - c/35 días) | 1% | Todos | 922 | Faltan 10 animales |
| | | | 1% | | | |
| | | | | | | Faltan 3 animales |
| 3^a Febrero-Mayo | FLUAZURON 12.5% + FLUMETRIN 1% (3 - c/35 días) | 1% | Todos | 313 | Faltan 2 animales | |
| | | | | | Faltan 6 animales | |
| 2010 – 2011 | 1^a Junio – Noviembre | IVM 3,15% (3 - c/55 días) | <1% | Adultos | | Inmunización Terneros Faltan 3 animales |
| | | | | | | |
| | 2^a Diciembre - Enero | FIPRONIL 1% (2 - c/35 días) | <1% | Todos | | Faltan 3 animales |
| | | | | | | |
| | 3^a Febrero-Mayo | FLUAZURON 12.5% + FLUMETRIN 1% (3 - c/35 días) | Sin Garrapata | | Trazas | Faltan 15 animales Faltan 4 animales |
| | | | | | | |
| 2011 – 2012 | 1^a Junio – Octubre | IVM 3,15% (3 - c/55 días) | Sin Garrapata | | | Inmunización Terneros Faltan 4 animales Faltan 5 animales |
| | | | | | | |
| | 2^a Noviembre –Diciembre | FIPRONIL 1% (2 - c/35 días) | Sin Garrapata | | Trazas | Falta 1 animal |
| | | | | | | |

Cuore, U. y col.

la clave en la propuesta del Tratamiento Generacional de la Garrapata (Cuore, 2008 b).

Si bien los diagnósticos *in vitro* de resistencia son fundamentales para diseñar un plan de control o erradicación, los mismos tienen carácter orientativo y la evaluación final de la eficacia y residualidad de un tratamiento debe ser hecha a campo, con el apoyo previo del diagnóstico laboratorial.

La frecuencia de aplicación entre tratamientos fue determinada de acuerdo al comportamiento y residualidad de los acaricidas en la prueba oficial de registro (Cuore, 2008a). Conceptualmente, para lograr una erradicación la frecuencia de tratamientos debe ser con carácter supresiva. (Se entiende por frecuencia supresiva aquella que por acción del acaricida, no permite el desarrollo del ciclo parasitario entre tratamientos; de esta manera se logra eliminar la población de garrapatas en refugio (ciclo no parasitario).) En el proyecto, los 3 productos utilizados no siempre presentaron la residualidad esperada en comparación a lo demostrado en la prueba de establo. Las condiciones de campo, en relación a los errores operativos (cálculo de peso, reflujo desde el punto de inoculación), las variaciones en la biodisponibilidad de las drogas entre individuos en los productos inyectables, las condiciones climáticas adversas (lluvias) para los *pour-on* y las variaciones genéticas de las garrapatas en relación a la resistencia parasitaria, pueden explicar entre otros, las diferencias de comportamiento de un garrapaticida a establo vs. campo.

Si bien en los resultados no figura la eficacia del Ethion como monodroga, dado que no existe la formulación comercial disponible en plaza, se registró su sensibilidad en la prueba de larvas así como la resistencia a la Cypermotrina. Este hecho se complementa con el resultado de la prueba de Drummond donde la mezcla Cypermotrina+Ethion se comportó como resistente; este resultado se interpreta considerando que en la mezcla el Ethion podría ser el ingrediente activo eficaz. Dado que el mismo se encuentra a 400 ppm en el pie de baño esta concentración no alcanzaría para inhibir la oviposición de las teleoginas debido a que el Ethion registrado como monodroga se encontraba a 800 ppm. Por el contrario, la concentración al 4% en paquetes de larvas resultó suficiente para matar este estadio parasitario, el cual es más sensible que el de adulto. Hecho similar se presentó en el Flumetrin, donde el parásito adulto fue resistente y las larvas sensibles a este principio activo.

La presencia de una población de campo multirresistente a los acaricidas pone en tela de juicio la factibilidad técnica de erradicar dicha población y que la acción sea sostenible en el tiempo evitando la reintroducción del parásito. Así mismo, una población multirresistente, plantea muchas dificultades para que los despachos de tropa sean efectivamente realizados sin formas parasitarias vivas, lo cual representaría un serio riesgo no sólo en la diseminación del parásito sino también de la resistencia (Cuore, 2009).

Las altas cargas parasitarias iniciales (promedio 100 teleoginas por animal) halladas en los primeros días de agosto de 2009, son muy superiores a lo descrito por Petracchia, 1988; donde en estudios epidemiológicos a la salida del invierno, encontraron en promedio de 2 a 4 garrapatas adultas por animal. Esta situación es reflejo de la acumulación de población en refugio, dada la

baja eficacia de los tratamientos previos a consecuencia de la resistencia parasitaria. En otro estudio realizado en 2006, también se encontraron altas cargas de garrapatas, con más de 20 ejemplares adultos por animal durante el mes de agosto (Solari, 2007).

El hecho de no haber encontrado teleoginas a partir de mayo/2010, coincide con lo encontrado en las pruebas de eficacia desarrolladas en el Departamento de Parasitología y la importancia de este comportamiento radica en que dentro de un plan de erradicación uno de los objetivos es no permitir el desarrollo de teleoginas, precursoras de nuevas generaciones (Cuore, 2009).

De acuerdo a los estudios epidemiológicos realizados en el país, el ciclo no parasitario tiene una duración máxima entre 8 a 10 meses; este hecho sirvió de base para establecer el criterio de cuando se debía considerar erradicada la garrapata del establecimiento y por lo tanto no realizar más tratamientos (Nari, 1979; Cardozo, 1984; Sanchis, 2008). Para ello se determinó que no se deberían encontrar garrapatas plenamente ingurgitadas sobre los animales durante 10 meses. Por lo tanto, como la última teleogina se observó el 3 de febrero de 2011 los tratamientos se continuaron hasta diciembre del mismo año.

Durante los 30 días posteriores al tratamiento con Fipronil, realizado el 25 de noviembre de 2009, el registro acumulado de lluvias fue de 477 mm y de 445 mm en el mes a partir del segundo tratamiento con Fipronil, el 28 de diciembre de 2009. Estos altos registros pluviométricos, si bien no hicieron perder eficacia del tratamiento (una semana posterior al mismo los animales se encontraban libres del parásito), conspiró contra una menor residualidad (cuadros 6 y 7). Al encontrarse garrapatas teleoginas al día 35 post tratamiento, descontando los 21 días del ciclo parasitario, podemos asumir que la residualidad máxima fue de 14 días, valor inferior al hallado en pruebas de establo, no menor a 35 días. Valores similares en cuanto a la residualidad en pruebas de campo y a establo fueron encontrados en pruebas Oficiales de registro con Fipronil *pour on* realizadas por CENAPA – México, donde la residualidad disminuye de 32 días en establo a 13 días en pruebas de campo (Fragoso, 2006).

Las precipitaciones de 15 mm registradas entre 15 a 18 horas posteriores al tratamiento de abril de 2011 con la mezcla Fluazuron+Flumetrin no afectaron ni la residualidad ni la eficacia de la droga al no encontrarse ninguna garrapata en las revisiones de los días 20 y 40 post tratamiento.

Si bien en un principio, dado los antecedentes de otros trabajos similares en cuanto a la aplicación de el tratamiento generacional (Aguas Blancas - Canelones), se esperaba la eliminación del parásito en el término de un año, los errores operativos, fundamentalmente el de no poder realizar el tratamiento simultaneo de todos los animales del predio, constituyó el hecho más importante en mantener por más tiempo de lo esperado el ciclo no parasitario de la garrapata.

Dado que los animales se encontraban en estabilidad enzoótica para los hemoparásitos se decidió inmunizar anualmente los terneros menores a 9 meses, asumiendo que a medida que progresara la erradicación, los terneros no tendrían el suficiente desafío de garrapatas en los primeros meses de vida como para quedar protegidos y de futuro los animales del establecimiento

Tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente

Cuadro 7. Presentación de parásitos en respuesta a los diferentes tratamientos (acumulado)

| Tratamiento | Días Postratamiento | Estadíos de garrapata hallados |
|----------------------------------|---------------------|---|
| IVM 3,15% | 27 | Metalarva y Metaninfa |
| | 30 | Adultos 2-3 mm |
| | 52 | Adultos 2-3 mm |
| | 53 | Adultos 2-3 mm |
| | 56 | Metaninfa y adulto (14 días) |
| | 64 | Adulto (16 y 18 días) |
| FIPRONIL 1% | 30 | 20 teleoginas |
| | 33 | 15 teleoginas |
| | 34 | Adulto, adulto 18 días, teleoginas |
| | 35 | Metaninfas, adulto, neogina |
| FLUAZURON 12,5%+ FLUMETRIN 1% | 29 | Teleoginas |
| | 30 | Adultos 2-3 mm |
| | 34 | Metaninfas, teleoginas, gonandro, neogina |
| | 46 | Teleoginas y estadios inmaduros |

estarían en inestabilidad enzoótica con el consiguiente riesgo de enfermar.

El seguimiento de avance en el programa de erradicación de la garrapata se realizó no solo a través de la revisión de los animales sino también con los estudios serológicos de los hemoparásitos en los terneros previo a ser vacunados. Al principio, si bien se observó un menor porcentaje de seropositivos en general, el mismo fue menor en *Anaplasma* sp. Estos resultados se pueden interpretar asumiendo que la población en refugio de garrapatas, se mantenía en una alta proporción a pesar de la muy baja carga encontrada en los animales. Los acaricidas, de acuerdo a lo publicado por Cuore (2009), permiten que se desarrollen estadios parasitarios hasta neogina y neandro, los cuales en etapa de larva y ninfa son capaces de inocular *B. bovis* y *B. bigemina* respectivamente, no así *Anaplasma* sp. donde la importancia epidemiológica radica más en el macho. Esta situación es la hipótesis que se plantea para explicar lo ocurrido en esta primera etapa, que coincide con los estadios parasitarios encontrados (cuadro 6), pocos adultos ingurgitados y mayor carga de estadios inmaduros.

En una etapa avanzada, julio 2011, la serología reflejó un nivel mínimo de desafío de garrapata, al no encontrarse ningún positivo a *B. bovis* y *Anaplasma* sp y un bajo porcentaje a *B. bigemina*. Este resultado concuerda con la mayor prevalencia de *B. bigemina* encontrada en la epidemiología descrita a nivel nacional (Solari, 1994).

La transición de un rodeo con una gran población de garrapata infectada y estabilidad enzoótica a los hemoparásitos a una situación de erradicación de garrapata, implicó poner en riesgo las nuevas categorías (inestabilidad enzoótica). Esto se previno con éxito por medio de la inmunización de los terneros anualmente.

La experiencia actual se suma a la de dos proyectos finalizados anteriormente donde se aplicó la misma metodología de trabajo. Los mismos se desarrollaron en los Departamentos de Canelones, Paraje Solís Chico (Expediente de la Dirección General de los Servicios Ganaderos N° 7720 del 30 de junio de 2009) y en el departamento Lavalleja, paraje Aguas Blancas. En el primero se erradicaron 16 focos de garrapatas con sus respectivos linderos involucrando un total de 2000 bovinos y en el segundo se realizó a pequeña escala sobre 14 bovinos en un predio experimental perteneciente al MGAP. El tiempo de aplicación de la metodología de erradicación en ambos ensayos fue de 1 año calendario lo cual contrasta con lo ocurrido en Artigas, probablemente con una situación epidemiológica más favorable para el desarrollo del parásito.

Una experiencia de rotación de acaricidas considerando la presión de selección en *R. microplus* la encontramos en un ensayo de campo realizado en Queensland, Australia. Se demostró que frente a una población de garrapatas resistentes al Amitraz, una estrategia de rotación de acaricidas entre generaciones de garrapatas, fue exitosa aún utilizando esta molécula en el esquema de rotación, o utilizando exclusivamente otro principio activo sen-

Cuore, U. y col.

sible (Spinosa). En ambos ensayos se logró disminuir los niveles de resistencia al Amitraz. El estudio concluye que la reversión fue posible, dado que existe un costo asociado en las garrapatas resistentes, planteándose como hipótesis la posibilidad que estas sean más sensibles a las condiciones del invierno (Jonsson, 2010). Mientras tanto Thullner (2010) a nivel experimental demostró -en una población de garrapatas del género *R. microplus* con resistencia a los Piretroides Sintéticos (PS) y leve resistencia a los Organofosforados (OP)- que el uso exclusivo de PS aumentó en forma exponencial la resistencia a este principio activo mientras que en los grupos tratados con OP o alternando los principios activos, el factor de resistencia no aumentó. Esto se desarrolló presionando las garrapatas durante 11 generaciones con tres diferentes estrategias, primera uso exclusivo de PS, segunda uso exclusivo de OP y la tercera estrategia fue rotando en forma alternada los principios activos.

El hecho de haber confirmado a nivel de laboratorio el primer diagnóstico oficial de resistencia al Amitraz, luego de 32 años de estar en el mercado (primer registro 1977) avala la información internacional donde se describe una baja prevalencia debido a un lento desarrollo de resistencia a esta molécula. La misma tiene una prevalencia de 11% en Australia (Jonsson, 2007) y de 19.4% en México (Rodríguez -Vivas, 2006).

CONCLUSIONES

- La metodología empleada permitió erradicar una población de garrapatas multirresistente a los acaricidas.
- Existió una plena concordancia entre los resultados de los bioensayos realizados en el Laboratorio, para determinar la

sensibilidad de las garrapatas a los acaricidas y la eficacia obtenida a campo.

- Los errores operativos, principalmente el hecho de no poder realizar el tratamiento simultáneo de todos los animales del establecimiento, se constituyó en el hecho más importante en mantener por más tiempo de lo esperado el ciclo no parasitario de la garrapata.
- La inmunización de los terneros evitó la ocurrencia de brotes de hemoparásitos al pasar de un estado inicial de estabilidad enzoótica, dado las altas cargas parasitarias, a otro de inestabilidad, en los terneros nacidos posteriormente al inicio del proyecto, donde, al disminuir paulatinamente las poblaciones de garrapatas, disminuyó la posibilidad de la transmisión de hemoparásitos.

Agradecimientos

A los ayudantes de Zonal Artigas, Carlos Alves, María Eugenia Alzaga, Sergio Pintos, Wilson Goncalves; al personal de Zonal Salto, Adriana Arrospide, Fabiana Pedutto y Ariel Rodríguez; por la dedicación brindada en los trabajos de campo.

A los laboratorios Bayer S.A., Merial S.A., Laboratorio Microsules y Compañía Cibeles por el apoyo brindado en el proyecto A la Comisión de Garrapata nombrada por la DGSG - MGAP por el apoyo técnico y el seguimiento del proyecto, coordinada en una primera etapa por el Dr. Francisco Errico.

Al propietario, su familia y al personal del establecimiento.

Referencias Bibliográficas

1. Cardozo H, Nari A, Franchi M, López A, Donatti N. (1984). Estudio sobre la ecología de *Boophilus microplus* en tres áreas enzoóticas del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 20:4-10.
2. Cardozo H. (1995) Situación de la resistencia del *Boophilus microplus* en el Uruguay. Medidas para controlarla. Seminario Internacional de Parasitología Animal. Resistencia y Control de Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria. SAGAR-CANIFARMA- FAO-IICA-INIFAP. México.
3. Cuore U. (2006). Resistencia a los Acaricidas, Manejo y Perspectivas. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. pp. 30-35.
4. Cuore U, Trelles A, Sanchís J, Gayo V, Solari MA. (2007). Primer diagnóstico de resistencia al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. *Veterinaria (Montevideo)* 42:35-41.
5. Cuore U, Cardozo H, Trelles A, Nari A, Solari MA. (2008a). Características de los garrapaticidas utilizados en Uruguay. Eficacia y poder residual. *Veterinaria (Montevideo)* 43: 15-24.
6. Cuore U, Cicero L, Trelles A, Nari A, Solari MA. (2008b). Tratamiento generacional de la garrapata. <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm>
7. Cuore U, Solari MA, Cicero L, Trelles A, Gayo V, Nari A. (2009). Evaluación de los garrapaticidas actualmente disponibles en Uruguay para su utilización en los despachos de tropa. *Veterinaria (Montevideo)* 45:23-30.
8. Drummond RO, Ernest SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. (1973). *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J Econ Entomol* 66:130-133.
9. FAO (2004). Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines. CD ROM. Publications-sales@fao.org
10. Frago H, Martínez I, Ortiz N, Osorio M. (2006). Comparación de la Eficacia contra la Reinfestación por Garrapatas *Boophilus microplus* de Ixodíidas Organofosforados, Piretroides y Amidinas en Pruebas con Ganado Naturalmente Infestado. XXX Congreso Nacional de Buiatría, Acapulco, México.
11. IICA (1987). Técnicas para el diagnóstico de Babesiosis y Anaplasmosis bovinas, ISBN 92 9039 071 9, San José de Costa Rica, pp79.

12. Jonsson NN, Hope M. (2007). Progress in the epidemiology and diagnosis of Amitraz resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus*. Aust Vet J 76:746-751.
13. Jonsson NN, Miller RJ, Kemp DH, Knowles A, Ardila AE. (2010). Rotation of treatments between spinosad and amitraz for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* population with amitraz resistance. Vet Parasitol 169:157-164.
14. Kemp D. (2005). Uso de acaricidas y métodos validados de control de garrapatas. Visión Australiana. Red de garrapatas. (<http://web.andinet.com/redectopar>. Benavidez, Efraín.
15. Nari A, Cardozo H, Berdié J, Canabez F, Bawden R. (1979). Estudios preliminares sobre la ecología del *Boophilus microplus* (Can) en Uruguay. Ciclo no parasitario en un área considerada poco apto para su desarrollo. Veterinaria (Montevideo) 15:25-31.
16. Petraccia C, Nari A, Cardozo H. (1988). Ensayos mediante tratamientos estratégicos contra *Boophilus microplus* con Flumetrina 1% *pour on* en el Uruguay. Noticias Médico Veterinarias. Fas. 1: 18-22.
17. Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz M, Fragozo-Sanchez H, Santamaria V, Rosario-Cruz R. (2006). Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the state of Yucatan, México. Prev Vet Med 75:280-286.
18. Sanchis J, Cuore U, Gayo V, Silvestre D, Invernizzi F, Trelles A, Solari MA. (2008). Estudio sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas del Uruguay. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
19. Solari MA, Quintana S. (1994). Epidemiología y prevención de los hemoparásitos (Babesia y Anaplasma) en el Uruguay. In Nari&Fiel Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Editorial hemisferio Sur. ISBN: 9974-556-89-9, pp 481-507.
20. Solari MA, Cuore U, Trelles A, Sanchis J, Gayo V. (2007). Aplicación del Control Integrado de Parásitos (CIP) en un Establecimiento Comercial. En Seminario Regional «Aplicación del Control Integrado de Parásitos (CIP) a la Garrapata *Boophilus microplus* en Uruguay». Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino», MGAP, Uruguay TCP FAO URU 3003 A. ISBN 978-92-5-305846-4.
21. Stone BF, Haydock KP. (1962). A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). Bulletin of Entomology Research, Vol. 53, Part 3.
22. Thullner F, Willadsen P, Kemp D. (2010). Acaricide rotation strategy for managing resistance in the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarina: Ixodidae). Laboratory experiment with a field strain from Costa Rica. J Med Entomol 44:817-821.
23. Wilson JT. (1981). El empleo de dosis de separación. Primer curso sobre Manejo de Baños y Estudio de Resistencia de Garrapatas, FAO, Uruguay.