

Situación de la resistencia y primer diagnóstico de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a cinco principios activos en forma simultánea en Uruguay

Current status of resistance and first diagnostic of multiple resistance *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick simultaneously resistant to five drugs in Uruguay

Cuore U¹, Solari, MA¹, Trelles A².

¹DMV Departamento de Parasitología DILAVE “Miguel C. Rubino”. Ruta 8 Km 17. Montevideo, Uruguay

²Tec. Agrop. Departamento de Parasitología DILAVE “Miguel C. Rubino”. Ruta 8 Km 17. Montevideo, Uruguay.

*Autor para correspondencia: ucuore@mgap.gub.uy

Veterinaria (Montevideo) Volumen 53

Nº 205 (2017) 13-19

Recibido :01/8/2016

Aceptado: 26/12/2016

Resumen

En Uruguay en la última década se ha completado el diagnóstico de resistencia a la mayoría de los principios activos utilizados en el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, exceptuando a fluazurón. Esto ha llevado a que en muchos establecimientos el control de la garrapata se torne difícil. Fruto de esta situación se incrementó el envío de garrapatas para el diagnóstico de resistencia. Entre enero de 2015 y julio de 2016 se analizaron 116 muestras a través de técnicas de bioensayos para el diagnóstico de resistencia. Los resultados obtenidos mostraron la presencia de 13 poblaciones de garrapatas resistente en forma simultánea a organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz, fipronil y lactonas macrocíclicas, denominado a este fenómeno como resistencia múltiple. Estas poblaciones de garrapatas fueron, 11 originarias del departamento de Artigas, 1 de Salto y 1 de Paysandú. Si bien el trabajo realizado no se realizó con un muestreo al azar, igualmente del mismo se desprende que, el grupo de lactonas macrocíclicas resultó ser el principio activo con menor porcentaje de garrapatas resistente, 33%, mientras que los piretroides demostraron mayor resistencia (91%), los organofosforados (44%) siendo amitraz y fipronil resistentes en el 39 y 48% de las muestras estudiadas respectivamente. El 53,3% de los casos presentaron como máximo resistencia a 2 componentes mientras que el 29,3% entre 4 y 5 principios activos. Se necesita realizar mayor difusión y extensión del conocimiento disponible para evitar la generación de garrapatas con resistencia múltiple y generar nuevo conocimiento que de respuesta a la necesidad de lograr un control racional de las garrapatas que ya presentan resistencia múltiple así como evitar su dispersión.

Palabras clave: Resistencia múltiple, garrapata, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Summary

In Uruguay during the last decade, the diagnosis of resistance has been completed to most of the active ingredients used in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick, excepting fluazuron. This has led to a difficult tick control in many farms. As a result of this situation official diagnosis of resistance had increased. Between January 2015 and July 2016, 116 samples were analyzed through bioassay techniques. The results showed the presence of 13 tick resistant populations simultaneously to organophosphate, synthetic pyrethroids, amitraz, fipronil and macrocyclic lactones, referring to this phenomenon as multiple resistance ticks. These tick populations were 11 originated from the location of Artigas, 1 from Salto and 1 from Paysandu. The study was not conducted with random samples, instead, the samples were sent by veterinaries interested in resistance diagnosis. Macrocyclic lactones were the active ingredient with lower percentage of resistant ticks, 33%, while pyrethroids showed the most important resistance 91 %, organophosphates represented 44%, amitraz and fipronil showed respectively 39 and 48% resistance from the studied samples. The study showed that 53.3% of cases had maximum resistance for two active ingredients while 29.3% showed resistance either to 4 or to 5 active ingredients at the same time. More dissemination and extension of knowledge available is needed, therefore to avoid developing multiple resistance ticks and is needed new knowledge to be generated, which may answer the need for a rational control of ticks which already have multiple resistance preventing its spread.

Keywords: Multiple resistance, tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Introducción

El desarrollo de la resistencia a los acaricidas ha sido un proceso de origen natural, evolutivo y genéticamente determinado a causa de las interacciones biológicas y químicas ocurridas durante más de cientos de millones de años entre las plantas y artrópodos herbívoros. Las plantas evolucionaron produciendo potentes venenos naturales, toxinas y repelentes que actúan como un mecanismo natural de defensa contra depredadores. Esto permitió que los artrópodos desarrollaran una maquinaria de enzimas que hidrolizan metabolitos para prevenir el envenenamiento durante su alimentación a partir de plantas. Como resultado de estas interacciones, los artrópodos conservan dentro de sus genomas genes que confieren una ventaja evolutiva que les han permitido sobrevivir. Otro factor predisponente para la adaptación es la analogía estructural entre los metabolitos secundarios producidos por las plantas y los pesticidas sintéticos utilizados para controlar plagas. Esto explica porque aun antes de la exposición a un nuevo acaricida ya existen parásitos con genes resistentes. Al inicio, esta frecuencia génica se considera que es sumamente baja, hay pocos individuos con genotipos resistentes por lo tanto la mayoría son susceptibles. Si los tratamientos con el acaricida son repetidos y sostenidos en el tiempo, los individuos susceptibles son eliminados, lo que conduce a la selección de los genotipos resistentes aumentando su frecuencia en la progenie (Rosario-Cruz y Domínguez, 2016).

A nivel mundial, el desarrollo y evolución de la resistencia parasitaria ha sido un proceso inevitable y ampliamente demostrado en diferentes ectoparásitos de importancia veterinaria como son los pertenecientes a la clase Insecta y Acarina (Kunz y Kemp, 1994; Bates, 2012; Alonso-Díaz y col., 2006; Reck y col., 2014; Cuore y Solari, 2014).

En nuestro país, en la garrapata común del ganado este hecho se ha puesto en evidencia con la evolución que sufrieron los diagnósticos de resistencia. La situación permaneció invariable durante 12 años, entre 1994 y 2006 se reportó exclusivamente diagnósticos de resistencia a piretroides sintéticos, organofosforados y sus mezclas. Es a partir del año 2006 cuando se materializó el inicio de un cambio. En ese año, se realizó el primer diagnóstico de resistencia a fipronil, esto representó el comienzo de una dramática evolución en el estatus de resistencia y el inicio de un escalada de diagnósticos oficiales de resistencia a distintos principios activos (Cuore y col. 2007, 2012, 2014, 2015). A su vez, entre los años 2009 a 2013 se diagnosticó la presencia de poblaciones de garrapatas multiresistentes (MR), definida como aquellas que no solo presentaban una resistencia “histórica” a compuestos organofosforados, piretroides o sus mezclas, sino que se le sumó un “nuevo” principio activo resistente (amitraz, lactonas macrocíclicas o fipronil) (Cuore y Solari, 2014). A pesar de esta preocupante situación, aún existía la posibilidad de contar al menos con tres principios activos eficaces, si se incluye a fluazuron, para desarrollar una estrategia racional de control.

En el año 2015, en Uruguay, se diagnosticó oficialmente por primera vez poblaciones de garrapatas que demostraron ser resistentes en forma simultánea a: organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz, fipronil y lactonas macrocíclicas.

Si bien en el presente trabajo no se estudiaron los mecanismos de resistencia, a ésta situación se la llamó resistencia múltiple (RM), definida como la capacidad adquirida del parásito, utilizando varios mecanismos frente a la acción de las diferentes clases de acaricidas no relacionadas químicamente (Metcalf, 1989, citado por Alonso-Díaz y col., 2006).

Actualmente fluazuron es la única molécula a la cual hasta el momento no se ha diagnosticado resistencia en nuestro país. Fruto de la dificultad creciente en obtener éxito en el control de la garrapata se vio incrementado el número de muestras remitidas al Laboratorio Oficial para el diagnóstico de resistencia. Mientras que entre los años 2010 y 2014 se recibieron 64 muestras, entre enero de 2015 y julio de 2016 se recibieron 137 muestras, representando un aumento de casi diez veces la remisión de muestra en forma anualizada.

Las campañas sanitarias que están establecidas por ley en nuestro país, se basan en el supuesto que existe una factibilidad técnica para combatir la enfermedad, en este caso una parasitosis. La situación actual de la resistencia pone en riesgo acciones que se establecen dentro de la campaña como son los despachos de tropa, el mantenimiento de la zona libre y la posibilidad de mantener una prevalencia baja del parásito en la zona endémica. Este posible escenario aumentaría considerablemente las pérdidas económicas directas provocadas por la parasitosis, actualmente estimada entre 32 y 45 millones de dólares anuales (Avila, 1998; Muzio, 2006). Así mismo aumenta el riesgo de presentarse brotes de hemoparásitos, dificultándose también la comercialización de ganado en pie y se pondría en riesgo la inocuidad de los alimentos por uso indiscriminado y reiterado de productos garrapaticidas.

En el presente trabajo se describe la situación de la resistencia a los acaricidas y el primer diagnóstico de garrapatas del género *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* con resistencia múltiple en Uruguay.

Materiales y métodos

Garrapata: El material recibido correspondió a poblaciones de garrapatas ingurgitadas, la mayoría con sospecha de resistencia, provenientes de establecimientos ganaderos ubicados en los departamentos de Artigas, Rivera, Salto, Paysandú, Tacuarembó, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rio Negro, Durazno, Florida, Rocha y Lavalleja. El mismo fue procesado de acuerdo al protocolo de trabajo del Departamento de Parasitología. El material recibido no siempre fue suficiente para realizar el diagnóstico en garrapatas adultas, pero siempre se partió de una población superior a los 20 ejemplares ingurgitados.

Técnicas de diagnóstico: El diagnóstico se realizó con técnicas *in vitro* en base a bioensayos validadas por la FAO. Las mismas permiten realizar un diagnóstico orientativo del perfil de la resistencia generada a campo (FAO, 2004).

En el estadio adulto del parásito se aplicó la técnica de Drummond -1973. En el estadio de larvas la técnica de Stone y Haydock – 1962, aplicándose la concentración discriminadora (CD), definida como el doble de concentración de la dosis letal 99,9% (Wilson, 1981; FAO, 2004).

Como control de prueba se utilizó la cepa Mozo de referencia susceptible desafiándola frente a los mismos acaricidas y a las mismas concentraciones que las garrapatas de campo. Las CDs utilizadas para la cepa Mozo fueron: 4 – 0,3 – 0,2 – 0,3 y 4% para los principios activos de ethion, cipermetrina, amitraz, fipronil e ivermectina respectivamente (Cuore y Solari, 2014).

- Grupos químicos: Los bioensayos en larvas fueron realizados con principios activos de grado técnico pureza superior al 90%, excepto el amitraz, que de acuerdo a Miller y col. 2002, se utilizó el acaricida formulado al 12,5%. Se utilizaron fipronil, organofosforados (ethion), piretroides sintéticos (cypermetrina) y lactonas macrocíclicas (ivermectina), por ser los de mayor uso en el control de la garrapata.

En la prueba de adultos, las garrapatas fueron sumergidas a concentración de pie de baño para los siguientes principios activos; piretroides sintéticos, mezcla (piretroide y organofosforados) y amitraz.

Criterio de interpretación: En acuerdo con los antecedentes, se interpreta que una población de garrapata es resistente, cuando preferentemente se cuente con el resultado de ambas técnicas. Este criterio se basa en la información disponible por el Departamento desde la década de 1980 (Nari *et al*, 1982). En prueba de adulto, se consideró resistente cuando las garrapatas fueron capaces de ovipositar y que se obtuvieran larvas viables. En la prueba de larvas, la presencia de garrapatas vivas 24 horas después de ser desafiadas con los acaricidas a las CDs se consideró como resistente, definiendo un grado de resistencia bajo cuando la sobrevivida no superó el 20%, medio entre 20 a 50% y alto mayor a 50%.

Período de estudio: enero de 2015 - julio de 2016.

Resultados

Entre los meses de enero de 2015 y julio de 2016, se recibieron 137 diferentes poblaciones de garrapatas para estudio del perfil de eficacia a los acaricidas. El 15,3% del total (n=21) no pudo ser analizado por presentar las garrapatas alteraciones de la reproducción (sin ovipostura o eclosión). En el cuadro 1, se presentan de forma global los diagnósticos de resistencia.

En la Figura 1, se presenta la distribución geográfica de la resistencia por departamento. El gradiente de colores establece que en la Seccional Policial referida al menos se presentó un diagnóstico de resistencia involucrando a la cantidad de principios activos de acuerdo a la escala. El color blanco indica que no hay diagnóstico.

Las poblaciones de garrapatas analizadas demostraron mayor resistencia a los piretroides (91%) que a los organofosfora-

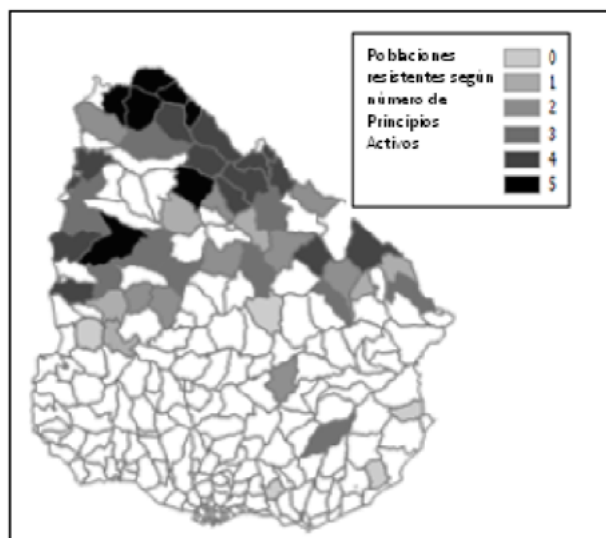


Figura 1. Distribución geográfica de acuerdo a las poblaciones resistentes según el número de Principios Activos.

dos (44%). Para amitraz y fipronil se detectó resistencia en 39 y 48% respectivamente, del total de poblaciones estudiadas. Mientras que el grupo de lactonas macrocíclicas resultó el principio activo con menor porcentaje de garrapatas resistente, 33% (Cuadro 2).

En la Figura 2 se observa la frecuencia de las distintas moléculas a la cual las poblaciones de garrapatas presentaron resistencia en forma simultánea.

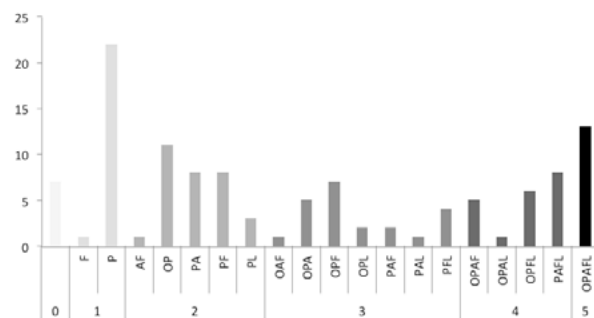


Figura 2. Poblaciones de garrapatas agrupadas de acuerdo a su resistencia a uno o más principios activos

En el Cuadro 3, se observa que de los 116 casos analizados se diagnosticó resistencia múltiple (a 5 moléculas) en 11 establecimientos del Departamento de Artigas, uno en Salto y uno en Paysandú, esto representó el 11,2% de la muestra.

Del total de las poblaciones estudiadas, 7 fueron susceptibles a todos los principios activos y provenían de los Departamentos de Tacuarembó, Durazno, Lavalleja y Rio Negro, representando el 6% de la muestra. El 53,3% presentaron como máximo resistencia a 2 principios activos y el 29,3% a 4 y 5 componentes.

Cuadro 1. Resultados de las pruebas de resistencia agrupados por Departamento y Seccional Policial.

Resistencia a Principios Activos																						
Departamento	S.P.	0		1					2				3				4				5	TOTAL
		F	P	AF	OP	PA	PF	PL	OAF	OPA	OPF	OPL	PAF	PAL	PFL	OPAF	OPAL	OPEL	PAFL	OPAF		
Artigas	03						1													3	4	
	04			1					1									1		1	4	
	05				1															2	3	
	06																			1	1	
	08				1																	1
	09		1		2						1	1										5
	10					1														1		2
	11					2							1							1		4
	12									1	1					1		1			4	8
	Total Artigas			1	1	4	3	1		1						1				11	32	
	Cerro Largo	04		1																		1
		05		1															1			2
06							1														1	
07					1								1									2
11			1																			1
12										1												1
Total Cerro Largo			3		1		1		1				1						1		8	
Durazno	07	2																			2	
Total Durazno		2																			2	
Florida	12							1													1	
Total Florida								1													1	
Lavalleja	02	1																			1	
	08										1											1
Total Lavalleja		1									1										2	
Paysandu	04																1				1	
	06													1			1				2	
	07				1		1				1										3	
	08															1				1	2	
	09										1											1
	11										1											1
	13		1								1											2
	#N/A													1								1
Total Paysandu			1		1		1			4				2	1	2			1		13	
Rio Negro	07		1																		1	
	08							1													1	
	09							1													1	
	11		1																		1	
	12	1																			1	
Total Rio Negro		1	2				2														5	
Rivera	02		4		1	1			1							2					9	
	03				1		1											1			3	
	04		1													1					2	
	05												1								1	
	07					1															1	
	09				1												1				2	
Total Rivera			5		3	2	1		1				1	3	1	1				18		
Rocha	08	1																			1	
	09	1																			1	
Total Rocha		2																			2	
Salto	04		1																		1	
	05		2			1														1	4	
	06										1										1	
	07					1							1				1				3	
	11		1																	1	2	
	12										1										1	2
	13		1																			1
Total Salto			5		1	1			1	1			1			1	2	1		14		
Tacuarembó	05		1				1														2	
	07				1																1	
	08																1				1	
	09										1										1	
	10					1	1														2	
	12	1	1	2		1	2						1				1				9	
	14			1																	1	
Total Tacuarembó		1	1	4		1	2	4		1	1		1	1		1	1			17		
Treinta y Tres	04		1																	1	2	
Total Treinta y Tres			1																	1	2	

Referencias; S.P. (Seccional Policial), O (organofosforado), P (piretroide), A (amitraz), F (fipronil). L (lactonas)

Cuadro 2. Resumen del número y porcentaje de poblaciones de garrapatas resistentes y susceptibles a los diferentes principios activos.

	Organofosforados	Piretroides	Amitraz	Fipronil	Lactonas
Susceptible	56% (65)	9% (10)	61% (71)	52% (60)	67% (78)
Resistente	44% (51)	91% (106)	39% (45)	48% (56)	33% (38)

Cuadro 3. Poblaciones de garrapata con o sin resistencia a uno o más principios activos.

Poblaciones de garrapatas	Cantidad de Principios Activos					
	0	1	2	3	4	5
% de la muestra	6	18,9	28,4	17,2	18,1	11,2
Nº de casos	7	22	33	20	21	13

Discusión

La muestra analizada no fue el resultado de un monitoreo planificado dentro de una vigilancia epidemiológica, por lo cual presenta sesgo, dado que en la mayoría de los casos la remisión del material se debió a una dificultad en controlar eficazmente al parásito. De todas formas estos resultados son demostrativos de la compleja situación a la cual se ha alcanzado en el estatus de la resistencia.

Las muestras recibidas que no pudieron analizarse representó el 15% del total, esto probablemente se debió a una contaminación de la muestra al momento de su extracción, si al mismo tiempo se efectuó un tratamiento o por haber obtenido la muestra dentro de los 10 días posteriores al tratamiento.

En 7 establecimientos, 6% de la muestra, las garrapatas fueron susceptibles a todos los componentes, evidenciando que la causa en la falta de eficacia en estos casos fue por errores operativos a campo y no por un problema de resistencia. Si a esto le sumamos que el 53,3% de los casos estudiados presentaron como máximo resistencia a 2 componentes, esto pone de manifiesto que existe un alto porcentaje de predios que aún no tienen un problema serio de resistencia. Por lo cual se hace impostergable que en estos casos se llegue al productor con una difusión y extensión del conocimiento generado en nuestro país para que adapte al sistema productivo de su establecimiento, una metodología de control que enlentezca el desarrollo de la resistencia (Cuore y col. 2009, 2012, 2015). Esta metodología implica realizar el diagnóstico de resistencia por predio, dado que la experiencia indica que el resultado depende del historial de tratamientos y por lo tanto puede ser distinto a la de los predios linderos (Cuore y col. 2015).

En el presente trabajo se demostró que la dispersión de las combinaciones de moléculas resistentes, no presentan un perfil definido, lo cual refuerza la necesidad de realizar el diagnóstico de eficacia a nivel predial.

En las pruebas diagnósticas *in vitro* realizadas en larvas, se observó que en los casos de garrapatas resistentes, el grado o porcentaje de resistencia a cada acaricida fue variable. La categorización propuesta en relación al grado de resistencia se considera importante ya que, cuando el porcentaje de garrapatas resistente es baja ($\leq 20\%$), algún producto o estrategia de combinación de tratamientos aún puede tener una eficacia aceptable. En un ensayo realizado en una población con resistencia múltiple a 5 componentes proveniente del departamento de Artigas con un grado de resistencia baja a lactonas y fipronil, el tratamiento combinado de ambos principios activos resultó en un porcentaje de control de 95% en condiciones controladas de manera experimental. Esta información fue utilizada con éxito en 2 establecimientos del Departamento de Artigas con garrapatas multirresistentes (Cuore, U. 2015, datos sin publicar). Esto podría considerarse como una opción de control razonable a corto plazo hasta tanto no se desarrollen alternativas probadas con productos diferentes (químicos y biológicos) a los actualmente disponibles.

Históricamente, el control del parásito se basó en forma casi exclusiva en la utilización de productos químicos, muchas veces sin la elaboración de un plan de control con criterio técnico que apuntara no sólo a controlar eficazmente al parásito sino a utilizar los productos con la finalidad de dilatar en el tiempo la emergencia de la resistencia. Esta forma tradicional de realizar el control de la garrapata ha demostrado no ser sustentable a largo plazo, de ahí la importancia en desarrollar estrategias de control racionales a través de la generación de conocimiento.

Una vez obtenido el diagnóstico de situación de garrapata y hemoparásitos en el predio, el control racional debe estar basado en cuatro pilares del conocimiento generado y comprobado en nuestro país:

Basar el comportamiento del parásito de acuerdo al “mo-

delo epidemiológico conceptual” asumiendo el desarrollo de 3 generaciones de garrapatas al año. (Nari y col., 1990; Cardozo y Franchi, 1994).

Rotar el uso de acaricidas basado en el “tratamiento generacional de la garrapata”, utilizando un grupo químico diferente en cada generación de garrapata (Cuore y col., 2009, 2012, 2015).

Utilizar animales centinelas para monitorear la eficacia de los tratamientos y determinar el grado de parasitación que presentan los animales. Esto permite establecer criterios para la toma de decisiones del momento oportuno en que tratar las parasitosis (Nari y col., 2012, 2013; Cuore y col., 2016).

Inmunizar anualmente la categoría de ternero con la vacuna triple contra hemoparásitos en predios de riesgo. Ésta evita muertes y pérdidas productivas provocada por la tristeza parasitaria (Solari y col., 2013).

Actualmente no se dispone de una metodología de control sostenible a largo plazo cuando la población de garrapatas es resistente a 5 principios activos, esto genera un gran desafío técnico para lograr una solución. Dentro de las posibles alternativas a estudiar y dado que el 56% de las muestras analizadas demostraron ser susceptibles a los organofosforados es discutir la oportunidad de realizar pruebas *in vitro* (bioensayos) e *in vivo* (en condiciones controladas de estabulación) con organofosforados para evaluar la posibilidad de permitir su uso en la campaña como monodroga. Este hecho se basa técnicamente en la experiencia de los baños con coumaphos que EEUU realiza al ganado en pie que entra desde México. Estos tratamientos (a altas concentraciones, 2300 ppm) son eficaces frente a poblaciones de garrapatas resistentes de México, incluso a organofosforados (Miller, R. 2006, comunicación personal). Si el resultado de las pruebas amerita el uso nuevamente de esta molécula como monodroga, se debería contar de una correcta gestión en la disposición final de los baños agotados y de su aplicación por parte de los operarios.

El desarrollo de alternativas no químicas de control (vacuna contra la garrapata, hongos entomopatógenos, aceites esenciales, razas de bovinos resistentes, manejo de potreros, etc.) siguen siendo medidas de difícil aplicación como lo es el manejo o con falta de desarrollo como el caso de la vacuna.

Las experiencias en nuestro país en relación a la eficacia de las diferentes vacunas contra la garrapata en base a antígeno Bm86 y otra de macerado de larvas, los resultados no han superado el 40% de control global tanto en pruebas de establo como de campo (Cuore y col., 2013).

Conclusiones

Se confirmó la presencia de garrapatas con resistencia múltiple, a 5 principios activos.

Las lactonas macrocíclicas resultaron ser el principio acti-

vo al cual las garrapatas presentaron el menor porcentaje de resistencia. Por el contrario los piretroides sintéticos presentaron el mayor porcentaje. Con fipronil, amitraz y organofosforados el porcentaje de resistencia fue medio.

Se considera que en los predios donde solo quedan uno o dos compuestos eficaces, hecho que representó el 29,3% de la muestra estudiada, existe el riesgo que debido a la continua presión de selección por tratamientos reiterados con las mismas moléculas, llevará en forma inexorable al desarrollo de resistencia a corto plazo de la molécula aun eficaz.

Se necesita realizar mayor difusión y extensión del conocimiento disponible para evitar la generación de garrapatas con resistencia múltiple y generar nuevo conocimiento referido a nuevas estrategias que logren un control racional de las garrapatas con resistencia múltiple así como establecer acciones eficaces para evitar su dispersión.

Agradecimientos

A Sebastián Vallejo de División Analytics Grupo MAS (www.grupomas.software) por el análisis de datos y la elaboración de cuadros y mapa.

Bibliografía

1. Alonso-Díaz M A, Rodríguez-Vivas R I, Fragosó-Sánchez H, Rosario- Cruz R. (2006) Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch. med. vet. v.38 n.2 Valdivia.
2. Avila D. (1998) Análisis Cuantitativo de los Costos a Nivel del País y del Productor por la Presencia de la Garrapata en el Uruguay. Consultoría MGAP – IAEA. <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm>.
3. Bates P. (2012) External parasites of small ruminants. A practical guide to their prevention and control. CABI. United Kingdom ISBN-13:978 1 84593 664 8.
4. Cardozo H, Franchi M. (1994) Epidemiología y Control de *Boophilus microplus*. In Enfermedades parasitarias de importancia económica en Bovinos; Bases epidemiológicas para su prevención y control, ed Nari & Fiel, ISBN: 9974-556-89-9.
5. Cuore U, Trelles A, Sanchís J, Gayo V, Solari, M. (2007) Primer diagnóstico de resistencia al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. Veterinaria 42:35-41.
6. Cuore, U, Cicero L, Trelles A, Nari A, Solari MA. (2009) Tratamiento generacional de la garrapata. <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm>.
7. Cuore U, Altuna M, Cicero L, Fernández F, Luengo L, Mendoza R, Nari A, Pérez Rama R, Solari M, Trelles A. (2012) Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población mul-

- tirresistente de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria* (Montevideo) 48:5-13.
8. Cuore U, Cardozo H, Solari M A, Cicero L. (2013) Capítulo Capítulo 21. La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. Epidemiología y control. In “Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control” En: Field C. & Nari A. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.
 9. Cuore U, y Solari M A. (2014) Poblaciones multirresistentes de garrapatas. *Veterinaria* (Montevideo) 50:4-13.
 10. Cuore U, Acosta W, Bermúdez F, Da Silva O, García I, Pérez Rama R, Luengo L, Trelles A, Solari MA. (2015) Tratamiento generacional de la garrapata. Aplicación de una metodología en un manejo poblacional para la erradicación de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a lactonas macrocíclicas. *Veterinaria* (Montevideo) 51:14-25.
 11. Cuore U, Gayo V, Solari M A. (2016) Monitoreo de las parasitosis a través de animales centinela. *Revista Opinión Veterinaria*. Edición N° 4 marzo-abril.
 12. 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.
 13. FAO (2004) Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines. CD - ROM. Publications-sales@fao.org
 14. Kunz S, y Kemp D. (1994) Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev.sci.tech.Off. int.Epiz.* 13:1249-1286.
 15. Miller RJ, Davey RB, y George JE. (2002) Modification of the food and agriculture organization larval packet test to measure amitraz-susceptibility against ixodidae. *J. Med. Entomol* 39:645-651.
 16. Muzio F. (2006) Programa de la lucha contra la garrapata in: Aportes a la lucha contra la garrapata, FAO – TCP – DGSG – MGAP.
 17. Nari A, Cardozo H, Berdié J, Canabez F, Bawden R. (1979) Estudio preliminar sobre la ecología de *Boophilus microplus* en Uruguay. Ciclo no parasitario en un área considerada poco apta para su desarrollo. *Veterinaria*. 15:25-31.
 18. Nari A, Cardozo H, Petraccia C. (1982) Resistencia de *Boophilus microplus* a los acaricidas organofosforados en el Uruguay. III^{er} Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, 407 – 427.
 19. Nari A, y Solari M. (1990) Desarrollo y utilización de vacuna contra *Boophilus microplus*, Babesiosis y Anaplasmosis, perspectiva actual en el Uruguay. XVIII Jornadas Uruguayas de Buiatria, Paysandú.
 20. Nari A, Solari MA, Lima, A, Risso E, Casaretto A, Franchi M, Cuore U, Quintana S, Gayo V, Cicero L, Bermudez F, Valledor S, Salada D, Machi I, Lorezelli E, Barboza N, Castell D, Bonino J. (2012) Control integrado de parásitos, en sistemas de producción mixtos, en aéreas de basalto del Uruguay. Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria, INIA FPTA -282.
 21. Nari A, Solari MA, Cuore U, Lima A, Casaretto R, Valledor S. (2013) Control integrado de parásitos en establecimientos comerciales del Uruguay. In “Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control” Coordinadores: Field César & Nari Armando. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.
 22. Reck J, Klafke G, Webster A, Dall’Agnol (2014) First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. – Elsevier *Veterinary Parasitology*. Volume 201, Issues 1–2, 17, Pages 128–136.
 23. Rosario-Cruz R, y Domínguez D. (2016) Biological and Biochemical Bases of Pesticides Resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Agricultural and Biological Sciences* » “Insecticides Resistance”, Edited by Stanislav Trdan, ISBN 978-953-51-2258-6.
 24. Solari M A, Dutra F, y Quintana S. (2013) Epidemiología y prevención de los hemoparásitos (*Babesia* sp y *Anaplasma* sp) en el Uruguay. In “Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica Y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control” Coordinadores: Field César & Nari Armando. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.
 25. Stone B, y Haydock K. (1962) A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bulletin of Entomology Research*, Vol. 53, Part 3.
 26. Wilson JT. (1981) El empleo de dosis de separación. Primer curso sobre Manejo de Baños y Estudio de Resistencia de Garrapatas, FAO, Uruguay.of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Vet Parasitol* 87:327-338.