

Análisis del perfil de susceptibilidad de la garrapata *Rhipicephalus microplus* para cinco grupos químicos y factores asociados en poblaciones de campo del norte de Uruguay

Susceptibility profile and associated factors analysis of *Rhipicephalus microplus* for five chemical groups on field populations from the north of Uruguay

Tatiana Saporiti¹ 0000-0002-88083001
Santiago Losiewics² 0000-0003-3350-5673
Alfredo Trelles² 0000-0001-9740-4009

Cecilia Miraballes¹ 0000-0003-3128-685X
Franklin Riet- Correa¹ 0000-0001-5738-7785
Ulises Cuore² 0000-0002-9215-2284

¹ Plataforma de Salud Animal, INIA Tacuarembó, Ruta 5 km 386 Tacuarembó, Uruguay. Autora de correspondencia: tati.saporiti@gmail.com

² Departamento de Parasitología, DILAVE Montevideo.

Veterinaria (Montevideo) Volumen 57
N° 215 (2021 Ene - Jun) e20215721505

DOI:10.29155/VET.57.215.5

Recibido: 30/01/2020

Aceptado: 06/01/2021

Resumen

En Uruguay la problemática de la resistencia de *Rhipicephalus microplus* a los acaricidas habilitados ha ido incrementando con los años, agravándose con la aparición de poblaciones multirresistentes en 2009. El objetivo del trabajo fue analizar la resistencia de 47 poblaciones de garrapatas entre los años 2017 y 2018 para cinco grupos químicos: piretroides (cipermetrina, flumetrina), organofosforados (ethion), amidinas (amitraz), fenilpirazoles (fipronil) y lactonas macrocíclicas (ivermectina), utilizando el Test de Paquete de Larvas (TLP) y una encuesta que se realizaba al responsable del establecimiento. De las 47 poblaciones analizadas 46 fueron resistentes a piretroides (46 cipermetrina, 45 flumetrina), presentando en su mayoría un alto nivel de resistencia. Todas las poblaciones muestreadas presentaron resistencia al menos a un grupo químico. El 68,1 % a tres o más grupos químicos de forma simultánea pero ninguna presentó resistencia ni susceptibilidad a los cinco analizados. Hubo poblaciones que presentaron resistencia a algunos grupos químicos que no habían sido utilizados en los establecimientos de los que fueron muestreadas. La mayoría de los predios realizaron un número mayor de tratamientos al año que el recomendado para un tratamiento generacional. Para todos los principios activos evaluados hubo poblaciones con sospechas de resistencia que no se confirmaron mediante TPL. Esto refleja las situaciones complejas que presentan hoy estos establecimientos en torno a la resistencia a los acaricidas por parte de *R. microplus*, que podría estar vinculada al modo, frecuencia y tiempo de uso de estos acaricidas. Así como también a su uso pero con otros fines y a los movimientos, ingresos principalmente, de animales a los predios.
Palabras clave: Garrapata del ganado, acaricidas, pruebas de resistencia.

Abstract

Acaricide resistance of *Rhipicephalus microplus* tick in Uruguay means a serious problem that has been worsening through years hitting a high point with the detection of multiresistant populations on 2009. Therefore, the aim of this study was to analyze resistance for five chemical groups: pyrethroids (cypermethrin, flumethrin), organophosphates (ethion), amidines (amitraz), phenylpyrazoles (fipronil), macrocyclic lactones (ivermectin) on 47 populations between years 2017 and 2018 by using the Larval Packet Test (LPT) and a quiz made to the responsible for the farm. Results show that 46 from the 47 populations analyzed were resistant to pyrethroids (46 to cypermethrin, 45 to flumethrin). This chemical group also showed the largest number of resistant populations with a high grade of resistance. Every population showed to be resistant to at least one chemical group furthermore the 68.1 % of the populations were resistant to at least 3 chemical groups simultaneously but no population was diagnosed resistant to the 5 chemical groups analyzed neither to be susceptible to all 5 chemical groups. It stands out that there were populations resistant to some chemical groups that the farms of origin had never used. There were registered a higher number of treatments done per year to control *R. microplus*, than the one recommended for a generational treatment. For every active ingredient evaluated, there were suspicions of resistance that the Larval Packet Test could not confirm. This reflects the complex situation of these farms in what refers to acaricide resistance of *R. microplus*. This may be related to the way, frequency and time acaricides had been used on these farms, as well as using them for other purposes and also due to the impact of the income of animals infested with *R. microplus* from other origins.
Keywords: Cattle tick, acaricides, resistance tests.

Introducción

La producción animal se ve afectada por las enfermedades parasitarias. En el caso de la parasitosis por *Rhipicephalus microplus*, además de las mermas productivas que genera y los costos por su control, transmite enfermedades que aumentan las pérdidas y costos de producción (Schillhorn van Veen, 1997). Otro problema asociado son los residuos de acaricidas en productos de origen animal. Su mal manejo pone en riesgo la inocuidad alimentaria y los mercados comerciales para Uruguay (CONAHSA, 2016).

Esta situación se vuelve más compleja con la aparición de resistencia a los acaricidas. Esta se puede describir como la disminución en la susceptibilidad de una población de parásitos a un determinado acaricida cuando este es usado de la forma y a la dosis recomendada (FAO, 2004). La desarrollan los parásitos como respuesta a ser expuestos a condiciones ambientales desafiantes y de forma continua en el tiempo (Conway y Comins, 1979). La utilización de acaricidas reiteradamente y con una alta frecuencia ha llevado al desarrollo acelerado de resistencia (Cuore, 2016).

La resistencia a los acaricidas tiene una distribución internacional observándose en Australia, África, América central y América del Sur (Alonso-Díaz *et al.*, 2006). En Uruguay la problemática de la resistencia de *R. microplus* a los acaricidas habilitados ha ido incrementándose con los años. El primer antecedente de resistencia fue en 1950 a los arsenicales (citado por Cardozo y Franchi, 1994), al que le siguieron los organofosforados en 1978 (Nari *et al.*, 1982; Petraccia *et al.*, 1983), los piretroides sintéticos en 1994 (Cardozo y Franchi, 1994), las mezclas de piretroides y fosforados en 1994 (Cardozo y Franchi, 1994), el fipronil en 2006 (Cuore *et al.*, 2007), el amitraz en 2009 (Cuore *et al.*, 2012) y las lactonas macrocíclicas en 2010 (Castro-Janer *et al.*, 2012). Se considera que en determinadas oportunidades el mal uso de los acaricidas utilizados en Uruguay para el control de *R. microplus*, pudo haber acelerado el proceso de desarrollo de resistencia, lo cual fue observado en otros países (Alonso-Díaz *et al.*, 2006; Cuore 2006;). Hasta la fecha, el fluzurón es el único principio activo habilitado sin registros de resistencia en Uruguay (Cuore *et al.*, 2017). La situación de la resistencia se ha vuelto más difícil debido a la aparición de poblaciones multiresistentes en 2009 (Cuore y col, 2012, 2017). Observando esta perspectiva de resistencia claramente desfavorable y mientras no se cuente con una nueva herramienta química o biológica, se puede poner en riesgo en algunos predios la factibilidad técnica en el control de la garrapata *R. microplus*.

Conocer el perfil de resistencia de una población de *R. microplus* a los acaricidas es importante para realizar un correcto plan sanitario de control o erradicación de esta parasitosis. Para esto se utilizan las pruebas *in vitro* que son menos costosas que las técnicas *in vivo*, son prácticas e incluso son recomendadas para realizar pruebas a poblaciones de campo (Amaral, 1993). El Test de Paquete de Larvas (TPL) (Stone y Haydock, 1962) es una técnica *in vitro* que permite conocer el perfil de resistencia de *R. microplus* a todos los grupos químicos de acaricidas habilitados

en Uruguay; piretroides, fosforados, amidinas, fenilpirazoles, lactonas macrocíclicas; menos a los inhibidores del crecimiento como Fluzurón (FAO, 2004; Cuore y col, 2017).

Debido a que la situación en el país en torno a esta parasitosis se adecuó la reglamentación existente en 2008 con la aprobación de la ley N° 18.268 de lucha contra la garrapata *R. microplus* y las enfermedades que esta transmite. Dentro de las herramientas que plantea esta ley una de ellas refiere a la zonificación del territorio del país, reglamentada por la Autoridad Sanitaria, estableciéndose una zona libre (una superficie geográfica donde no se constata el parásito) y otra de control (una superficie geográfica donde la garrapata *R. microplus* se encuentra presente) y la CODESA determina las medidas que se deberán tomar para disminuir la presencia de este parásito y de las enfermedades que este trasmite, llevado a cabo por la Autoridad Sanitaria. Una de las medidas a tomar en predios considerados de riesgo es realizar un correcto y eficiente plan sanitario para el control de esta parasitosis. Este plan debería comenzar por conocer el perfil de resistencia de cada población de *R. microplus*, utilizando un test diagnóstico como el TPL.

El objetivo de este trabajo fue describir los perfiles de susceptibilidad de 47 poblaciones de *R. microplus* procedentes de establecimientos del norte del país para cinco grupos químicos de acaricidas habilitados en Uruguay utilizando el TPL y analizarlos junto a datos de cada predio obtenidos por medio de un cuestionario.

Materiales y métodos

Entre enero de 2017 y mayo de 2018 se analizaron 47 poblaciones de garrapatas *R. microplus*, en estadio de teleoginas, plenamente ingurgitadas, provenientes de 47 predios ubicados en departamentos del norte del país: Paysandú, Salto, Artigas, Rivera, Cerro Largo y Tacuarembó. Cada población de garrapatas se obtuvo de un predio diferente. El muestreo aplicado fue no probabilístico ya que los predios se ofrecieron de manera voluntaria. En el momento del muestreo se les realizó un cuestionario al propietario del predio o encargado consultándolo acerca del ingreso de animales al establecimiento ya sea de predios linderos, compras u otras formas posibles de ingreso de animales al establecimiento. Se les preguntó por el número de tratamientos garrapaticidas realizados por año, acerca de cuáles principios activos se habían utilizado históricamente en el predio y si tenían sospechas de resistencia a algún principio activo. Las garrapatas se extrajeron manualmente revisando la totalidad de bovinos de cada establecimiento. En caso de haber utilizado algún acaricida previamente al muestreo, la colecta se realizaba posteriormente a haber transcurrido su tiempo de poder residual. Las garrapatas se trasladaron al laboratorio en el transcurso de 1 a 3 días durante los cuales permanecieron en una caja de cartón que en su interior contenía papel secante humedecido y estaba sellada con cinta adhesiva y se le realizaron orificios de hasta 3mm en la parte superior de la caja. Una vez en el laboratorio se incubaron en las siguientes condiciones: 27°C, 85-90 % HR, 12

horas luz durante 14 días. Cumplido este período de tiempo su ovipostura se colocó en tubos de ensayo de 1,5 cm de diámetro. A estos tubos de ensayo previamente se les colocó 2 ml de agua destilada seguido de algodón colocado a presión en el fondo del tubo con una varilla de acero de aproximadamente 8mm de diámetro hasta que la superficie del tapón de algodón quedara seca. Se monitorearon los huevos hasta detectar su eclosión. Cuando las larvas tenían entre 14 a 21 días de eclosionadas se les realizó el TPL en el departamento de parasitología de la DILAVE Montevideo.

Para el TPL se utilizó una solución de tricloroetileno (analytical standard, n° 46267, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) y aceite de oliva (analytical standard, Supelco, SIGMA-Aldrich, St. Louis, USA) en una relación 2:1, donde se disolvieron los estándares analíticos de los principios activos para los que se evaluó la resistencia de las poblaciones analizadas; cipermetrina (grado técnico, 93.2 %, cedida por laboratorio Microsules, Montevideo, Uruguay), ethión (analytical standard, Sigma – Aldrich, 45477, Saint Louis, USA) , amitraz (amitraz comercial 12,5 %, Aca-rex), fipronil (analytical standard, Sigma – Aldrich, 46451, Saint Louis, USA), ivermectina (ivermectin, Sigma – Aldrich, I8898, Saint Louis, USA) y flumetrina (reference satandard, Bayer, T31100, Monheim, Alemania). Las concentraciones que se utilizaron para las diluciones fueron las correspondientes a las concentraciones discriminatorias para la cepa susceptible (Mozo), con la cual se pusieron a punto las técnicas en Uruguay (Cuore y Solari, 2013).

Tabla 1. Concentraciones discriminatorias de los 5 principios activos analizados para la cepa Mozo (Susceptible).

	Cipermetrina	Ethión	Amitraz	Fipronil	Ivermectina	Flumetrina
CD (%)	0,3	4	0,2	0,3	4	0,008

Con cada una de estas soluciones se impregnaron papeles filtro (papel filtro hoja 50x50 cm, equiv. Whatman 1, DIU código: 20 67968) rectangulares de 7,5 x 8,5 cm identificados con el principio activo correspondiente a la dilución con la que se impregnaron y la fecha de impregnación. Para esto se utilizaron 0,67mL de solución por papel distribuyendo la solución de forma homogénea con una pipeta multicanal (F1-Clip Tip, Thermo Fisher) usando nueve tips. Para lograr una mayor homogeneidad se realizaron seis descargas en paralelo, para llegar a los 0,67mL totales, simétricamente a un lado y otro de la línea media del papel (teniendo como referencia su lado de 7,5cm). Para el amitraz se realizó el mismo procedimiento, pero utilizando papel de nylon (2320, Cerex Advanced Fabrics, Pensacola, FL). Los papeles, una vez humedecidos, fueron colgados con un clip bull dog, para prevenir que estuviesen en contacto con cualquier superficie, dentro de una campana de extracción de gases a evaporar durante 24 horas. Transcurrido este plazo se los almacenó en freezer (-30 °C), envueltos en papel aluminio, correctamente identificados.

Para testear las poblaciones de los distintos establecimientos

muestreados se colocaron aproximadamente 100 larvas sobre cada papel. Posteriormente se lo dobló a la mitad, por el largo de 8,5 cm, cerrándolo en los costados y el borde superior con clips bull dog, formando así los paquetes de larvas. Para cada dilución se realizaron dos réplicas por población de garrapatas testeadas. Estos paquetes se llevaron a incubar a 27°C, 85-90 % HR, 12 horas luz durante 24 horas. Transcurridas las 24 horas se abrieron los sobres y se contabilizó la cantidad de larvas vivas y muertas por sobre. Si las larvas estaban todas muertas se consideró que las mismas eran susceptibles a ese principio activo y si se encontraban larvas vivas se asumía como resistente. Luego se calculó el porcentaje de mortalidad de cada sobre.

Criterio para el análisis de resultados:

Ecuación 1

$$\text{Porcentaje de mortalidad} = \left[\frac{\text{larvas muertas}}{\text{larvas vivas} + \text{larvas muertas}} \right] * 100$$

Cuando en las larvas utilizadas como control la mortalidad fue mayor a 5 % los resultados se corrigieron por la fórmula de Abbot

Ecuación 2

$$\% \text{ mortalidad corregida} = \frac{(\% \text{ mortalidad del grupo tratado} - \% \text{ mortalidad del grupo control}) * 100}{(100 - \% \text{ mortalidad del grupo control})}$$

Cuando esta superó el 10 % se descartaron los resultados.

La mortalidad media se calculó con el promedio de las mortalidades calculadas para ambas replicas realizadas por dilución para cada población. Por último, se realizó el cálculo del porcentaje de resistencia a partir de la mortalidad media (Miller *et al.*, 2007; Stone y Haydock, 1962).

Ecuación 3

$$\text{Porcentaje de resistencia} = 100 - \text{porcentaje mortalidad media}$$

Se consideró que las poblaciones presentan un grado de resistencia bajo cuando el porcentaje de resistencia es menor a 20 %, un grado de resistencia media cuando se encuentra entre 20 % y 50 % y un grado de resistencia alta cuando es mayor a 50 % (Cuore *et al.*, 2017).

Los datos se analizaron mediante una estadística descriptiva.

Resultados

Los resultados obtenidos por medio del cuestionario se presentan en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Resultados de la encuesta de la población 1 a la 18.

N° Pob	Depto	Ingreso de animales y origen	Ttos/ año	Principios activos utilizados en el predio						Sospecha de resistencia	Observaciones
				Cip	Eth	Ami	Fip	Ivm	Flu		
1	Artigas	Predios y calles linderas	9	x	x	x		x		No	
2	Paysandú	No	>12	x			x	x		Cip, Flu, Eth, Ami, Fip e Ivm	
3	Rivera	Predios y calles linderas	10	x		x		x		Cip	Antecedente de uso de organofosforado diferente de Eth
4	Rivera	Predios y calles linderas	9			x	x	x		Cip, Fip y Flu	
5	Cerro Largo	Predios y calles linderas	7 a 8	x	x	x	x	x		Cip, Eth, Ami, Fip e Ivm	
6	Artigas	Predios y calles linderas	3			x	x	x		Fip e Ivm	
7	Tacuarembó	No	9 a 12			x	x	x		Fip e Ivm	Antecedente de uso de Abamectina
8	Paysandú	No	>12	x	x					Cip	
9	Tacuarembó	No	4 a 5				x	x		Fip e Ivm	
10	Artigas	Predios y calles linderas	9 a 12	x		x	x	x		Cip, Flu, Eth, Ami, Fip e Ivm	Antecedente de uso de organofosforado diferente de Eth
11	Tacuarembó	No	6	x			x	x		No	
12	Tacuarembó	Predios y calles linderas	>12		x		x	x		Ivm	
13	Paysandú	No	>12			x		x		Ami	Antecedente de uso de Abamectina
14	Tacuarembó	Predios y calles linderas	>12			x		x		Ami	
15	Tacuarembó	Predios y calles linderas	8 a 9				x		x	Fip e Ivm	
16	Artigas	Predios y calles linderas	8	x	x	x	x	x		Ami, Fip e Ivm	
17	Salto	No	8			x		x		Fip y Cip	Estudio de resistencia previo dando resistente a Fip y Cip
18	Salto	No	6			x	x	x		No	

N° Pob = número de población, Depto= Departamento donde se encuentra el establecimiento, Ttos/ año= tratamientos que se realizan por año en el establecimiento, Cip= Cipermetrina, Flu= Flumetrina, Eth= Ethion, Ami= Amitraz, Fip= Fipronil, Ivm= Ivermectina.

Tabla 3. Resultados de la encuesta de la población 19 a la 36

N° Pob	Depto	Ingreso de animales y origen	Ttos/ año	Principios activos utilizados en el predio						Sospecha de resistencia	Observaciones
				Cip	Eth	Ami	Fip	Ivm	Flu		
19	Tacuarembó	No	8	x		x	x	x		Fip e Ivm	Antecedente de uso de Abamectina
20	Tacuarembó	Predios y calles linderas	5						x	Ivermectina	Era predio libre, reingreso del parásito por un animal que ingresó de la calle
21	Tacuarembó	Predios y calles linderas	6 a 7			x	x	x		Amitraz y Fipronil	
22	Rivera	Predios y calles linderas	6 a 7			x	x	x		No	
23	Artigas	Predios y calles linderas	>12			x		x		Ivermectina	
24	Rivera	No	12			x		x		Amitraz	
25	Rivera	Predios y calles linderas	7				x	x		Fipronil e Ivermectina	Productor nuevo en el predio
26	Rivera	Predios y calles linderas	8				x	x		Fipronil e Ivermectina	
27	Rivera	Predios y calles linderas	8				x	x		Fipronil e Ivermectina	
28	Cerro Largo	No	8 a 9	x	x	x	x	x		Cipermetrina, Ethion, Amitraz, Fipronil e Ivermectina	Antecedente de uso de Abamectina
29	Cerro Largo	Predios y calles linderas	9 a 10			x	x	x		No	
30	Salto	No	3 a 4	x			x	x		Ivermectina	
31	Salto	No	4	x	x		x	x	x	No	
32	Salto	No	8			x		x	x	No	
33	Tacuarembó	Predios y calles linderas	>12	x	x	x	x	x		Fipronil e Ivermectina	
34	Salto	Diferentes predios	5				x	x		No	Establecimiento de engorde
35	Tacuarembó	Predios y calles linderas	3 a 5	x				x		No	Productor nuevo en el predio
36	Tacuarembó	Predios y calles linderas	8 a 9				x	x		Fipronil e Ivermectina	Productor nuevo en el predio

N° Pob = número de población, Depto= Departamento donde se encuentra el establecimiento, Ttos/ año= tratamientos que se realizan por año en el establecimiento, Cip= Cipermetrina, Flu= Flumetrina, Eth= Ethion, Ami= Amitraz, Fip= Fipronil, Ivm= Ivermectina. **Tabla 4. Resultados de la encuesta de la población 37 a la 47**

Tabla 4. Resultados de la encuesta de la población 37 a la 47

N° Pob	Depto	Ingreso de animales y origen	Ttos/ año	Principios activos utilizados en el predio						Sospecha de resistencia	Observaciones
				Cip	Eth	Ami	Fip	Ivm	Flu		
37	Salto	Diferentes predios	10				x	x		Fipronil	Compra bovinos de otros predios
38	Tacuarembó	No	12			x	x	x		No	
39	Artigas	Predios y calles linderas	8				x	x		Ivermectina	Antecedente de uso de Abamectina
40	Paysandú	No	7 a 10				x	x		Fipronil e Ivermectina	
41	Tacuarembó	Diferentes predios	5				x	x		Fipronil e Ivermectina	Productor nuevo en el predio
42	Salto	Predios y calles linderas	10	x			x	x		Cipermetrina, Fipronil e Ivermectina	
43	Tacuarembó	Predios y calles linderas	7 a 9			x	x	x		Fipronil e Ivermectina	
44	Salto	Diferentes predios	7 a 10				x	x		Fipronil e Ivermectina	Compra bovinos de otros predios
45	Rivera	Diferentes predios y calles linderas	Más de 12			x	x	x		Fipronil e Ivermectina	Movimiento de animales por manejo y compras
46	Tacuarembó	Diferentes predios	Más de 13			x		x		Ivermectina	Ingreso anual de toros revisados para garrapata
47	Tacuarembó	No	7 a 10				x	x		Fipronil e Ivermectina	Antecedente de uso de organofosforado diferente de ethion

N° Pob = número de población, Depto= Departamento donde se encuentra el establecimiento, Ttos/ año= tratamientos que se realizan por año en el establecimiento, Cip= Cipermetrina, Flu= Flumetrina, Eth= Ethion, Ami= Amitraz, Fip= Fipronil, Ivm= Ivermectina.

Por medio del TPL se determinaron los perfiles de resistencia de las 47 poblaciones de *R. microplus* muestreadas observando que presentaron diferentes perfiles de resistencia como se presenta en la tabla 5.

Se destaca de la tabla 6 que los principios activos correspondientes al grupo químico de los piretroides, la cipermetrina y la flumetrina, fueron para los que se observó un mayor número de poblaciones resistentes, así como un mayor número de poblaciones con grado alto y medio de resistencia. La ivermectina por el contrario fue el principio activo para el cual se observó el menor número de poblaciones con resistencia siendo esta baja.

De las 47 poblaciones analizadas por TPL, 17 presentaron resis-

tencia simultánea a tres grupos químicos, 15 resistencia simultánea a cuatro grupos químicos, 11 resistencia a dos grupos químicos y cuatro resistencia a un grupo químico. Ninguna población presentó resistencia simultánea a los cinco grupos químicos. En la Tabla 7 se puede observar que determinadas poblaciones presentaron resistencia a principios activos cuyo uso no estaba registrado en el establecimiento de origen. Solo dos poblaciones (4,3 % de todas las poblaciones analizadas) tenían antecedentes de uso de todos los principios activos a los que se les detectó resistencia.

De los 45 establecimientos cuyas poblaciones fueron diagnosticadas resistentes a principios activos que no habían sido utiliza-

Tabla 5. Resultados del TPL de las 47 poblaciones evaluada

Nº Pob	Departamento	Cipermetrin	Ethión	Amitráz	Fipronil	Ivermectina	Flumetrina
1	Artigas	Alta	Baja	0	Baja	0	Alta
2	Paysandú	Media	Baja	0	Baja	0	Media
3	Rivera	Alta	Baja	0	Media	Baja	Alta
4	Rivera	Media	Baja	Baja	Baja	0	No se realizó
5	Cerro Largo	0	0	Baja	0	Baja	0
6	Artigas	Baja	Baja	Media	0	Baja	Baja
7	Tacuarembó	Baja	0	0	Media	0	Baja
8	Paysandú	Alta	Media	0	Baja	0	Alta
9	Tacuarembó	Media	0	Baja	0	Baja	Baja
10	Artigas	Baja	Baja	0	Baja	0	Baja
11	Tacuarembó	Baja	Media	0	0	0	Baja
12	Tacuarembó	Baja	0	0	Baja	0	Baja
13	Paysandú	Alta	Baja	Baja	Baja	0	Baja
14	Tacuarembó	Alta	Baja	Media	0	0	Alta
15	Tacuarembó	Baja	Baja	0	0	0	Media
16	Artigas	Media	Baja	0	Baja	Baja	Media
17	Salto	Alta	Media	0	Baja	0	Alta
18	Salto	Media	Baja	0	Baja	0	Alta
19	Tacuarembó	Media	Baja	0	0	0	Media
20	Tacuarembó	Baja	Baja	0	0	0	Baja
21	Tacuarembó	Alta	Baja	Baja	Baja	0	Alta
22	Rivera	Baja	Baja	0	0	0	Baja
23	Artigas	Alta	0	0	0	0	Alta
24	Rivera	Baja	0	0	0	0	Baja
25	Rivera	Media	Baja	Baja	0	Baja	Media
26	Rivera	Media	Baja	0	Baja	0	Baja
27	Rivera	Media	0	0	0	0	Media
28	Cerro Largo	Alta	0	Baja	0	Baja	Alta
29	Cerro Largo	Alta	0	Baja	0	Baja	Alta
30	Salto	Alta	0	Baja	0	Baja	Alta
31	Salto	Alta	Media	0	Media	Baja	Alta
32	Salto	Alta	Baja	0	Baja	0	Alta
33	Tacuarembó	Baja	0	0	0	Baja	Baja
34	Salto	Alta	0	0	0	0	Alta
35	Tacuarembó	Media	0	Baja	Baja	Baja	Media
36	Tacuarembó	Baja	0	0	Baja	0	Baja
37	Salto	Alta	Media	0	Alta	0	Alta
38	Tacuarembó	Media	Baja	Baja	Alta	0	Media
39	Artigas	Baja	Baja	0	Media	0	Baja
40	Paysandú	Media	Baja	0	Media	0	Media
41	Tacuarembó	Media	Baja	Baja	Baja	0	Baja
42	Salto	Media	Baja	Baja	Baja	0	Baja
43	Tacuarembó	Baja	Baja	0	Baja	0	Baja
44	Salto	Media	0	Baja	Media	Baja	Baja
45	Rivera	Baja	Baja	0	Baja	Baja	Baja
46	Tacuarembó	Media	Baja	Alta	Baja	0	Media
47	Tacuarembó	Baja	0	Baja	Baja	Baja	Baja

Nº Pob = número de población

Tabla. 6. Resultados agrupados por grupo químico y principio activo de la prueba de resistencia de las 47 poblaciones analizadas

Grupo Químico	Principio Activo	N° Poblaciones con resistencia			N° Poblaciones sensibles
		Alta	Media	Baja	
Piretroides Sintéticos	Cipermetrina	15	16	15	1
	Flumetrina	15	10	20	1
Organofosforados	Ethión	0	5	26	16
Amidinas	Amitraz	1	2	15	29
Fenilpirazoles	Fipronil	2	6	21	18
Lactonas Macroclínicas	Ivermectina	0	0	15	32

dos, 29 (64,4 % de las 45) informaron que tenían ingreso de animales con garrapata. Este ingreso se daba a través de alambrados desde predios linderos o desde caminos rurales en 24 predios (82,8 % de los 29 establecimientos que informaron de ingreso de animales), por compra de animales en cinco predios (17,2 % de los 29 establecimientos que informaron de ingreso de animales) y por traslado de ganado entre establecimientos de un mismo productor en dos predios (6,9 % de los 29 establecimientos que informaron de ingreso de animales). Se destaca el predio correspondiente a la población 45 que tiene registrado ingreso de animales por las tres causas. También el predio correspondiente a la población 20 que era un predio libre de garrapatas y debido al ingreso de un animal, desde un camino rural, ingresó *R. microplus* resistente a piretroides y ethion.

Por otro lado, cuatro de estos 45 establecimientos (8,9 % de los 45 establecimientos cuyas poblaciones fueron diagnosticadas resistentes a principios activos que no habían sido utilizados) correspondían a productores nuevos en el predio, que habían ingresado ganado recientemente al establecimiento y desconocían los antecedentes relacionados a *R. microplus*.

De las 45 poblaciones que presentaron resistencia a cipermetrina y flumetrina de forma simultánea se destaca que para 29 de

estas (64,6 %) no se había hecho uso de piretroides en sus establecimientos de origen. De las 16 que tenían antecedentes de haber hecho uso de piretroides solo uno (6,25 %) había hecho uso de ambos principios activos evaluados, las otras 15 aunque demostraron ser resistentes a ambos principios activos tenían antecedentes de uso de uno solo de los piretroides evaluados (cipermetrina o flumetrina).

En tres de los 17 establecimientos (17,6 %) cuyas poblaciones de *R. microplus* presentaron resistencia al ethion, sin haber hecho uso de este, habían utilizado otros organofosforados anteriormente.

Se destaca que para todas las poblaciones a las que se les detectó resistencia a ivermectina, se hizo uso de esta en sus predios de origen (de donde fueron muestreadas).

En cuanto a las sospechas de resistencia no todos los establecimientos presentaban sospecha de resistencia. De los establecimientos que presentaron sospecha de resistencia no todas lograron confirmarse mediante TPL como se puede observar en la tabla 8.

Tabla. 7. Total de poblaciones resistentes a los diferentes principios activos analizados y discriminadas según si habían hecho uso o no del principio activo para el que fueron diagnosticadas resistentes.

Principio activo	Total de poblaciones resistentes al principio activo	Poblaciones resistentes y con antecedentes de uso del principio activo	Poblaciones resistentes y sin antecedentes de uso del principio activo
Cipermetrina	46	14	32
Flumetrina	45	3	42
Ethión	31	4	27
Amitraz	18	9	9
Fipronil	29	21	8
Ivermectina	15	15	0

Tabla. 8. Poblaciones agrupadas según confirmación de sospecha de resistencia por principio activo.

Principio activo	Poblaciones con sospecha de resistencia confirmada	Poblaciones con sospecha de resistencia sin confirmar
Cipermetrina	7	1
Flumetrina	2	1
Ethión	2	2
Amitraz	5	4
Fipronil	16	9
Ivermectina	11	16

En relación a la información obtenida del número de tratamientos garrapaticidas realizados por año, se observó que ocho establecimientos realizaban de cero a cinco tratamientos por año, 30 predios realizaban de seis a 12 y nueve predios realizaban más de 12.

Discusión

Puede observarse que se presenta una situación compleja en torno a la resistencia evaluada en las 47 poblaciones analizadas, ya que existen grados variables de resistencia para los diferentes grupos químicos. Todas las poblaciones analizadas presentaron algún grado de resistencia al menos a uno de los grupos químicos analizados y hubo varias poblaciones que presentaron multirresistencia. Esto puede deberse a que desde hace más de 50 años que se comenzaron a usar acaricidas, comenzando por los organofosforados a fines de la década del 50. Desde entonces los mismos han evolucionado, se han creado moléculas nuevas las cuales se han ido usando con el correr del tiempo, generando resistencia en las distintas poblaciones según el uso que se les fue dando a las mismas, teniendo en cuenta frecuencia y modo de uso (Cuore, 2016). Por otro lado, es importante tener en cuenta que los establecimientos que se utilizaron para este trabajo fueron de productores que se ofrecieron de forma voluntaria, probablemente porque habían detectado dificultades en el manejo de esta parasitosis, posiblemente debida a sospechas de resistencia a algún acaricida.

La cipermetrina y la flumetrina presentaron una distribución similar en cuanto al número de poblaciones resistentes y el grado de resistencia que estas presentan. Ambos principios activos pertenecen al mismo grupo químico, los piretroides, lo cual puede explicar esta situación como un caso de resistencia cruzada. La resistencia cruzada se da debido a que dos principios activos presentan un mecanismo de resistencia similar, por lo cual la generación de resistencia a uno de ellos lleva a la resistencia del otro (Roush, 1993). Esto también podría explicar los resultados obtenidos en cuanto a antecedentes de uso de cipermetrina y flumetrina y los correspondientes resultados de resistencia. Ya que hubo 15 poblaciones que fueron resistentes a ambos principios activos pero que en sus predios de origen solo se había utilizado uno de ellos. También tanto la cipermetrina como la flumetrina, fueron los principios activos que presentaron más poblaciones con un grado de resistencia alto y una única población susceptible. Todo indicaría que hay una resistencia generalizada a este grupo químico que puede explicarse por la resistencia cruzada pero también porque los mismos fueron utilizados ampliamente para el control de la garrapata *R. microplus*. Este grupo químico tuvo un gran uso desde su surgimiento, liderando el mercado principalmente debido a razones comerciales, hasta que comenzaron a surgir los primeros problemas e resistencia (Cardozo, 2007), dándose el primer diagnóstico oficial de resistencia a los piretroides en 1994 (Cardozo y Franchi, 1994). También hay que considerar que los piretroides se utilizan para el control de otras parasitosis como la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) pudiendo afectar de esta manera la susceptibilidad de las garrapatas a estos químicos (Nari, 2011). También son utilizados para

el control de plagas en la agricultura, y este uso podría tener un efecto indirecto en *R. microplus* (Inglesfield, 1989; del Puerto y col, 2014; Pazos, 2008).

En otro caso que podría tratarse de resistencia cruzada sería en el caso de ethion, ya que si bien se observó resistencia a este principio activo en poblaciones donde no se había hecho uso del mismo en sus predios de origen, en tres casos se habían utilizado otros organofosforados históricamente.

Por otro lado, se observa que hubo varias poblaciones que presentaron resistencia a grupos químicos que nunca han sido utilizados en el establecimiento de donde fueron muestreadas. Hay que tener en cuenta que existen productores que han ingresado ganado a los establecimientos desconociendo los antecedentes en cuanto al uso de acaricidas. Otro factor a considerar son los movimientos de animales, principalmente ingreso de animales desde la calle, predios linderos u otros establecimientos. Muchas veces estos animales ingresan con garrapatas de otro origen que incluso presentan resistencia a acaricidas que no se han utilizado en el establecimiento de destino. Esto lleva a una modificación en el perfil de resistencia de la población actual basado en que la capacidad de resistencia se transmite genéticamente a la descendencia (Alonso-Díaz y col, 2006). Hubo un claro ejemplo de esto que fue un establecimiento de engorde al cual ingresaron animales de distintos establecimientos con garrapata, con distintos perfiles de resistencia a los diferentes grupos químicos. De esta manera se están generando cambios continuamente en la genética de la población de garrapatas que se mantiene en el establecimiento 21 explicando porqué es que puede haber poblaciones que presenten perfiles de resistencia a determinados acaricidas a los que nunca antes habían sido enfrentadas. Un caso extremo fue un establecimiento que era un predio libre de garrapata y debido al ingreso de un animal con *R. microplus* resistente a piretroides y ethion, desde un camino vecinal, ingresó esta parasitosis al establecimiento e incluso con una agravante, la resistencia.

En cuanto a los resultados obtenidos para ivermectina, se puede observar que se obtuvo un bajo número de poblaciones resistentes a este principio activo siendo la resistencia diagnosticada como baja. Debemos tener en cuenta que la técnica utilizada para estudiar este acaricida no es la más sensible (Castro-Janer *et al.*, 2012), sin embargo, nos permite determinar poblaciones con un grado avanzado de resistencia.

Algunos productores manifestaron sospecha de resistencia, la cual no fue confirmada. Esto puede deberse al mal cálculo de dosis o concentración del acaricida para el tratamiento de los animales (Nari *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 1999). También puede explicarse por el desconocimiento de que factores climáticos como la irradiación solar, las lluvias inmediatamente posteriores al tratamiento (Cuore *et al.*, 2008) y las altas temperaturas (que pueden descomponer el producto) (FAO, 1996) podrían estar llevando a una subdosificación de los animales tratados. También el desconocimiento del modo de uso del producto y de su acción, pueden llevar a falsas sospechas de resistencia (Cu-

re, 2006). A modo de ejemplo, en ocasiones se espera observar un efecto de volteo utilizando productos que no lo tienen. Para aquellos acaricidas de acción sistémica es importante resaltar que su efecto puede variar ampliamente entre animales según su peso, condición corporal y estado fisiológico (Schmid *et al.*, 1994) así como entre formulaciones (Cuore, 2016). Todos estos factores, que pueden generar una sospecha de resistencia cuando no la hay, fortalecen la necesidad de realizar pruebas de resistencia a las garrapatas y así conocer el perfil de resistencia de la población a tratar y poder diseñar un correcto programa de control o erradicación de este parásito.

Un dato importante es el número de tratamientos al año utilizados por los productores; 30 trataban de seis a 12 veces al año y nueve más de 12 veces. La frecuencia de tratamientos es uno de los principales factores para el desarrollo de resistencia (Denholm y Rowland, 1992; Nari y col, 2003). En Uruguay para el control de la garrapata utilizando el tratamiento generacional se recomiendan cinco o seis tratamientos por año (Cuore *et al.*, 2009); por lo tanto, hay un número excesivo de tratamientos en los establecimientos estudiados. Esto puede ser debido a la presencia de resistencia y, consecuentemente, menor eficacia de los acaricidas o al desconocimiento de la correcta forma de uso y actuación de los acaricidas. Para esto es recomendable realizar pruebas de resistencia a las garrapatas para determinar las drogas a ser utilizadas y aplicar el tratamiento generacional (Cuore *et al.*, 2009) de acuerdo a los resultados de las pruebas de resistencia.

Resultados informados por el Departamento de Parasitología de la DILAVE Montevideo y presentados en el 9 de Marzo del 2020 (CONAHSA, 2020) pueden observarse en la tabla 9 junto con los obtenidos por este estudio.

Los resultados observados de la DILAVE en esta son para 242 poblaciones analizadas en período de 2015 a 2019. El análisis de estos resultados por el Departamento de Parasitología de la DILAVE indica que el 16,1 % de las 242 poblaciones analizadas fueron resistentes a un grupo químico (comunicación personal), mientras que en este estudio se observó que estas correspondían al 8,5 % de las poblaciones analizadas. El 24,8 % de las poblaciones analizadas por la DILAVE demostró tener resistencia a

dos grupos químicos de forma simultánea (comunicación personal), mientras que para este estudio fueron el 23,4 %. El 26 % de las poblaciones analizadas por la DILAVE tuvieron resistencia a tres grupos químicos de forma simultánea (comunicación personal), mientras que en este estudio fue el 36,2 %, así como el 21,1 % de las poblaciones analizadas por la DILAVE fueron resistentes a cuatro grupos químicos de forma simultánea (comunicación personal), mientras que en este estudio fueron el 31,9 % de las poblaciones. En este estudio no se observaron poblaciones que fueran ni susceptibles ni resistentes a todos grupos químicos analizados de forma simultánea. Sin embargo, de las 242 poblaciones analizadas por la DILAVE Montevideo el 5,4 % fueron totalmente susceptibles, así como el 6,6 % fueron resistentes a los cinco grupos químicos (comunicación personal). Todas estas diferencias observadas pueden deberse a que la cantidad de poblaciones muestreadas son diferentes (242 DILAVE, 47 en este estudio) así como los períodos durante los cuales se obtuvieron las muestras (2015 a 2019 DILAVE, 2017 a 2018 este estudio). A su vez hay que destacar que los muestreos en ambos casos fueron no probabilísticos ya que las muestras se obtienen de forma voluntaria. De cualquier manera, en ambos casos la información muestra que el grupo químico que presentó mayores poblaciones con resistencia fue el de los piretroides y el que presentó menores poblaciones con resistencia fue el de las lactonas macrocíclicas.

En Brasil también se ha diagnosticado resistencia a estos 5 grupos químicos. Puntualmente Lovis *et al.* (2013) analizan 17 poblaciones muestreadas de cinco estados de Brasil; São Paulo (7), Rio Grande do Sul (4), Mato Grosso do Sul (4), Paraná (1) y Espírito Santo (1). En este trabajo determinan que el 94 % de las poblaciones (16) fueron resistentes a piretroides. Para organofosforados testean dos principios activos diferentes observando un 82 % de las poblaciones (14) resistentes a cumafos y un 65 % (11) resistentes al clorpirifos, observándose cinco poblaciones resistentes a ambos organofosforados simultáneamente. Describe también que el 88 % de las poblaciones (15) fueron resistentes a las amidinas. El 65 % (11) fueron resistentes a fenilpirazoles, donde todas ellas fueron resistentes al fipronil y ocho fueron resistentes al piriproil. Solo el 5,9 % de las poblaciones (1) fue

Tabla. 9. Porcentaje de resistencia obtenido por la DILAVE y en el presente estudio para los diferentes grupos químicos.

Principio activo		Sensible (%)	Resistente (%)
Organofosforados	DILAVE	50	50
	Estudio	34	66
Piretroides Sintéticos	DILAVE	9,1	90,9
	Estudio	2,1	97,9
Amidinas	DILAVE	53,3	46,7
	Estudio	61,7	38,3
Fenilpirazoles	DILAVE	46,7	53,3
	Estudio	38,3	61,7
Lactonas Macrocíclicas	DILAVE	71,1	28,9
	Estudio	66,5	33,5

resistente a lactonas macrocíclicas.

En otro trabajo, Klafkle *et al.* (2017) analizan 104 poblaciones de Brasil encontrando que 98,08 % era resistente a piretroides, el 76,92 % a amidinas, el 60,58 % a organofosforados, 53,85 % a fenilpirazoles y el 60,58 % a lactonas macrocíclicas.

Los datos presentados por Lovis *et al.* (2013) como los informados en el presente estudio muestran que el menor porcentaje de poblaciones resistentes fue observado para lactonas macrocíclicas, lo cual puede deberse al tipo de test utilizado como se explica anteriormente.

Se destacan los piretroides por ser el grupo químico que presenta en los tres estudios (Klafkle *et al.*, 2017; Lovis *et al.*, 2013 y el presente estudio) el grupo químico con mayor número de poblaciones resistentes. Incluso en el trabajo de Klafkle *et al.* (2017), como en el presente trabajo, es el grupo químico que presenta mayor número de poblaciones con niveles altos de resistencia (58,65 %). Estos estudios reflejan una clara situación regional compleja en torno a la resistencia y en particular relacionada a los piretroides.

Conclusiones

Se puede concluir que existe una situación compleja de resistencia a los acaricidas, para los establecimientos cuyas poblaciones fueron analizadas. Esta se podría vincular al modo, frecuencia y tiempo de uso de estos acaricidas. Un factor que está influyendo directamente en esto es el ingreso de animales desde orígenes donde esta parasitosis está presente y agravada debido a la resistencia.

Existen diversos factores que pueden llevar a falsas sospechas de resistencia. Por lo tanto, es prioridad hacer un buen uso de los acaricidas conociendo sus características.

Es así que se observa una situación en torno a la resistencia compleja que exige el más correcto de los manejos para ser controlada, haciendo uso de las diferentes herramientas de las que disponemos como por ejemplo las pruebas de resistencia.

Conflictos de interés

Los autores declaran no presentar conflictos de interés.

Agradecimientos

Se agradece al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria quien apoyo financieramente al proyecto. También a todo el equipo de Parasitología de la División de Laboratorios Veterinarios por la colaboración técnica y en la realización de las pruebas de laboratorio. También se agradece a la División de Laboratorios Veterinarios por prestar sus instalaciones y la cepa mozo para realizar el estudio. Por último se agradece a la Dra. Cecilia Miraballes, al Tec. Agr. Gonzalo Escayola, al Lic. Guillermo de

Souza, al Dr. Ernesto Lemos, a los Ing. Enrique Trujillo y Rocío Hernández y a la Dra. Camila Granha el haber colaborado con el muestreo de campo y en el trabajo de laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Alonso-Díaz, M. A., Rodríguez-Vivas, R.I., Fragoso-Sánchez, H., y Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 38(2), 105-113.
- Amaral, N. K. (1993). Guidelines for the evaluation of ixodicidides against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2(2), 144-151.
- Cardozo, H., y Franchi, M. (1994). Epidemiología y Control de *Boophilus microplus*. En *Enfermedades parasitarias de importancia económica en Bovinos, Bases epidemiológicas para su prevención y control* (pp. 369-407). Montevideo: Hemisferio Sur.
- Castro- Janer, E., Schumaker, T.T.S., Klafke, G.M., Rifran, L., González, P., Niell, C.,... Miller, R.J. (2012). *Garrapata: Resistencia a fipronil e ivermectina en rodeos vacunos de Uruguay y Brasil*. Recuperado de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2830/1/18429230712114518.pdf>
- CONAHS (2016). Acta CONAHS Extraordinaria 22 de abril de 2016. Recuperado de <http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/acta-reunion-extraordinaria-22-04.pdf>.
- CONAHS (2020). Acta CONAHS N° 256 del 09 de marzo del 2020. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/informacion-de-gestion/actas/acta-2562020>
- Conway, G.R., y Comins, H.N. (1979). Resistance to pesticides. 2. Lessons in strategy from mathematical models. *Span*, 22(2), 53-55.
- Cuore, U. (2006). Resistencia a los acaricidas, manejo y perspectivas. En *XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría* (pp. 30-35). Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.,
- Cuore, U. (2016). Estado de la resistencia a los Garrapaticidas en Uruguay. *XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría* (pp. 111-120). Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.
- Cuore, U., Altuna, M., Cicero, L., Fernandez, F., Luengo, L., Mendoza, R., ... Trelles, A. (2012). Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multiresistente de *Rhipicephalus microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 48(187), 1-9.
- Cuore, U., Cardozo, H., Trelles, A., Nari, A., y Solari, M. A. (2008). Características de los garrapaticidas utilizados en Uruguay. Eficacia y poder residual. *Veterinaria (Montevideo)*, 43(169), 13-24.

- Cuore, U., y Solari, M. A. (2013). Poblaciones multirresistentes de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 50(193), 4-13.
- Cuore, U., Solari, M. A., Císero, L., Gayo, V., Nari, A., y Trelles, A. (2009). Tratamiento generacional de la garrapata. Recuperado de http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/1804_20_tratamiento_generacional_de_la_garrapata.pdf.
- Cuore, U., Solari, M. A., y Trelles, A. (2017). Situación de la resistencia y primer diagnóstico de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a cinco principios activos en forma simultánea en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 53(205), 13-19.
- Cuore, U., Trelles, A., Sanchís, J., Gayo, V., y Solari, M.A. (2007). Primer diagnóstico de resistencia al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. *Veterinaria (Montevideo)*, 42(165), 35-41.
- del Puerto, A.M., Suárez Tramayo, S., y Palacio Estrada, D.E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Denholm, I., y Rowland, M.W. (1992). Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: Theory and Practice. *Annual Review of Entomology*, 37, 91-112.
- FAO. (1996). *Colección Fao: Eliminación de Plaguicidas. Manual sobre el almacenamiento y el control de existencias de plaguicidas*. Roma: AGPP- FAO.
- FAO. (2004). *Guidelines resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants*. Roma: FAO.
- Inglesfield, C. (1989). Pyrethroids and terrestrial non target organisms. *Pesticide Science*, 27, 387-428.
- Klafkle, G., Webster, A., Dall Agnol, B., Pradel, E., Silva, J., de La Canal, L.H.,...Martins, J.R. (2017). Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8(1), 73 – 80.
- Lovis, L., Mendes, M. C., Perret, J. L., Martins, J. R., Bouvier, J., Betschart, B., y Sager, H., (2013). Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Veterinary Parasitology*, 191(3-4), 323–331.
- Miller, R.J., Davey, R.B., White, W.H., y George, J.E. (2007). A comparison of three bioassay techniques to determine amitraz susceptibility in *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 44(2), 283-294.
- Nari, A. (2011). Metodología y resultados del control integrado de parásitos en sistemas mixtos en producción. En *XV Congreso Latinoamericano de Buiatría. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría* (pp. 1-24). Paysandú, Centro Médico Veterinario de Paysandú.
- Nari, A., Cardozo, H., y Petraccia, C. (1982). Resistencia de *Boophilus microplus* a los acaricidas organofosforados en el Uruguay. En *3º Congreso Nacional de Veterinaria* (pp. 407-427). Montevideo: Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay.
- Nari, A., Eddi, C., Martins, J., y Benavides, E. (2003). *Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina*. Roma: FAO.
- Pazos, F. (2008). *Mucho más que glifosato. Soja transgénica y su paquete asociado de agrotóxicos. Red de Acción en plaguicidas y sus alternativas para América Latina*. Recuperado de http://www.rapaluguay.org/agrotoxicos/Agrotoxicos_Asociados_Soja.pdf
- Petraccia, C., Cardozo, H., Nari, A., y Solari, M.A. (1983). Estudios de resistencia a garrapaticidas organofosforados (OF) en *Boophilus microplus*. *Veterinaria (Montevideo)*, 19, 5-9.
- Roush, R.T. (1993). Occurrence, Genetics and Management of Insecticide Resistance. *Parasitology Today*, 9(5), 174-179.
- Schillhorn van Veen, T. W. (1997). Sense or nonsense? Traditional methods of animal parasitic disease control. *Parasitology Today*, 71(2-3), 177-194.
- Schmid, H., Oechslein, W., Hess, E., Kobel, W., y Mayer, W. (1994). *Technical Summary for Registration. Acatac Pour-On Tick Development Inhibitor*. Basilea: CI-BA-GEIGY.
- Smith, G., Grenfell, B.T., Isham, V., y Cornell, S. (1999). Anthelmintic resistance revisited: under-dosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities. *International Journal for Parasitology*, 29(1), 77-91.
- Stone, B.F., y Haydock, K.P. (1962). A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, 53(3), 563-578.

Nota de contribución

1. Responsable Intelectual de la totalidad (100 %) de la investigación que fundamenta este estudio. 2. Adquisición de datos. 3. Análisis de datos. 4. Discusión de resultados. 5. Redacción del manuscrito. 6. Aprobación de la versión final del manuscrito.

Tatiana Saporiti ha contribuido en 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Santiago Losiewicz ha contribuido en 2, 4, y 6. Alfredo Trelles ha contribuido en 2, 4, y 6. Cecilia Miraballes 2, 4, 5, y 6. Franklin Riet- Correa 1, 3, 4, 5 y 6. Ulises Cuore ha contribuido en 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

El editor Cecilia Cajarville aprobó este artículo.