



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Programa de Posgrados

**TÍTULO: ESTUDIO TRANSVERSAL DE LA GARRAPATA COMÚN
DEL BOVINO (*RHIPICEPHALUS MICROPLUS*) Y LA TRISTEZA
PARASITARIA BOVINA EN URUGUAY.**

AUTOR: MV. Virginia Aráoz

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

**URUGUAY
2019**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**TÍTULO: ESTUDIO TRANSVERSAL DE LA GARRAPATA COMÚN
DEL BOVINO (*RHIPICEPHALUS MICROPLUS*) Y LA TRISTEZA
PARASITARIA BOVINA EN URUGUAY.**

AUTOR: MV. Virginia Aráoz

Andrés Gil; DMV, PhD

Director de Tesis

2019

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL
DE DEFENSA DE TESIS**

Elinor Castro; DMV, PhD

Departamento Parasitología, Facultad de Veterinaria

Universidad de la Republica - Uruguay

José Manuel Venzal; DMV, PhD

Laboratorio de vectores y enfermedades transmitidas, CENUR, Litoral Norte,
Salto

Universidad de la Republica - Uruguay

Federico Fernández; DMV, MSc

DILAVE “Miguel C. Rubino”

MGAP - Uruguay

2019

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se la dedico especialmente a Fede, por ser mi gran compañero, consejero y por hacerme muy feliz. Por todo el apoyo que me dio en estos años tanto en lo personal como en lo profesional. También a mi familia, que aunque lejos, siempre están presentes acompañando mis pasos.

Muy especialmente le agradezco a mi orientador Andrés Gil por la gran paciencia, predisposición y calma para solucionar cualquier duda. Andrés participo en el diseño del muestreo, por lo que su punto de vista fue de gran ayuda para analizar y entender los resultados obtenidos.

Hago un muy particular agradecimiento a María Angélica Solari, por su gran apoyo en las técnicas de laboratorio, además de su mirada crítica y sus consejos como experta en la temática. Agrego que el trabajo serológico no hubiera sido posible de no contar con la ayuda y la predisposición de todos los miembros del laboratorio de parasitología de la DILAVE “Miguel C. Rubino” en Montevideo, en especial Fabián, “Piojo”, Ulises, “Pilo”, Diana, María Laura y Valeria.

La encuesta y muestreo fueron realizados por funcionarios de la dirección de servicios ganaderos del MGAP de Uruguay de todos los departamentos, a quienes no puedo nombrar uno a uno pero agradezco personalmente por su trabajo.

Le agradezco al instituto nacional de investigación agropecuaria (INIA), por el financiamiento de este proyecto y a todo el equipo de la Estanzuela que hacen de la experimental un lugar muy lindo para trabajar. Particularmente mencionar al equipo de la PSA de INIA por el compañerismo y todo el aprendizaje en estos dos años de trabajo. Especialmente a Anderson por su ayuda en el laboratorio de parasitología y en la elaboración de mapas, a Martín y Cecilia que me abrieron las puertas de microbiología, a Yisell por su constante buena predisposición en histología, a Franklin y Cecilia por su mirada crítica y apoyo desde Tacuarembó y a todos los estudiantes de la PSA por las enseñanzas diarias y la amistad (Darío, Caroline, Melissa, Laura, Anita, Ricardo, Benjamín, Cecilia, Bernardo, Victoria, Tatiana, Pablo y el Colo).

No puedo dejar de mencionar a Javier Sanchez por la ayuda en los primeros análisis descriptivos de la encuesta y a Luis Corbellini por su apoyo en estadística. Por último, agradecer a Leonidas Carrasco (INIA) y Gabriel Mautone (MGAP), por la ayuda en la elaboración de los mapas.

ACTA DE DEFENSA DE TESIS

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS	1
RESUMEN	3
SUMMARY	4
ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	5
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	7
INTRODUCCIÓN.....	9
Características geográficas y productivas del país.....	9
El problema de la garrapata	9
Impacto de las enfermedades transmitidas por garrapata	11
Otros parásitos que afectan la producción bovina en Uruguay.....	13
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	15
Hipótesis	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Diseño experimental	16
Muestreo	16
Análisis de laboratorio (serología).....	17
Análisis de datos	17
Manejo de datos	17
Análisis descriptivo y estadístico	18
RESULTADOS	21
Características de la población en estudio	21
Análisis descriptivo de las variables de la encuesta	22

Garrapatas y grado de infestación	22
Tratamiento con acaricidas.....	24
Enfermedades Transmitidas por garrapatas, diagnóstico y prevención	27
Sobre otros parásitos	28
Estimación de seroprevalencia de hematozoarios, a nivel individual y predial en Uruguay, 2016	31
Características de la muestra	31
Seroprevalencia de hematozoarios a nivel individual	32
Prevalencia predial de hematozoarios	35
Análisis de variables asociadas a la presencia de garrapatas y seroprevalencia predial... 38	
Resultados del análisis	38
DISCUSIÓN.....	41
Garrapatas y grado de infestación.....	41
Tratamiento con acaricidas	42
Enfermedades Transmitidas por garrapatas, diagnóstico y prevención.....	45
Sobre otros parásitos.....	46
Seroprevalencia individual y predial	47
Asociación de variables a la presencia de garrapatas y seroprevalencia de hematozoarios	51
CONCLUSIONES.....	53
FINANCIACIÓN DEL PROYECTO	54
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	55

RESUMEN

La garrapata común del bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) es una de las principales parasitosis que afectan al ganado vacuno en Uruguay. Se estiman pérdidas económicas de 32,8 millones de dólares anuales, considerando pérdidas en cueros, tratamientos, campañas de control y por enfermedades transmitidas (babesiosis y anaplasmosis). En el país existe información sobre la biología de la garrapata y programas de control planteados hace algunas décadas, pero la información no está actualizada sobre la distribución, las medidas de manejo y grado de adopción de tecnologías disponibles para el control por parte de los productores. Se cuenta con información sobre la situación de la tristeza parasitaria bovina (TP) en algunas regiones, pero se estima que la distribución geográfica puede estar cambiando. En colaboración con el ministerio de ganadería agricultura y pesca (MGAP), se realizó una encuesta en 656 establecimientos ganaderos de carne y leche seleccionados aleatoriamente, para evaluar la situación de la garrapata y hematozoarios. Se tomaron muestras de sangre, y se analizaron 12.952 sueros de bovinos adultos de 516 establecimientos muestreados. Se utilizaron las técnicas de Inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* y “Card test” para detección de anticuerpos de *Anaplasma* spp. El análisis estadístico se desarrolló en tres etapas: descripción de las variables de la encuesta, estimación de la sero-prevalencia individual y predial para los tres hematozoarios y análisis de variables asociadas a establecimientos positivos a hematozoarios. Resultados de la encuesta señalan que 38,1% de los establecimientos dicen haber tenido garrapatas en los últimos 5 años. Las formas de aplicación de productos acaricidas más empleadas son la inyectable y “pour-on”, en concordancia con los compuestos activos predominantes que son las lactonas macrocíclicas y el fipronil, solos o alternado. El 21 % de los productores en zona de lucha de garrapata, dicen utilizar el tratamiento generacional y el 7,2% la hemovacuna profiláctica para TP. Los resultados de serología, arrojaron seroprevalencias individuales de 5% para *B. bovis*, 31,8 % para *B. bigemina* y 9,3% para *Anaplasma* spp.. A nivel predial la prevalencia de hematozoarios fue de 26,8%, 63,7% y 46,2% para los agentes mencionados, respectivamente. De lo expuesto se concluye que las estrategias para el control y tratamiento de garrapatas no son claras entre los productores y el grado de adopción y conocimiento de tecnologías disponibles para el control de garrapatas y hematozoarios es bajo. En conjunto más del 60% de los establecimientos resulto positivo a alguno de los agentes, generando algún riesgo de brotes. La distribución de establecimientos con garrapatas y positivos a hematozoarios obedece los límites descritos para zonas de control (ZC) y libres (ZL) de garrapatas, con ocasionales casos en ZL. Es necesario seguir trabajando en la difusión de estrategias de control y prevención de estas enfermedades parasitarias.

SUMMARY

Bovine tick (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) is one of the main parasitic diseases affecting cattle in Uruguay. Economic losses are estimated in 32.8 million dollars per year, considering leather losses, treatments, control campaigns and tick borne disease (babesiosis and anaplasmosis). There is information generated in the country about tick biology and control campaigns were establish some decades ago, but information about tick distribution, management measures and level of adoption of technologies available for control by producers, is not updated. Some information is available about the situation of tick fever (TP) in some regions in Uruguay, but this distribution could be changing. In collaboration with the livestock, agriculture and fisheries ministry (MGAP), a survey was carried out in 656 randomly selected meat and milk farms, to evaluate the situation of the tick and hematozoa. Blood samples were also taken and 12,952 sera samples of adult cattle from 516 farms were analyzed. Indirect immunofluorescence technique was performed for the detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* antibodies and "Card test" for the detection of *Anaplasma* sp. antibodies. The statistical analysis was performed in three stages: description of variables, estimation of individual and herd prevalence for the three hematozoa and analysis of variables associated with positive herds to hematozoa. Results of the survey indicate that 38.1% of the farms claim to have had ticks in the last 5 years. The way of application of acaricide products most commonly used were injectable and pour-on, in agreement with the main chemical compounds used, which are the macrocyclic lactones and fipronil, alone or rotated. In the tick-fighting area, 21% of the farmers say they use strategic generational treatment and 7.2% the vaccine against tick fever. Serological results, showed individual prevalence of 5% for *B. bovis*, 31.8% for *B. bigemina* and 9.3% for *Anaplasma* sp.. At herd level, the prevalence of hematozoa was 26.8%, 63.7% and 46.2% for mentioned agents respectively. From these results we conclude that control strategies between farmers are not clear and there is relatively low level of adoption of available technologies for strategic control of ticks and tick fever. Overall, more than 60% of the establishments were positive to one of the agents, with some risk of outbreaks. The distribution of herds with ticks and positive to hematozoa was very similar to that described for the fighting area (ZC) and free of ticks area (ZL), with occasional cases in ZL. It is necessary continue working in the diffusion of strategic control and prevention of these parasitic diseases.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

‰: porcentaje

CAT: Card agglutination test

CIP: Control integrado de parásitos

DICOSE: Dirección de Contralor de Semovientes

DGSG: Dirección General de Servicios Ganaderos

DILAVE: Dirección de Laboratorios Veterinarios

est: establecimientos, predios

et al.: *et alii* y otros

Frec.Ab: Frecuencia absoluta

Frec.Re: Frecuencia relativa

F: presencia de factor

G1-G2-G3: primera, segunda y tercera generación de garrapatas

Herd-Se: Sensibilidad del rodeo

Herd-Sp: Especificidad del rodeo

has: hectáreas

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%.

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta

LM: Lactonas Macroíclicas

MGAP: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca de Uruguay

ml: mililitro

μl: microlitro

Nº: número

NGI: Nematodos gastro-intestinales

PSUs: Primary sample units

rpm: revoluciones por minuto

SNIG: Sistema Nacional de Información Ganadera

Se: Sensibilidad

Sp: Especificidad

Sup.: superficie

“Svy”: *survey data STATA*, análisis de datos de encuestas de STATA

T°: temperatura

TG: Tratamiento generacional

TP: Tristeza parasitaria

U\$: Dólares estadounidenses

Vet.: veterinario

ZL: Zona libre de garrapatas

ZC: Zona control o lucha de garrapatas

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I: Número de establecimientos seleccionados por estrato, con superficie total y porcentaje promedio destinado a ganadería.

Cuadro II: Establecimientos seleccionados por Departamento.

Cuadro III: Presencia de garrapatas en los últimos 5 años en Uruguay (2016).

Cuadro IV: Grado de infestación por garrapatas, Uruguay (2016).

Cuadro V: Formas de aplicación de productos acaricidas, frecuencias y porcentaje en Uruguay (2016).

Cuadro VI: Porcentaje de utilización en forma única o alternada de los diferentes principios activos disponibles en Uruguay (2016).

Cuadro VII: Porcentaje de conocimiento y utilización del tratamiento generacional por zona vinculada a la garrapata, Uruguay (2016).

Cuadro VIII: Conocimiento y utilización de la vacuna para prevención de TP por zona vinculada a la garrapata, Uruguay (2016).

Cuadro IX: Orden de importancia asignada porcentualmente a cinco parasitosis con impacto en la producción bovina de Uruguay (2016).

Cuadro X: Frecuencia y porcentaje de establecimientos que tratan para endoparásitos por categorías de animales, Uruguay (2016).

Cuadro XI: Frecuencias y porcentajes de utilización de principios activos disponibles en Uruguay para el control de mosca de los cuernos (2016).

Cuadro XII: Número de establecimientos, sueros totales y muestra media evaluadas por establecimiento en los diferentes departamentos de Uruguay (2016).

Cuadro XIII: Seroprevalencia individual aparente de hematozoarios por zona (ZL y ZC) vinculada a garrapata en Uruguay (2016).

Cuadro XIV: Seroprevalencia individual por estrato bovino, Uruguay (2016).

Cuadro XV: Sensibilidad y Especificidad del rodeo.

Cuadro XVI: Prevalencia predial por zona de garrapata, Uruguay (2016).

Cuadro XVII: Frecuencia absoluta y prevalencia de establecimientos positivos a cada hematozoario por departamentos de Uruguay (2016).

Cuadro XVIII: Porcentaje de establecimientos positivos a hematozoarios por estrato bovino, Uruguay (2016).

Cuadro XIX: Odds Ratio, establecimientos positivos en zona de control de garrapata, Uruguay (2016).

Cuadro XX: Regresión logística, efecto de la región sobre establecimientos positivos a cada hematozoario, Uruguay (2016).

Cuadro XXI: Efecto de utilización del tratamiento generacional sobre resultar establecimientos positivos a hematozoarios, Uruguay (2016).

Cuadro XXII: Efectos del asesoramiento veterinario sobre establecimientos positivos a hematozoarios (regresión logística), Uruguay (2016).

Figura 1: Mapa de Uruguay, detalle de regiones y zonas vinculadas a la garrapata.

Figura 2: Distribución de respuestas sobre la presencia de garrapatas en los últimos 5 años, por departamentos y secciones policiales de Uruguay (2016).

Figura 3: Frecuencia de brotes de tristeza parasitaria en establecimientos según estación del año, Uruguay (2016).

Figura 4: Orden de importancia porcentual de cinco parasitosis discriminadas por zona libre (ZL) y zona de control (ZC) de garrapatas, Uruguay (2016).

Figura 5: Formas de aplicación de compuestos empleados para el control de mosca de los cuernos, Uruguay (2016).

Figura 6: Criterio de aplicación de tratamiento para las moscas de los cuernos, por giro ganadería (A) y lechería (B), Uruguay (2016).

Figura 7: Rango de seroprevalencia media de *Babesia bovis*, por sección policial en Uruguay (2016).

Figura 8: Rango de seroprevalencia media de *Babesia bigemina*, por sección policial en Uruguay (2016).

Figura 9: Rango de seroprevalencia media de *Anaplasma* spp, por sección policial en Uruguay (2016).

INTRODUCCIÓN

Características geográficas y productivas del país

Uruguay se encuentra en el cono sur de América, entre los 30° y 35° latitud sur y los 53,5° y 58,5° longitud oeste (Brussa Santander & Grela Gonzalez, 2007) y cuenta con una superficie total de 176.215 km². Tiene un clima templado húmedo, con temperatura media de 17,5°C (www.meteorologia.com.uy), mientras que las isothermas medias varían de sureste a noreste con un mínimo de 16 °C sobre la costa atlántica en Rocha y máximo de 19 °C en Artigas. Las temperaturas medias de los meses más frescos van de 11 a 14°C entre el sureste y noreste. Puede considerarse que Uruguay tiene un clima lluvioso, sin estación seca, pero con alta variabilidad interanual (20-30%). La precipitación media anual es de 1.300 mm, las isoyetas aumentan del sureste al noroeste, con un mínimo de 1.100 en la faja costera que va desde Colonia hasta Maldonado y Rocha y máximo de 1.600 mm en Rivera (Brussa Santander & Grela Gonzalez, 2007). Las características climáticas y geográficas lo convierten en un país ganadero por excelencia, con predominio de producción cárnica en el norte y una importante cuenca lechera ubicada en el sur del país.

Cuenta con una población bovina que superó los 12,7 millones de animales en el año 2016, más del 75% de estos animales son mayores de un año, con 2,7 millones de terneros nacidos registrados (MGAP, 2016). Los biotipos bovinos predominantes son europeos (*Bos taurus*) con las razas Hereford y Aberdeen Angus (74%) de ganado cárnico, Holando (10%) en lechería (SNIG, 2016) y 16% de otras razas. Según dato de la declaración jurada 2016, se registraron más de 82 mil tenedores de animales, de los cuales 35.672 establecimientos tienen como principal rubro la ganadería de carne, 3.058 son lecherías y 104 establecimientos de engorde a corral (MGAP, 2016).

El problema de la garrapata

Los parásitos impactan negativamente en la producción bovina en sur de América y en el mundo (Fiel & Nari, 2013). Particularmente en Uruguay la garrapata común del bovino, *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae), es el ectoparásito que provoca mayores pérdidas económicas. Se estiman costos anuales de 32,8 millones de dólares por pérdidas productivas, gastos en tratamientos, campañas de control, daño en cueros y por los efectos de las enfermedades transmitidas (Avila, 1998). La mayor parte del territorio uruguayo se encuentra en zona de aptitud ecológica intermedia para el desarrollo de *R. microplus* (Nari, 1995; Solari et al., 2013), con déficit hídrico anual < 200-500 mm y 3-4 meses con T° media < 14,5°C (Mastropaolo, 2014a), que deriva en que la garrapata sólo pueda realizar entre 2 y 3 generaciones anuales, con variaciones entre las diferentes regiones principalmente en el número de garrapatas (Cuore et al., 2013a). Estas características medioambientales permiten pensar en estrategias de erradicación del parásito.

Hace más de un siglo en Uruguay se implementó un programa de lucha contra la garrapata, con una primera ley promulgada en 1910 (ley N° 3.606) y reformada en el año 1956 (ley N°12.293). Se establecieron zonas en saneamiento o libres comprendidas por diferentes departamentos, con restricciones de tránsito e ingreso de animales por puntos de control estratégicos y la estricta obligación por parte de cualquier tenedor de animales de comunicar a la Dirección de Sanidad Animal o la policía, la existencia o sospecha de garrapatas (MGAP, 2001). En una versión más actualizada de la ley (N°18.268), sancionada en 2008, se divide al país en zonas “libre” (ZL) y zona “de lucha o control” (ZC) según el riesgo epidemiológico de garrapata y enfermedades transmitidas (Errico et al. 2009). Esta ley tiene por cometido el control y/o erradicación del parásito dependiendo de la zona en la que se encuentra, y el monitoreo del tránsito de animales de una zona a la otra, para evitar su propagación.

En esta larga lucha contra la garrapata, la principal estrategia para el control y erradicación se centra en el monitoreo de tránsito de animales y la utilización estratégica de compuestos acaricidas. El conocimiento de los acaricidas y de los métodos de aplicación utilizados es indispensable para el correcto manejo de *R. microplus* (Guglielmone et al., 2007) y el mal uso de estos productos puede contaminar alimentos de origen bovino (Aguere, 2016) y acelerar la aparición de garrapatas resistentes a los acaricidas. En las últimas décadas en Uruguay se han reportado poblaciones de garrapatas resistentes a diferentes productos acaricidas (Cuore, 2006; Cuore & Solari, 2014; Cuore et al., 2015; Cuore et al., 2017; Iriarte et al., 2018). Se infiere que la actitud de muchos productores frente a este problema es cambiar el producto sin criterio técnico, asesorado principalmente por el comercio veterinario (Cuore et al., 2012; Miraballes & Riet-Correa, 2018).

El Laboratorio de Parasitología de la DILAVE “Miguel C. Rubino” en Montevideo, ha planteado un tratamiento estratégico, para el control y erradicación de la garrapata denominado “Tratamiento generacional” (TG). Este tipo de tratamiento se fundamenta en la biología del parásito, teniendo en cuenta la duración promedio del ciclo parasitario (21-23 días) y no parasitario (8-10 meses), los mecanismos de acción de los fármacos y la susceptibilidad de las poblaciones de garrapatas. Como ya se mencionó, todo el país presenta condiciones intermedias para el desarrollo de la garrapata, con un promedio de 2,5-3 generaciones anuales (G1- G2- G3). El TG propone el empleo de diferentes grupos químicos de compuestos acaricidas para el tratamiento de cada generación, respetando los períodos de residualidad de los compuestos activos y ciclo de la garrapata (Cuore et al., 2013a). De esta manera, se pretende combatir fuertemente las dos primeras generaciones (G1: agosto-octubre y G2: noviembre-enero), menos abundantes en número de garrapatas, y evitar o disminuir el pico otoñal de la última generación (G3: febrero- abril), que es el más abundante y responsable de las poblaciones reservorio en el campo (Cuore et al., 2013a). El TG ha sido ampliamente probado y su eficacia se ha documentado para el

control de poblaciones de garrapatas multiresistentes a compuestos químicos (Cuore et al., 2012).

Los productos acaricidas disponibles en el país se encuentran registrados y fiscalizados por el departamento de Zooterápicos de la División de Laboratorios Veterinarios del MGAP. Un listado con la totalidad de productos disponibles para el control de garrapatas, los laboratorio que los producen, la frecuencia de tratamiento recomendadas para la erradicación, dosis y tiempos de retiro en leche y carne se encuentra disponible online y es actualizada frecuentemente (Productos Veterinarios- DILAVE, 2018). Basados en este listado es posible agrupar los principios activos (químicos) disponibles en el país para el control de garrapatas en 6 grupos, lactonas-macroclínicas (LM), formamidinas, piretriodes, piretroides con organofosforados, fenilpirazol (fipronil) y benzoilurea (fluazurón). Estos compuestos están disponibles en diferentes presentaciones, concentraciones y formas de aplicación, proporcionando un amplio espectro terapéutico. También, se encuentran detallados el período de acción residual de cada producto y los tiempos de espera para el consumo de carne o leche. En el sur de América están escasamente documentados los compuestos activos y el modo de empleo a nivel de establecimientos para el control de garrapatas (Guglielmone et al., 2007) y no se cuenta con información actualizada de este tipo.

Impacto de las enfermedades transmitidas por garrapata

Probablemente el problema más importante vinculado a la presencia de garrapatas es su capacidad de ser transmisoras de múltiples agentes patógenos para los animales y el hombre. Las garrapatas son, después de los mosquitos, los artrópodos vectores de mayor cantidad de enfermedades infecciosas en el mundo (Nava et al., 2017). Las principales enfermedades transmitidas a bovinos por la garrapata *R. microplus* en Uruguay son la babesiosis y la anaplasmosis bovina (Venzal et al., 2003), denominadas regionalmente como complejo de tristeza parasitaria (TP).

La babesiosis bovina es una enfermedad parasitaria causada por los protozoarios *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (Phylum: Apicomplexa, Orden: Piroplasmida), parásitos intra-eritrocitarios obligados transmitidos exclusivamente por la garrapata común del bovino *R. microplus* en el centro y sur de América (Nava et al., 2017). Por su parte la anaplasmosis, cuyo agente es la rickettsia *Anaplasma marginale* (Orden: Rickettsiales, Familia Anaplasmataceae), es una enfermedad infecciosa no contagiosa, que puede ser transmitida por garrapatas u otros vectores como insectos hematófagos y de forma iatrogénica por instrumentos contaminados con sangre infectada (Aubry & Geale, 2011). Las dos enfermedades suelen agruparse como complejo por presentar similitudes en su presentación clínica y epidemiología. Los principales síntomas son la anemia de intensidad variable, acompañada por temperatura rectal elevada ($T^{\circ} > 41^{\circ}\text{C}$), ictericia y en casos de babesiosis hemoglobinuria, sintomatología neurológica y muerte súbita (Solari et al., 2013). Si bien

son muchas las similitudes en su presentación, estas enfermedades difieren en algunos aspectos de distribución, debido a que *Babesia* spp. se restringe al área de distribución de su hospedero definitivo la garrapata *R. microplus* (Guglielmone, 1995). Por el contrario, casos de anaplasmosis pueden ocurrir en áreas libres de garrapatas debido a que puede ser transmitida por otros vectores, en forma iatrogénica por instrumentos contaminados con sangre de animales infectados (Guglielmone et al., 1997) e incluso en forma transplacentaria (Lopo Costa et al., 2016), y no está totalmente claro el rol que cumple la garrapata en su transmisión. Otros aspectos como el período de incubación también difieren entre estas enfermedades, con períodos promedio de 7 y 14 días para *B. bovis* y *B. bigemina* respectivamente y 28 días (hasta 60 días) para *A. marginale*.

En Uruguay en los últimos años se han registrado casos de anaplasmosis vinculados a prácticas veterinarias, sin una correcta desinfección de instrumental (Cresci et al., 2018). También se comenzó a estudiar el rol de otros artrópodos como diseminadores de la enfermedad, aunque todavía no se cuenta con mucha información disponible a nivel local. En este sentido es sensato remarcar que los animales que se infectan con *A. marginale*, pueden o no desarrollar la enfermedad, pero suelen quedar como individuos portadores (Aubry & Geale, 2011). Estos animales portadores, representan una fuente de contagio de alto riesgo al ser trasladados a zonas con población de bovinos inmunológicamente vírgenes, que por medidas de manejo o insectos hematófagos pueden contraer la enfermedad.

Las pérdidas por animal producto de la TP en un establecimiento comercial en Uruguay se estimaron en U\$S 7,3 anuales (Solari et al., 2013). Un estudio de brotes de TP, con 400 casos registrados por tres laboratorios de la DILAVE desde 1980 hasta 2013, describe que el 49,3% fueron causados por *B. bovis*, mientras que 12,9% y 37,8% lo fueron para *B. bigemina* y *A. marginale*, respectivamente (Solari et al., 2013). La alta frecuencia de brotes puede ser explicada porque las condiciones ecológicas intermedias para el desarrollo de *R. microplus* (Nari, 1995), derivan en una baja tasa de inoculación de hemoparásitos en la categoría terneros (menores de 9 meses de vida), que son naturalmente menos propensos a enfermar de TP. Al no recibir un desafío suficiente de hematozoarios que garanticen inmunización natural en el primer año de vida, gran número de rodeos están en situación de inestabilidad enzoótica, donde menos del 75 % de los terneros de una generación presentan anticuerpos contra las babesias y anaplasma (Mahoney & Ross, 1972; Solari et al., 2013).

Estudios de seroprevalencia realizado por el MGAP (1979-1992) donde se evaluaron sueros de 169 establecimientos ubicados entre los paralelos 31° y 33,5° latitud sur (zona de lucha de garrapata), demostró un rango de dispersión (seroprevalencia predial) del 66% y 74% para *Babesia* spp. y *A. marginale*, respectivamente. En cuanto a la seroprevalencia individual y situación de estabilidad se analizaron 1.682 sueros, que resultaron en un 68% de establecimientos con seroprevalencia entre <1-19%, 29% con seroprevalencias entre 20-

79% (inestabilidad enzoótica) y 2,4% con seroprevalencias superiores al 80% (estabilidad enzoótica) (Solari et al., 2013).

Las técnicas de diagnóstico que se utilizan actualmente para la determinación de anticuerpos frente a los tres hematozoarios fueron adoptadas y validadas en el Laboratorio de Parasitología de la DILAVE “Miguel C. Rubino” hace ya algunas décadas. Se emplea la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para el diagnóstico de *B. bovis* y *B. bigemina* (IICA, 1987; OIE, 2014) y el test de coaglutinación en tarjeta (CAT) para *Anaplasma* spp. (IICA, 1987; OIE, 2015). Ambas técnicas están probadas para evaluar la presencia de anticuerpos en bovinos vacunados o expuestos naturalmente a los agentes, aunque presentan sus limitaciones referidas a sensibilidad (Se) y especificidad (Sp). Innumerables reportes utilizan otras técnicas, como el ELISA, para evaluar anticuerpos séricos frente a los hematozoarios, sin embargo, muy pocos kits se encuentran disponibles a nivel comercial o presentan costos muy elevados para estudios de gran escala. El empleo de técnicas automatizadas permite disminuir el error del operario y aumentan la capacidad de procesamiento.

Es posible prevenir la TP utilizando vacunas vivas atenuadas (de Waal & Combrink, 2006; Florin-Christensen et al., 2014; Solari, 2006). Estas vacunas puede incluir uno (univalente) o los tres agentes (polivalente) y se produce con cepas atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma centrale*, especie de anaplasma no patógena que genera inmunidad cruzada con *A. marginale*. Una única dosis de vacuna polivalente, aplicada en los primeros meses de vida del bovino (4-10 meses), genera una inmunidad efectiva de por vida (Mangold, 2018; Nari & Solari, 1990). El Servicio de pre-inmunización para la elaboración de vacunas, fue creado por decreto ley en 1941, y desde ese entonces es producida en la DILAVE "Miguel C. Rubino" y fue evolucionando y adaptándose a nuevas contingencias (Miraballes & Riet-Correa, 2018). Actualmente también la vacuna es elaborada por un laboratorio privado que la comercializa crio-preservada en nitrógeno líquido (Miraballes et al., 2018a). Se estima que el número de vacunas comercializadas en el 2017 osciló las 22000 dosis (Miraballes & Riet-Correa, 2018). Los motivos de la escasa utilización de vacunas se desconocen, aunque hipotéticamente se cree que algunas posibles causas serían los costos y la poca practicidad. Al tratarse de una vacuna viva, presenta un corto periodo de vencimiento-vigencia (3 días aprox.), requiere cadena de frío rigurosa (4-8°C), consideraciones especiales para su manipulación y el valor de la dosis es de aproximadamente 3 U\$S por animal. A esto se agrega que se desconoce el grado de conocimiento de esta vacuna por parte de los veterinarios y el grado de adopción por los productores.

Otros parásitos que afectan la producción bovina en Uruguay

El presente trabajo pone su foco en el control de la garrapata común del bovino y las enfermedades transmitidas, por ser los principales causales de pérdidas en el país (Avila, 1998), pero son numerosos los parásitos que impactan negativamente en la producción

bovina uruguaya (Fiel & Nari, 2013). Es así como el abordaje actualmente propuesto para el control de los parásitos se va tornando más integral, con conceptos como el control integrado de parásitos (CIP). Se propone un enfoque más holístico y sostenible donde se tiene en cuenta la seguridad e inocuidad de los alimentos de origen animal, impacto ambiental y sustentabilidad productiva (Solari et al., 2008; Nari, 2011; Fiel & Nari, 2013). Por este motivo se consideró oportuno explorar aspectos relacionados a otros parásitos y la importancia que asignan los productores a las parasitosis como problema en el campo.

Entre los parásitos que se consideran relevantes en la región incluimos a los nematodos gastrointestinales (NGI), que fueron señalados como los que producen mayor impacto económico en ganado bovino en Brasil (Grisi et al., 2014). La fascioliasis, producida por *Fasciola hepatica*, es considerada como una de las enfermedades parasitarias más importantes en los rumiantes, además de tener un impacto en la salud pública como enfermedad zoonótica emergente (Fiel & Nari, 2013; Bargues et al., 2017; Carmona & Tort, 2017). La mosca de los cuernos, *Haematobia irritans*, está ampliamente distribuída en el país y se están estudiando estrategias de control racional, para disminuir la aplicación de compuestos químicos (Castro et al., 2008; Miraballes et al., 2017; Miraballes et al., 2018b). Otra gran preocupación a nivel de campo es la presencia de miasis cutánea o “bichera”, producida por la mosca *Cochliomyia hominivorax*, representando un gran problema en animales neonatos, también asociadas a medidas de manejo y laceraciones de la piel por garrapatas. Este conocimiento empírico ha sido corroborado científicamente por algunos estudios en los que se demuestra que los bovinos con altas cargas de garrapatas tiene 4 veces más riesgo de sufrir bicheras (Reck et al., 2014). A esto se suma que un 75% de las miasis registradas se localizan en las zonas del animal consideradas como las más frecuentemente afectadas por garrapatas (zona perianal, ubre y base de la cola). Estas son algunas de las razones por las que se indagó sobre otros parásitos, intentando generar información sobre estrategias de control empleadas y relevancia a nivel de campo.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

La garrapata común del bovino y la TP representan un problema prioritario para Uruguay, sin embargo desconocemos el porcentaje de utilización por parte de los productores de tecnologías disponibles para el control y prevención de estos parásitos.

Basados en reportes previos, estimamos que la prevalencia predial de hematozoarios es inferior al 60% de los establecimientos.

Objetivo general

Estimar la distribución actual de la garrapata común del bovino y de la tristeza parasitaria en establecimientos de Uruguay y caracterizar el tipo de prácticas empleadas vinculadas a estos parásitos.

Objetivos específicos

- a. Estimar la seroprevalencia individual de *B. bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma* spp. en el país.
- b. Estimar la prevalencia predial (dispersión) para los tres hematozoarios.
- c. Evaluar si la distribución geográfica de la garrapata y la TP obedecen los límites descriptos en el año 2008 (Ley N°18.268).
- d. Evaluar el grado de adopción de tecnologías disponibles para el adecuado control y prevención de estas parasitosis.
- e. Identificar prácticas de manejo asociadas con la presencia de hematozoarios en los establecimientos, como potenciales factores de riesgo o protección frente a estos agentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se realizó un estudio transversal sobre establecimientos ganaderos de Uruguay, para evaluar la distribución de la garrapata común del bovino (*R. microplus*) y de la TP, y relevar algunos aspectos del tratamiento y prevención. Se seleccionó una muestra de la población total de establecimientos ganaderos registrados en el país en el año 2015 (n: 42855), que cuentan con una población de 12601607 bovinos, (datos provenientes de declaración jurada de DICOSE, 2014).

El tamaño de la muestra buscó determinar una prevalencia aproximada al 10% con un error máximo de estimación de 2,5% lo cual, para un nivel de confianza del 95%, establece que la muestra mínima a seleccionar es de 554 establecimientos. Considerando la posible no participación por cambio de producción y rechazo, la muestra seleccionada fue superior. Dentro de los establecimientos se tomó una muestra de hasta 30 vacas adultas, con lo cual se podría detectar la presencia de los agentes de la TP con un 95% de confianza si la prevalencia es igual o superior al 5%. Si bien los tamaños de las muestras fueron calculados para un muestreo aleatorio simple, se optó por estratificar en función del tipo de producción (para carne o para leche) y por la población de los establecimientos (chicos, medianos y grandes) con lo cual probablemente se aumenta la precisión de las estimaciones por encima de lo oportunamente calculado.

Muestreo

Los establecimientos fueron visitados entre agosto y noviembre de 2016 por médicos veterinarios de la División de Sanidad Animal de la Dirección General de Servicios Ganaderos del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca de Uruguay (DSA-DGSG-MGAP). El muestreo fue realizado en dos etapas, en la primera etapa, utilizando la base de datos de DICOSE, se seleccionaron 656 establecimientos incluidos en 6 estratos (Muestreo Aleatorio Estratificado- MAE) según giro (ganadero y lechero) y población bovina: Ganadería, hasta 200, de 201 a 800 y más de 800 bovinos y Lechería: hasta 50, de 51 a 250 y más de 250 bovinos.

En la segunda etapa, en el momento de la visita al predio, se realizó una encuesta con foco en las estrategias de control de la garrapata y la TP. La encuesta contó con un total de 28 preguntas englobadas en tres categorías de datos (ANEXO I): I- Datos relacionados a la garrapata, enfermedades transmitidas, prácticas de tratamiento y control (preguntas: 1-19); II- Datos relacionados a otros parásitos (preguntas: 20-25); III- Datos generales (preguntas: 26-28). Vinculado al segundo punto de la encuesta, se realizaron preguntas referidas a la importancia de otras parasitosis, particularmente a las medidas de control para la mosca de los cuernos (*H. irritans*) y nematodos gastrointestinales. Se indagó sobre estos temas teniendo en cuenta que estos parásitos pueden compartir medidas de control con las

garrapatas, ya que algunos de los principios activos utilizados en su tratamiento actúan directa o indirectamente sobre *R. micropus*.

Posteriormente se seleccionaron, en forma aleatoria sistemática, hasta 30 bovinos adultos hembras, mayores de dos años, para la obtención de muestras de sangre. Se extrajeron 10 ml de sangre de cada animal, con agujas descartables de 18G x 1½ y jeringas descartables de 10 ml, y se las colocó en tubos de borosilicato de 100 x 10mm. Las muestras de sangre se trasladaron al Laboratorio de Parasitología de la DILAVE, “Miguel C. Rubino” en Montevideo, donde fueron acondicionadas y refrigeradas. Luego de producido el proceso de formación del coágulo y mantenidas por 48 hs, las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 2000 rpm, se separaron los sueros, y se almacenaron en tubos tipo Eppendorf® para ser congeladas en bolsas en freezer de -20 °C hasta su utilización. Las bolsas fueron correctamente rotuladas con la identificación del establecimiento (N° de DICOSE) y número de ingreso al laboratorio.

Análisis de laboratorio (serología)

Para la detección de anticuerpos séricos frente a los tres hematozoarios responsables de la TP en la región se utilizaron la técnica de coaglutinación en tarjeta (“card agutination test”-CAT) (IICA, 1987; OIE, 2015) para *Anaplasma* spp. e inmunofluorescencia indirecta (IFI) (IICA, 1987; OIE, 2014) para *B. bovis* y *B. bigemina*. La metodología completa de las técnicas se encuentra detallada en archivo ANEXO II. Todas las muestras fueron evaluadas por un mismo operario con el fin de unificar el error de operario.

Un panel de 134 sueros controles, provenientes de animales vacunados para los tres hematozoarios, muestras de casos de campo con diagnóstico clínico y etiológico confirmados mediante frotis coloreados por Giemsa y muestras de animales no expuestos provenientes de zona libre (ZL), fueron evaluados con las técnicas de IFI y CAT, para establecer la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) de las técnicas. Quedan establecidos los siguientes valores: IFI *B. bovis*, Se=97% y Sp= 98%; IFI *B. bigemina*, Se= 99% y Sp= 79% y CAT *Anaplasma* spp., Se= 74% y Sp= 97%. Para la técnica de CAT se debe considerar que no es posible discriminar animales seropositivos a *A. marginale* y *A. centrale*, por lo que se los considera positivos a *Anaplasma* spp.

Análisis de datos

Manejo de datos

Los resultados de la encuesta fueron ingresados en una base de datos especialmente diseñada, verificados y validados para su análisis estadístico conforme al diseño (estratificado) utilizando el software estadístico Intercooled STATA 14.2 (Stata Corp.®, Texas, USA) (Corp. STATA). Para el análisis de la encuesta se empleó un enfoque analítico en tres partes: A- Análisis descriptivo de las variables de la encuesta, con

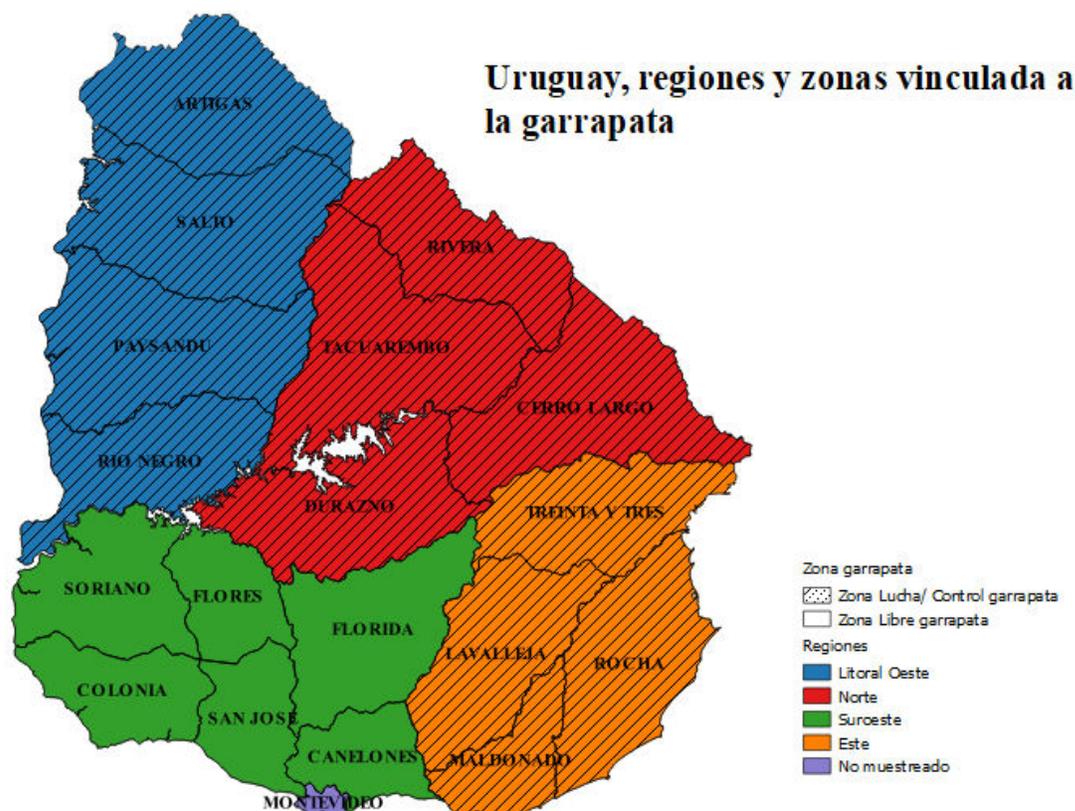
proyección ajustada por el muestreo a la población; B- Estimación de seroprevalencia individual y predial de hematozoarios en el país, ajustado por el diseño de muestreo; C- Análisis de variables asociadas a la presencia de garrapatas y prevalencia predial de hematozoarios. Los resultados de los análisis serológicos fueron ingresados a una planilla electrónica y posteriormente importados al programa estadístico STATA para su análisis.

Los mapas fueron confeccionados con información sobre departamento y seccional policial disponible en el número de DICOSE y base de datos de INIA. Los datos fueron importados al programa Quantum GIS Desktop versión 2.18.14 Las Palmas de D.G (QGIS Development Team, 2014).

Análisis descriptivo y estadístico

Las variables fueron analizadas según giro (ganadería o lechería), estrato bovino (existencia ganadera), departamento, región o zona vinculada a la garrapata. El país fue dividido en dos zonas en base a lo establecido en la Ley N°18.268 (Errico et al., 2009) según el estatus vinculado a garrapata. “Zona libre” (ZL) de garrapatas integrada por los departamentos de Canelones, Colonia, San José, Soriano, Flores y Florida y “Zona de lucha o control” (ZC) comprendidos los departamentos de Artigas, Cerro Largo, Durazno, Lavalleja, Maldonado, Paysandú, Río Negro, Rivera, Rocha, Salto, Soriano, Tacuarembó y Treinta y Tres. Además, se generó por parte del autor una opción de regiones, con el fin de explicar con mayor detalle algunas variables dentro de la ZC, se establecieron cuatro regiones detalladas en figura 1, denominadas “Litoral Oeste”, “Norte”, “Este” y “Suroeste” (que corresponde a la ZL).

Figura 1: Mapa de Uruguay, detalle de regiones y zonas vinculadas a la garrapata.



El análisis estadístico se realizó preservando las características del diseño, donde se definieron los estratos y clústers (animales en establecimientos) para la rutina de análisis. Se estimaron las prevalencias con sus intervalos de confianza (IC) de 95%. En el análisis descriptivo se consideró el tamaño del establecimiento y la estrategia de selección del mismo y se realizaron proyecciones a la población mediante las rutinas para análisis de “survey data” (“svy”) del STATA. El peso de los establecimientos para el análisis fue definido como el inverso de la probabilidad de selección del establecimiento (N_i/n_i para los establecimientos en el estrato “i”). Para estimar la seroprevalencia individual de hematozoarios, los datos se ponderaron como el inverso de la probabilidad de selección del establecimiento multiplicado por la probabilidad de selección de los animales dentro de cada rodeo ($N_i/n_i \times N_{vacas}/n_{vacas}$ en el establecimiento). El número total de establecimientos (N_i) por estrato se obtuvo de la base de datos de DICOSE 2015. Como población bovina se consideró exclusivamente a las hembras mayores a dos años de vida, los datos fueron tomados del estudio de población del muestreo serológico panel 2016.

Los datos fueron recolectados y presentados en dos formas, información del establecimiento e información de los animales dentro de los establecimientos, los cuales se especifican en cada caso. En todas las preguntas, analizadas con y sin la proyección de

“svy” de STATA, el número de respuestas fue variable, el cual se especifica en cada caso, aclarando el número de observaciones, equivalentes al número de respuestas obtenidas en esa pregunta y la población que representa según el ajuste del modelo cuando corresponde.

Se realizó el cálculo de la seroprevalencia aparente con la proyección del modelo “svy” del STATA y posteriormente se calculó la prevalencia real, basada en valores establecidos de sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas, donde $[P \text{ real} = P \text{ aparente} + (Sp-1) / Se + (Sp-1)]$. Para realizar el cálculo se utilizó un programa disponible on-line “Epitools-Ausvet” (Sergeant & Greiner, 2018) que permite calcular prevalencia real para los valores puntuales, y se calculan mediante fórmula los límites del IC del 95%.

Se estudió la distribución de los tres hematozoarios en los establecimientos (prevalencia predial) en función de las seroprevalencias individual (vacas seropositivas). El estudio de las variables asociadas a la prevalencia predial de hematozoarios se realizó mediante un estudio transversal de establecimientos con y sin serología positiva. Se definieron como “Positivos” (casos) aquellos establecimientos con al menos 1 animal seropositivo a las pruebas de IFI y CAT, estableciendo los niveles de sensibilidad y especificidad del rodeo (Herd-Se y Herd-Sp) para cada técnica, con IC de 95% calculados con el programa “Epitools-Ausvet”. Se entiende por Herd-Se a la probabilidad de que un rodeo positivo resulte positivo, cuando se lo evalúa con una técnica determinada y con una prevalencia esperada de la enfermedad y un punto de corte seleccionado, que en este caso fue “1”. Así también, Herd-Sp es la probabilidad de que un establecimiento negativo resulte negativo ante las condiciones arriba mencionadas (Martin et al., 1992; Sergeant & Greiner, 2018). Para el mencionado cálculo se establecieron prevalencias esperadas de 0,05 para *B. bovis*, 0,30 para *B. bigemina* y 0,09 para *Anaplasma spp.*

El estudio de la asociación entre los establecimientos positivos a hematozoarios y los posibles factores se realizó en forma univariada y multivariada (regresión logística), para cada una de las variables explicativas (posibles factores) y establecimientos positivos-negativos como variable de respuesta. Las variables dicotómicas corresponden a 0 “Ausencia del Factor” y 1 “Presencia del Factor” (F). La asociación fue evaluada mediante el Odds Ratio (OR: Relación de las Odds), o razón de probabilidades de ser positivo habiendo sido expuesto al F y no habiéndolo sido. Mide aproximadamente cuánto más probable es que sea positivo un establecimiento con exposición al F que uno no expuesto, proporcionando una estimación del riesgo de ser positivo en presencia de exposición al factor.

Se utilizaron pruebas de chi2 y test exacto de Fisher para evaluar diferencias entre proporciones. Las variables cuantitativas fueron evaluadas mediante pruebas-t (Student) para diferencias entre medias de los grupos (positivos y negativos).

RESULTADOS

Características de la población en estudio

En primer lugar, se presenta una descripción de la muestra seleccionada de la población. En el cuadro I se enumeran algunas características de la superficie de los establecimientos seleccionados, con las frecuencias por giro y estrato bovino, media de superficie total del predio y el porcentaje destinado en promedio a la actividad ganadera. El número de establecimientos muestreados representa el 1,5% (656/43.923) de los establecimientos registrados en la declaración jurada DICOSE 2016. Del total de establecimientos seleccionados, el 34 % (225) se encuentran en ZL y 66% (431) en ZC. Las frecuencias (absoluta, relativa y acumulada) de establecimientos seleccionados por departamento se detallan en cuadro II.

Cuadro I: Número de establecimientos seleccionados por estrato, con superficie total y porcentaje promedio destinado a ganadería..

Estrato bovino	Número total de establecimientos	Superficie Media/est. (has.)	Superficie ganadera (%)
Ganadería 0-200	125	68	93,0
Ganadería 201-800	166	654	92,8
Ganadería > de 800	260	1.874	93,6
Lechería 0-50	35	50	98,9
Lechería 51-250	35	96	99,8
Lechería > de 250	35	398	93,0
Total	656	955	93,9

Superficie Media/est.: Superficie media por establecimiento. has: hectáreas

Cuadro II: Establecimientos seleccionados por Departamento.

Departamento	Frec. Ab.	Frec. Re. (%)	Acumulada (%)
Artigas	43	6,6	6,6
Canelones	43	6,6	13,2
Cerro Largo	38	5,8	19,0
Colonia	34	5,2	24,2
Durazno	37	5,6	29,8
Flores	20	3,1	32,9
Florida	48	7,3	40,2
Lavalleja	39	6,0	46,2
Maldonado	21	3,2	49,2
Paysandú	41	6,3	55,5
Río Negro	20	3,1	58,6
Rivera	25	3,8	62,4

Rocha	46	7,0	69,4
Salto	43	6,6	76,0
San José	52	7,9	83,9
Soriano	28	4,3	88,2
Tacuarembó	54	8,2	96,4
Treinta y Tres	24	3,6	100
Total	656	100	

Frec. Ab: Frecuencia absoluta; Frec. Re: Frecuencia relativa.

De los 656 establecimientos visitados para el estudio, 38 no respondió a alguna pregunta de la encuesta (5,8%- no respuesta).

Los encuestados se categorizaron en cuatro tipos, con un 53% (348/656) de respuestas por parte de “propietarios”, 22% (144/656) por el “capataz/encargado/mayordomo”, 13,9% (91/656) por “Familiares del propietario”, 8,2% (54/656) por otros, entre los que se incluyen administradores/gerentes (30/54), apoderados (4/54), empleados (4/54), veterinario (12/54) y otros (4/54). En el 2,9% (19/656) de las encuestas no se cuenta con la información referida al entrevistado.

Un 70,9% de los encuestados afirman tener asesoramiento veterinario (número de observaciones= 569; población representada= 33970 est.). Este asesoramiento es permanente en el 34,6% de los casos y eventual en el 65,4% restante. Agregando que, en cerca de la mitad de los casos, 47,3% (número de observaciones= 389; población representada= 21846), el veterinario brinda asesoramiento técnico en el manejo y control de garrapatas.

La población bovina está integrada casi en su totalidad por animales de biotipo europeo (*Bos taurus*). En 574 respuestas obtenidas, las principales razas cárnicas puras fueron la Hereford (24,4%) y Aberdeen Angus (10,9%), las cruza de las mencionadas razas fueron las más frecuentes (50,7%); la Holando (12,18%) predomina en lechería, las razas Jersey y otras representan el restante 1,9%. En muy escasos establecimientos (0,5%) se especificó como raza secundaria a las cruza indicas Brangus y Braford (Cruza 3/8 *Bos indicus*).

Análisis descriptivo de las variables de la encuesta

Garrapatas y grado de infestación

Sobre la presencia de garrapatas en los últimos 5 años, los resultados generales, con su intervalo de confianza del 95%, se encuentran expuestos en el cuadro III. La presencia de garrapatas difirió significativamente entre zonas ($p= 0,00$), con un 38,6% que expresan haber tenido y 17,1% tener garrapatas en ZC (número de observaciones= 401, población representada= 24965 est.), y solo un 0,1% haber tenido garrapatas en ZL (número de observaciones= 178, población representada= 11.637 est.). En la figura 2 se encuentran

representados en puntos de diferentes colores los establecimientos según su respuesta a la presencia de garrapatas, por departamento de Uruguay.

Cuadro III: Presencia de garrapatas en los últimos 5 años en Uruguay (2016).

Presencia de garrapatas	Porcentaje (%)	IC 95%
Ha tenido	26,4	21,2 - 32,3
Tiene	11,7	8,2 - 16,3
Nunca tuvo	61,9	55,6 - 67,9

Número de estratos= 6; Numero de observaciones= 574; población representada= 36076 est., grados de libertad= 568.

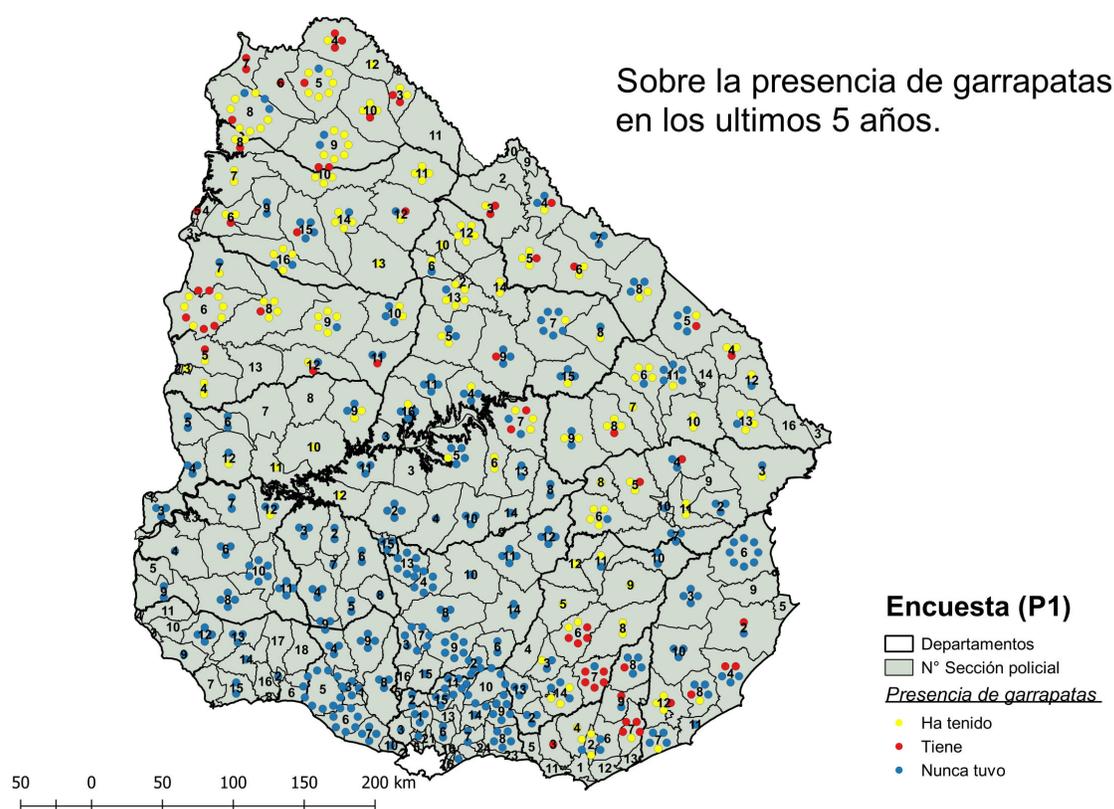


Figura 2: Distribución de respuestas sobre la presencia de garrapatas en los últimos 5 años, por departamentos y secciones policiales de Uruguay (2016).

Se evaluó en forma relativa el grado de infestación por garrapatas que el encuestado considerara más cercano a su situación, los resultados se expresan en cuadro IV.

Cuadro IV: Grado de infestación por garrapatas, Uruguay (2016).

Grado de infestación*	Porcentaje (%)	IC 95 %
Alto	2,5	1,2 - 5,2
Medio	12,1	8,6 - 16,8
Bajo	18,5	13,9 - 24
Nulo	66,9	60,7 - 72,6

**Alto: presencia de gran número de garrapatas teleóginas (formando racimos en entrepierna y área pectoral), observable a simple vista en alguna época del año, con lesiones cutáneas severas asociadas; Medio: presencia de garrapatas aisladas identificables a simple vista, sin formar racimos y sin lesiones dérmicas importantes; Bajo: presencia de garrapatas, difíciles de observar a simple vista, es necesario la revisión del animal, con detenimiento, en las zonas más expuestas (entrepiera y área pectoral) y Nulo: sin garrapatas.*

Número de estratos= 6; número de observaciones= 574; población representada= 36076 est.; grados de libertad= 568.

Tratamiento con acaricidas

Se consultó sobre el principal objetivo que pretende el productor al aplicar tratamientos acaricidas (número de observaciones= 268, población representada= 15433 est.), observando que el 19,1 % (41) expresó querer controlar el número de garrapatas conviviendo con ellas, en tanto que el 80,9 % (227) busca eliminar el parásito de sus rodeos.

En cuanto a los criterios de elección de medicamentos (número de observaciones= 283, población representada= 16336 est.) un 50,2 % (170) elige los medicamentos en base a asesoramiento veterinario, un 32,3 % (67) la hace asesorado por el proveedor del producto y un 17,5 % (46) elige los productos con otros criterios, no especificados. El momento en que se aplican los productos acaricidas se establece en un 57,4% (182) por calendario, 26,5% (84) elige el momento por recomendación de su veterinario y 16,1% (51) lo hace al observar garrapatas en los animales.

Se evaluaron las formas de aplicación de productos más utilizadas para el control de garrapatas, donde se observó (número de observaciones= 618, población representada = 38985 est.) que el 19,2% emplea una única forma, el 20,7% utiliza dos formas y el 2,6 % alterna tres formas diferentes, el restantes 57,5% no especificó la forma en que aplica producto. Las frecuencias y porcentajes de utilización de tratamientos, con sus diferentes formas de aplicación, única o alternadas, se expresan en cuadro V.

Cuadro V: Formas de aplicación de productos acaricidas, frecuencias y porcentaje en Uruguay (2016).

Nº	Formas	Frecuencias	Porcentaje (%)
Única	Inmersión	30	10,5
	Inyectable	41	14,4
	Pour-on	31	10,9
	Aspersión	6	2,1
Total		108	37,9
Dos	Inm-Iny	20	7,0
	Inm-Pour	7	2,5
	Iny-Pour	110	38,6
	Iny-Asp	4	1,4
	Pour- Asp	1	0,4
	Inm-Asp	0	0,0
Total		142	49,8
Tres	Inm-Iny-Pour	30	10,5
	Iny-Pour-Asp	5	1,8
	Inm-Pour-Asp	0	0
Total		35	12,3
Cuatro	Inm-Iny-Pour-Asp	0	0
Total		285	100
Sin respuesta		333	

Nº: número de formas de aplicación de productos que se marcaron como empleadas en el establecimiento.

Formas = Opciones de formas de aplicación de productos alternados.

En los establecimientos en los que se menciona la utilización de baños (número de observaciones= 85, población representada= 2085 est.), se indagó sobre la frecuencia con que se cambian los compuestos activos del baño. Se registró que un 48,7 % cambia los baños anualmente, 30,3 % lo hace cada más de un año, y 21% realiza análisis para decidir el momento de recambio.

Basados en el listado de productos aprobados para el control de garrapatas (Productos Veterinarios- DILAVE, 2018) se agruparon a los compuestos activos en 6 categorías: 1- Piretroides+Organofosforados, 2- formamidinas (Amidinas), 3-Lactonas macrocíclicas (LM), 4- Fluazurón, 5- Fipronil y 6- Piretroides (solos). Se evaluó el porcentaje de utilización de cada compuesto, desglosando el porcentaje en que se los emplea en forma única y/o alternada, los resultados se encuentran expuestos en cuadro VI.

Cuadro VI: Porcentaje de utilización en forma única o alternada de los diferentes principios activos disponibles en Uruguay (2016).

Cantidad de principios alternados	Principios activos						Total
	Piretroides+ Fosforado	Amidinas	LM	Fluazurón	Fipronil	Piretroides	
1	78,4*	56,0	26,0	12,9	24,7	39,5	51,7
2	7,2	16,0	55,8	7,0	57,5	16,7	36,7
3	6,5	23,3	16,4	65,8	16,0	42,9	10,6
4	5,0	1,6	1,2	8,6	1,2	0,8	0,7
5	2,9	3,2	0,6	5,7	0,6	0,0	0,4
Total (%)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
N° Observ.	33	65	169	27	152	29	269
%	12,3	24,2	62,8	10	56,5	10,1	
Tam. Población	1962	1762	9684	994	9318	1656	15721

*Todos los resultados en el cuerpo de la tabla se encuentran expresados en porcentajes (%).

N° Observ. = Número de observaciones, corresponde a la frecuencia de utilización de cada principio activo.

%= Porcentaje de los encuestados que utiliza cada principio activo. Tam. Población = Tamaño de población representada, en número de establecimientos según ajuste de svy.

Sobre la rotación de compuestos activos y los motivos por los que se decide dejar de utilizar algún compuesto, se observó que de 236 respuestas (población representada= 13.137 est.), un 2,15% dijo rotar los productos por falla en la eficacia, 65,8% lo hace por recomendación técnica, 4,3% por precios y 27,8% lo hace por otros motivos. Agregamos que un 11,3% (número de observaciones= 280, tamaño población= 15187 est.) afirmó percibir fallas en la eficacia de los tratamientos.

La utilización del tratamiento generacional es una de las principales propuestas (tecnología de proceso) impulsadas por el MGAP de Uruguay para el control y erradicación de la garrapata *R. microplus*. Se cuestionó sobre el grado de conocimiento y utilización de esta tecnología, los resultados se encuentran expuestos en cuadro VII, discriminando por ZL o ZC contra la garrapata. Las diferencias en el nivel de conocimiento y utilización del TG entre zonas difieren significativamente ($p= 0,007$).

Cuadro VII: Porcentaje de conocimiento y utilización del tratamiento generacional por zona vinculada a la garrapata, Uruguay (2016).

Tratamiento Generacional	No conoce	Ha oído	Lo Utiliza	Lo utilizaba y dejó de hacerlo	Total
Zona Libre (%)	75,8	23,8	0,4	0,0	100
Zona Control (%)	42,5	35,1	20,7	1,6	100
General (%)	47,8	33,3	17,5	1,4	100

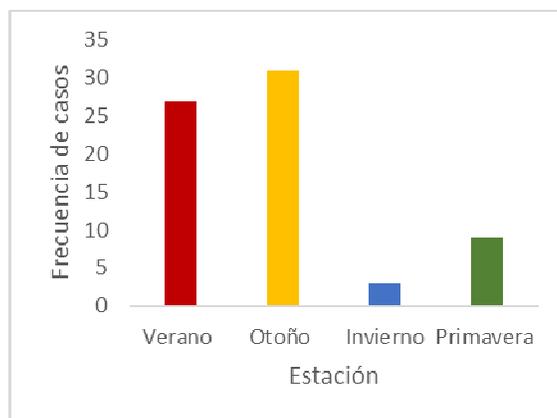
Zona Libre: número de observaciones= 51, población representada= 3521 est.; **Zona Control:** número de observaciones= 307, población representada= 18599. Pearson: Uncorrected chi2 (3) = 25.1705; Design-based F (2.18, 766.45) = 4.6979; P = 0.0076

Por último, se indagó sobre el conocimiento de los conceptos de tiempo de espera para consumo de productos derivados de animales post tratamiento acaricida, donde un 91,8% de los encuestados respondieron conocer el concepto y 8,2 % no están informados acerca de este tipo de práctica (número de observaciones= 339, población representada= 21066 est.).

Enfermedades Transmitidas por garrapatas, diagnóstico y prevención

Sobre las enfermedades transmitidas por garrapatas se preguntó sobre la presentación de casos de TP en el establecimiento, donde 16,9% respondieron haber tenido casos y 83,1% no haber registrado casos de TP (número de observaciones= 315; población representada= 18348 est.). Entre los encuestados que dijeron haber tenido casos de TP sólo uno se encuentra en zona libre de garrapatas, representando el 0,3% del registro de casos. La media de muertes registrada por episodios de TP fue de 9,25 (min: 1- máx.: 100) bovinos por establecimiento en un año (número de observaciones= 46; población representada= 2323 est.).

Se indagó sobre el diagnóstico y el tipo de agentes involucrados en los brotes sospechosos de TP. Un 9,2% (13) de encuestados respondieron haber realizado diagnóstico (número de observaciones= 83; población representada= 4707 est.), donde siete brotes se debieron a *A. marginale.*, dos a *Babesia* spp. y en cuatro casos se registraron co-infecciones. Se registró la presentación de brotes en las diferentes estaciones del año, la distribución de frecuencias queda graficada en el siguiente gráfico de barras (figura 4).



Número de observaciones= 65.

Figura 3: Frecuencia de brotes de tristeza parasitaria en establecimientos según estación del año, Uruguay (2016).

Sobre el conocimiento y porcentaje de utilización de la hemovacuna disponible para la prevención de la TP, los resultados se exponen en cuadro VIII discriminados por zona.

Cuadro VIII: Conocimiento y utilización de la hemovacuna para prevención de tristeza parasitaria por zona vinculada a la garrapata, Uruguay (2016).

Hemovacuna	Si, la utiliza	No la conoce	No, por costo	No, poco practica	Total
Zona Libre (%)	0,0	100,0	0,0	0,0	100
Zona Control (%)	7,2	80,5	2,0	10,3	100
General (%)	6,5	82,2	1,8	9,4	100

Número de observaciones= 176; población representada= 10653 est. Pearson: Uncorrected chi2(1) = 3.6559; Design-based F 1, 309 =3.4044; P = 0.0660

Una de las posibles limitantes en la utilización de la vacuna es su costo que en la actualidad oscila los 3 dólares americanos. Se evaluó si el costo es una limitante en la utilización, donde un 55,1 % de los encuestados respondieron que utilizarían la vacuna a un costo de 3 dólares y el 44,9 % no la utilizaría a dicho costo (número de observaciones= 204; población representada= 11752 est.).

Como factores asociados a la transmisión de *A. marginale* se cuestionó sobre la utilización de agujas descartables, con un 9,7 % de encuestados que las utilizan rutinariamente (número de observaciones= 258; población representada= 14848 est.).

Sobre otros parásitos

Con el objetivo de obtener un panorama general sobre la problemática parasitaria se pidió a los encuestados que establecieran el orden de importancia que les asignan a diferentes enfermedades parasitarias. Realizando un orden de prioridades (ranking o clasificación) entre las principales parasitosis que impactan negativamente en la producción bovina uruguaya. Los resultados generales se expresan en Cuadro IX, y el análisis discriminado por zona de garrapata (ZL o ZC) en la figura 4.

Cuadro IX: Orden de importancia asignada porcentualmente a cinco parasitosis con impacto en la producción bovina de Uruguay (2016).

Parasitosis	Orden de prioridad				
	1° (%)	2° (%)	3° (%)	4° (%)	5° (%)
Garrapata ^a	28	5	4	7	56
Mosca Bichera ^b	17	25	23	28	7
Mosca de los cuernos ^c	38	24	16	15	7
NGI ^d	19	30	33	17	2
Fasciolosis ^e	15	17	25	25	17

a= *Rhipicephalus microplus*; b= *Cochlyiomyia hominivorax*; c=*Haematobia irritans*; d= *Nematodos gastrointestinales*; e= *Fasciola hepatica*.

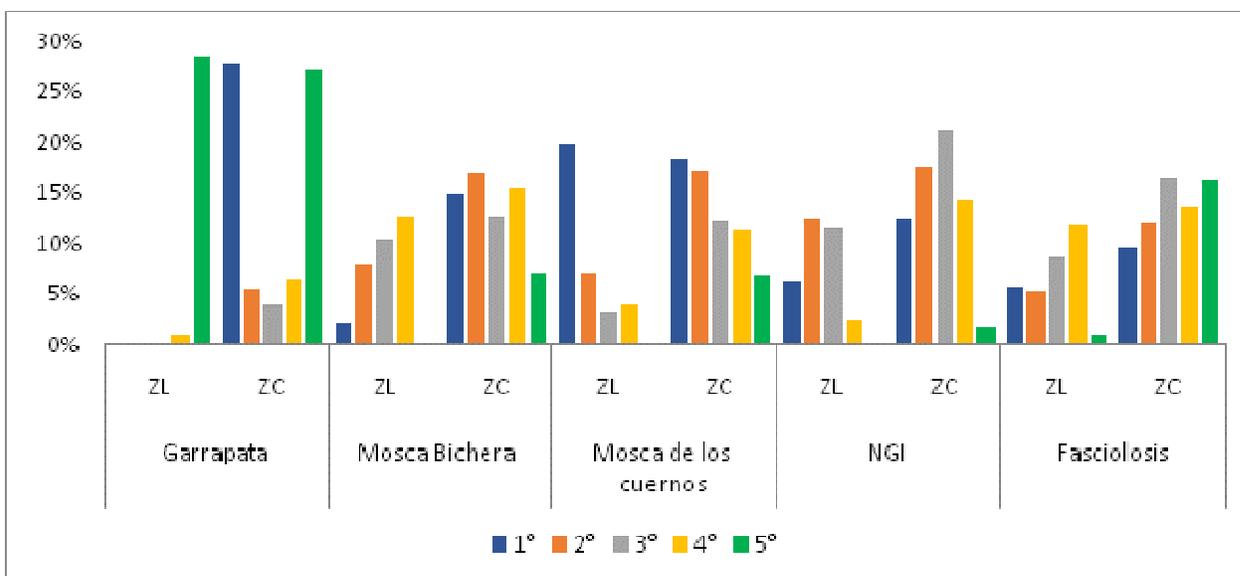


Figura 4: Orden de importancia porcentual de cinco parasitosis discriminadas por zona libre (ZL) y zona de control (ZC) de garrapatas, Uruguay 2016.

Vinculado a los tratamientos para endoparásitos, se evaluaron las categorías de animales que se tratan para nematodos gastro-intestinales (PGI) y *F. hepática*. Los resultados se exponen en cuadro X. Las drogas más utilizadas para el control de estos parásitos son las LM con el 44,2 % de los encuestados que las utilizan en forma única, un 29,5% utilizan otras drogas y el 26,3% alternan LM con otras drogas (número de observaciones= 528, población representada= 30415 est.).

Cuadro X: Frecuencia y porcentaje de establecimientos que tratan para endoparásitos por categorías de animales, Uruguay (2016).

Categoría	NGI	%	Fasciolosis	%
Terneros	467	82	397	69
Sobreaño	426	74	391	68
Adultos	355	62	387	68

NGI= Nematodos gastrointestinales. Número de observaciones= 573; encuestas sin respuesta= 83.

Sobre las estrategias de control y tratamiento para mosca de los cuernos se observa que la forma de aplicación más empleada entre los productores es el “pour-on”, como 416 productores que utilizan esta forma, la distribución de frecuencias se encuentra expresada en la figura 5. Un 72% utiliza una única forma de aplicar producto, y ninguno expresó utilizar trampas de paso para el control físico (mecánico) de la mosca. La proporción de utilización de “pour-on” es bastante uniforme entre productores ganaderos y lecheros; esta relación se desequilibra en los tratamientos de inmersión que son empleados exclusivamente en la ganadería y las caravanas que son 4,5 veces más utilizadas en establecimientos lecheros.

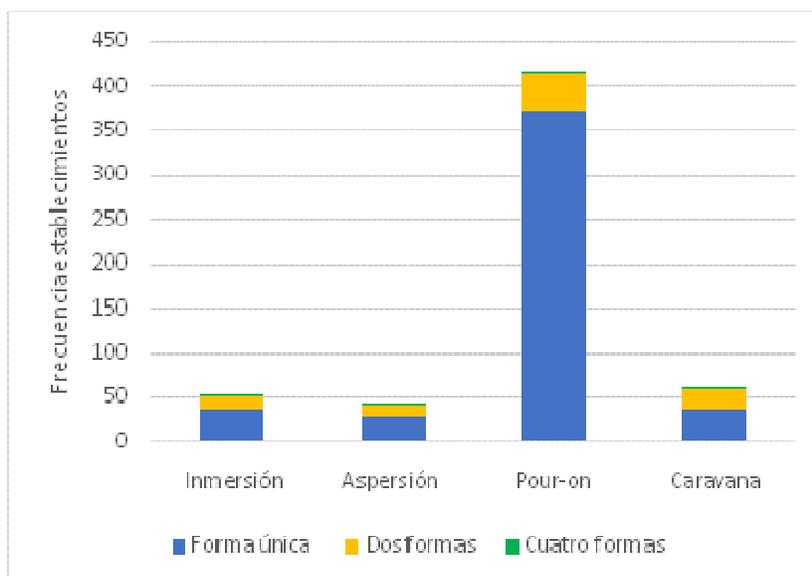


Figura 5: Formas de aplicación de compuestos empleados para el control de mosca de los cuernos, Uruguay (2016).

En cuanto a los principios activos empleados para el tratamiento de *H. irritans*, los resultados se expresan en el cuadro XI, discriminados por giro ganadero. A lo que se agrega que la combinación más frecuente de drogas fue piretroides más órganos fosforados (19), seguido de piretroides más mezclas (15) y fosforados más mezclas (10).

Cuadro XI: Frecuencias y porcentajes de utilización de principios activos disponibles en Uruguay para el control de mosca de los cuernos (2016).

Giro	Piretroides	%	Fosforados	%	Mezclas	%
Ganadería	188	80	46	84	146	84
Lechería	46	20	9	16	27	16
Total	234		55		173	

Por último, se indagó sobre el criterio o momento de elección para la aplicación de tratamiento de mosca de los cuernos, los resultados se expresan en la figura 6 (A y B) discriminados por giro.

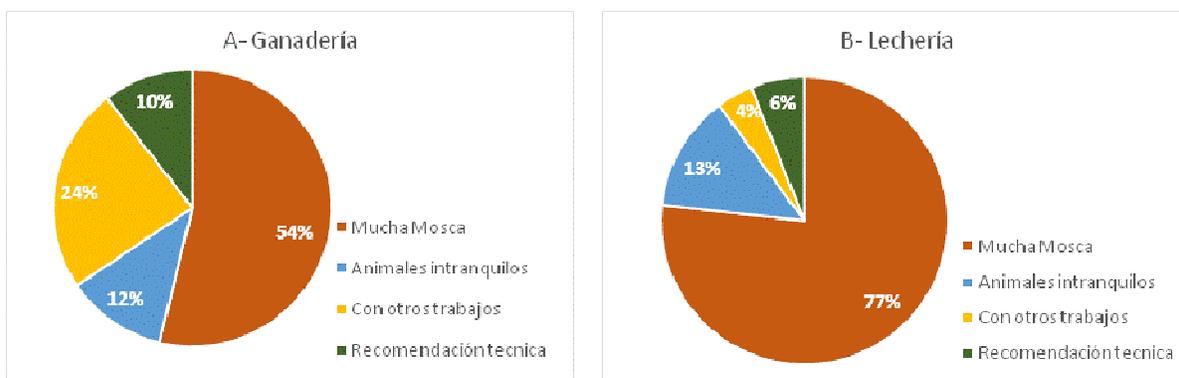


Figura 6: Criterio de aplicación de tratamiento para las moscas de los cuernos discriminado por giro ganadería (A) y lechería (B).

Estimación de seroprevalencia de hematozoarios, a nivel individual y predial en Uruguay, 2016

Características de la muestra

Se procesaron muestras de suero provenientes de 523 establecimientos de 18 departamentos de Uruguay. Para el análisis de seroprevalencia individual con la proyección de “svy”, pudieron incluirse en el análisis 516 establecimientos, en los que se contaba con población bovina. Para el análisis de prevalencia predial se incluyó el total de establecimientos. En el Cuadro XII se detallan los números de muestras procesadas por departamento.

Cuadro XII: Número de establecimientos, sueros totales y muestra media evaluadas por establecimiento en los diferentes departamentos de Uruguay (2016).

Departamento	N° de establecimientos	Sueros evaluados	
		Total	Media por establecimiento
Artigas	35	931	26,6
Canelones	29	493	17,0
Cerro Largo	30	814	27,1
Colonia	29	707	24,4
Durazno	31	746	24,1
Flores	16	427	26,7
Florida	42	1157	27,5
Lavalleja	25	642	25,7
Maldonado	16	440	27,5
Paysandú	31	813	26,2
Río Negro	17	453	26,6
Rivera	18	487	27,1
Rocha	35	938	26,8

Salto	35	855	24,4
San José	43	1000	23,3
Soriano	20	422	21,1
Tacuarembó	47	1164	24,8
Treinta y Tres	17	463	27,2
Total	516	12952	25,1

Los establecimientos se encuentran en un 65,3 % (337) en ZC y 34,7% en ZL (179). La proporción de muestras (sueros bovinos) evaluada por zona es de 67,5% (8746) y 32,5% (4206) para ZC y ZL respectivamente.

Seroprevalencia de hematozoarios a nivel individual

Se calculó la seroprevalencia media (prevalencia aparente) en bovinos hembra adultos (≥ 2 años), con sus IC 95%, para los tres hematozoarios implicados en el complejo de la TP en Uruguay. La seroprevalencia media individual para *B. bovis* fue de 5,0 % (IC 95%= 3,5-6,3), para *B. bigemina* de 31,8 % (IC 95%= 28,1- 35,4) y para *Anaplasma* spp. 9,3 % (IC 95%= 7,3-11,2) (Número de estratos= 6; número de observaciones= 12.952; población representada= 5.113.588 vacas; grados de libertad= 510.)

Del cálculo de prevalencia real para los tres hematozoarios, con la Se y Sp de las técnicas mencionadas, se obtuvieron los siguientes resultados: *B.bovis*, 3,1% (IC 95%= 1,6- 4,5); *B.bigemina*, 13,8% (IC 95%= 9,1- 18,5) y *Anaplasma* spp., 8,8% (IC 95%= 5,7- 10,7).

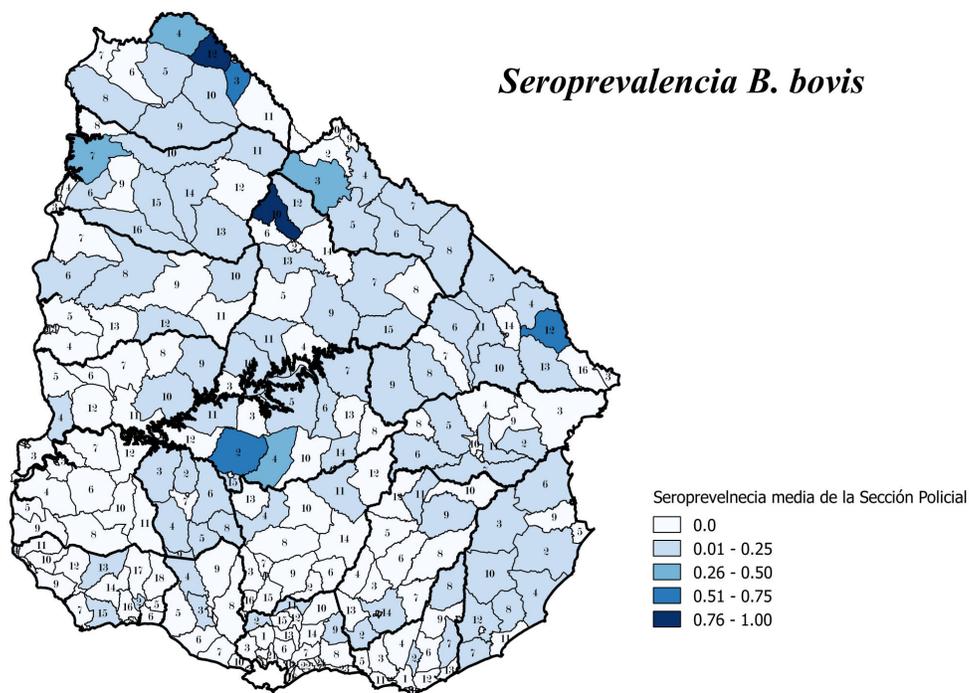
La seroprevalencia media individual por zona se expresa para cada agente en Cuadro XIII con su IC del 95%. Para los tres agentes existen diferencias significativas en las seroprevalencias entre zonas ($p= 0,00$).

Cuadro XIII: Seroprevalencia individual aparente de hematozoarios por zona (ZL y ZC) vinculada a garrapata en Uruguay (2016).

Hematozoario	Zona	Seroprevalencia	
		Media (%)	IC 95 (%)
<i>B. bovis</i>	ZL	1,2	0,4 - 1,9
	ZC	6,2	4,4 - 8,1
<i>B. bigemina</i>	ZL	6,0	3,8 - 8,2
	ZC	40,5	36,2 - 44,8
<i>Anaplasma</i> spp.	ZL	1,0	0,5 - 1,5
	ZC	11,5	9,2 - 13,8

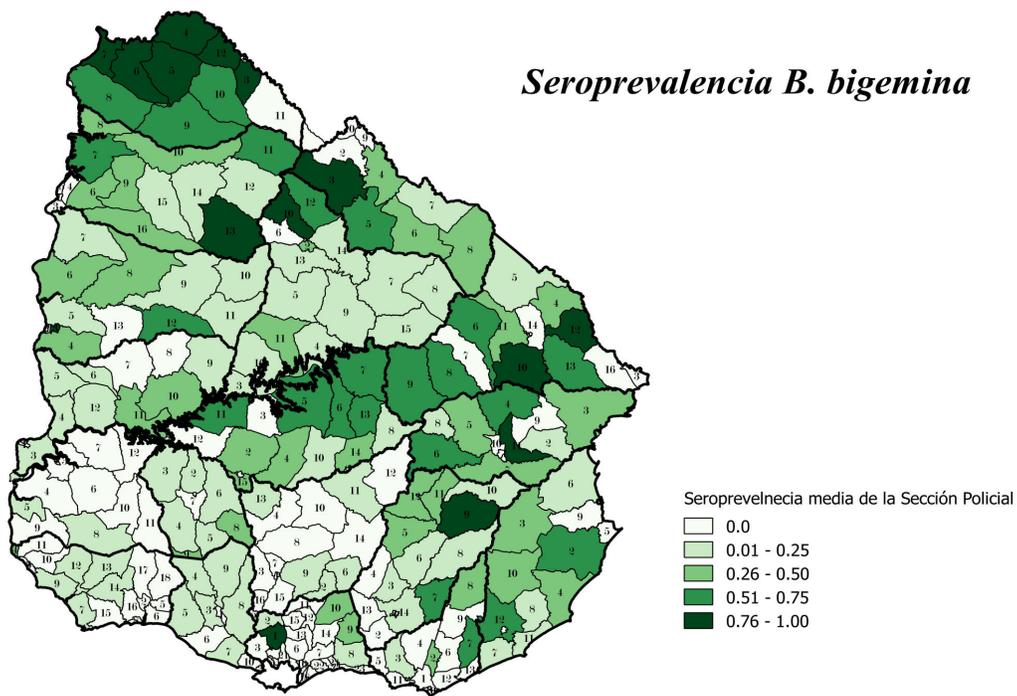
ZL= zona libre, número de PSUs=179 est.; número de observaciones= 4206 sueros; población representada= 1295828 vacas; grados de libertad= 173. **ZC**= zona control; número de PSUs=337 est.; número de observaciones= 8746 sueros; Tamaño de población representada= 381760 vacas; grados de libertad= 331.

En los siguientes mapas (figura 7, 8 y 9) se presentan los niveles de seroprevalencia media de la sección policial, discriminado por agente.



Los números identifican la sección policial correspondiente.

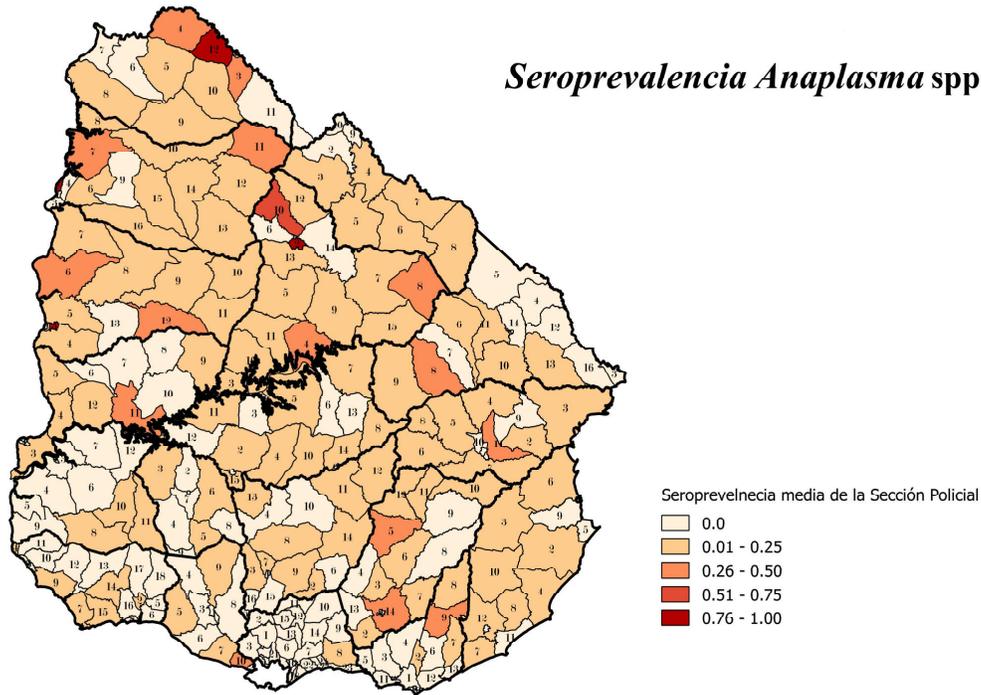
Figura 7: Rango de seroprevalencia media de *Babesia bovis*, por sección policial de Uruguay (2016).



Los números identifican la sección policial correspondiente.

Figura 8: Rango seroprevalencia media de *Babesia bigemina*, por sección policial de Uruguay (2016).

Seroprevalencia *Anaplasma* spp.



Los números identifican la sección policial correspondiente.

Figura 9: Rango seroprevalencia media de *Anaplasma* spp., por sección policial de Uruguay (2016).

Por último, la seroprevalencia media por estrato bovino se expresa en el cuadro XIV.

Cuadro XIV: Seroprevalencia individual por estrato bovino, Uruguay (2016).

Estrato Bovinos	<i>B. bovis</i>		<i>B.bigemina</i>		<i>Anaplasma</i> spp.	
	Media (%)	IC 95%	Media (%)	IC 95%	Media (%)	IC 95%
Ganadería 0-200	8,1	2,6- 22,4	36,5	26,9- 47,4	20,9	12,7- 32,5
Ganadería 201-800	4,4	3,0- 6,3	36,4	29,4- 44,0	9,0	6,5- 12,4
Ganadería >800	5,2	3,7- 7,3	32,0	27,3- 37,0	7,2	5,5- 9,4
Lechería 0-50	0,3	0,0- 2,4	4,9	1,3- 17,3	1,2	0,3- 4,7
Lechería 51-250	0,9	0,3- 2,6	4,2	1,7- 10,3	0,6	0,2- 2,7
Lechería >250	1,8	0,3- 8,7	4,6	2,0- 10,5	1,5	0,6- 4,1

Número de PSUs= 516 est.; Número de observaciones: 12952 sueros; población representada= 511588 vacas; grados de libertad= 510.

Prevalencia predial de hematozoarios

Se evaluó la prevalencia predial (dispersión) de los tres hematozoarios, considerando positivos aquellos establecimientos que presentaban al menos un animal positivo (“cut –

point” = 1) entre los analizados. De esta manera se calcularon los valores de HerdSe y HerdSp para cada agente (Cuadro XV), considerando una muestra media de 25 animales (más del 75% de los establecimientos tiene ≥ 25 muestras), con un rango de población de 25 a 800 animales por establecimiento.

Cuadro XV: Sensibilidad y Especificidad del rodeo.

Hematozoario	Herd-Se (%)	Herd-Sp (%)
<i>B. bovis</i>	85	60
<i>B. bigemina</i>	99	1
<i>Anaplasma spp.</i>	>90	45

Se registró que el 76,1% (398/523) de los establecimientos resultaron positivos al menos a un hematozoario. De éstos, 93 (17,8 %) fueron positivos a los tres agentes en conjunto, en tanto que 57 (10,9%) fueron positivos a las dos babesias y 117 (22,4%) combinaciones entre *Babesia spp.* y *Anaplasma spp.*. En 131 (25%) establecimientos se registró un solo agente (*B. bovis* = 8, *B. bigemina*= 94 y *Anaplasma spp.*= 29). Los restantes 125 establecimientos resultaron negativos a los tres agentes, representando el 23,9% de los analizados.

La prevalencia predial detalla por zona y departamento se muestran en cuadros XVI y XVII respectivamente.

Cuadro XVI: Prevalencia predial por zona de garrapata, Uruguay (2016).

ZONA	Est. Pos. <i>B. bovis</i>		Est. Pos. <i>B. bigemina</i>		Est. Pos. <i>Anaplasma spp.</i>	
	Media %	IC 95 %	Media %	IC95 %	Media %	IC 95 %
Libre	10,4	5,4- 19,0	29	19,6- 40,7	10,4	6,1- 17,4
Control	35,3	27,9- 43,4	81,5	73,2- 87,7	64,6	56,2- 72,1

Número de observaciones: 523; población representada=29503 est..

Cuadro XVII: Frecuencia absoluta y prevalencia de establecimientos positivos a cada hematozoario por departamento de Uruguay (2016).

Departamento	Frec. Est. Pos.*	Prevalencia		Frec. Est. Pos.	Prevalencia		Frec. Est. Pos.	Prevalencia	
	<i>B.bovis</i>	(%)	IC 95%	<i>B.bigemina</i>	(%)	IC 95%	<i>Anaplasma spp.</i>	(%)	IC 95%
Artigas	22	63,0	35,9 - 83,8	35	99,1	93,5 - 99,9	21	59,4	32,9 - 81,3
Canelones	4	12,5	3,07 - 39,3	10	46,4	22,8 - 71,7	1	0,5	0,1 - 3,9
Cerro Largo	21	73,7	43,9 - 91,0	30	99,2	93,8 - 99,9	12	45,8	21,0 - 72,8
Colonia	4	5,5	1,6 - 17,0	8	18,6	7,5 - 39,3	7	11,4	4,1 - 28,1
Durazno	18	32,7	15,9 - 55,7	30	99,2	94,4 - 99,9	14	39,1	17,6 - 65,8
Flores	11	44,0	14,4 - 78,5	14	56,5	20,2 - 87,0	3	8,4	1,8 - 31,6
Florida	2	5,9	1,4 - 22,1	8	20,6	9,1 - 40,2	11	19,3	8,8 - 37,2
Lavalleja	3	8,8	2,6 - 25,8	18	39,3	18,0 - 65,6	18	58,4	29,8 - 82,3
Maldonado	7	34,4	13,3 - 64,2	14	80,8	45,7 - 95,5	13	80,0	45,6 - 95,0
Paysandú	4	9,4	2,8 - 27,3	28	90,7	72,7 - 97,3	16	64,1	40,2 - 82,6
Río Negro	5	22,2	5,5 - 58,1	15	94,5	76 - 98,9	12	81,9	51,1 - 95,2
Rivera	10	38,2	15,3 - 67,9	18	98,3	87,8 - 99,8	13	84,5	60,5 - 95,1
Rocha	15	49,4	26,4 - 72,7	28	73,9	45,8 - 90,5	19	60,9	36,2 - 81,0
Salto	12	24,5	8,3 - 53,7	32	70,7	37,8 - 90,6	22	55,0	28,4 - 79,0
San José	4	5,0	1,6 - 14,8	9	23,2	8,4 - 50,0	5	4,5	1,5 - 12,7
Soriano	0	0,0	-	2	5,0	0,9 - 23,6	4	27,8	8,3 - 62,2
Tacuarembó	14	28,1	12,4 - 51,8	41	71,6	45,5 - 88,4	33	73,5	49,5 - 88,7
Treinta y tres	5	35,3	10,4 - 72,9	18	100,0	-	15	96,9	89,2 - 99,2
Total Positivos	161	26,8	21,5 - 32,9	358	63,7	56,7 - 70,1	239	46,2	39,4 - 53,1
Total Negativos	362	73,2	67,1 - 78,5	165	36,3	29,9 - 43,3	284	53,8	46,9 - 60,6

Número de observaciones= 523; población representada= 29503 est. *Frec. Est. Pos.= Frecuencia de establecimientos positivos.

El porcentaje de establecimientos positivos a hematozoarios según estrato bovino se analizó con la proyección de svy data los resultados se presentan en el siguiente cuadro XVIII con sus respectivos IC 95%.

Cuadro XVIII: Porcentaje de establecimientos positivos a hematozoarios por estrato bovino, Uruguay (2016).

Estrato Bovino	Est. Pos. <i>B. bovis</i>		Est. Pos. <i>B. bigemina</i>		Est. Pos. <i>Anaplasma spp.</i>	
	Media (%)	IC 95%	Media (%)	IC 95%	Media (%)	IC 95%
Ganadería 0-200	20,8	13,1- 31,4	57,1	45,8- 67,8	45,5	34,6- 56,7
Ganadería 201-800	40,0	31,9- 48,7	80,8	73,0- 86,7	53,1	44,4- 61,5
Ganadería > de 800	38,0	31,8- 44,6	84,6	79,2- 88,8	54,3	47,7- 60,8
Lechería 0-50	3,3	0,5- 20,8	26,7	13,7- 45,4	20,0	9,1- 38,4
Lechería 51-250	16,1	6,7- 33,8	22,6	11,0- 40,8	9,7	3,1- 26,5
Lechería > de 250	8,8	2,8- 24,4	20,6	10,0- 37,7	17,7	8,0- 34,5

Número de observaciones= 523; población representada= 29503 est.; grados de libertad= 517.

Análisis de variables asociadas a la presencia de garrapatas y seroprevalencia predial

Los análisis univariado (OR) y multivariado (Regresión Logística) de establecimientos positivos-negativos a hematozoarios como variables dependientes, incluyen el estudio de las siguientes variables independientes:

- Ubicación en zona de control de garrapata y Regiones dentro de la ZC.
- Presencia de garrapatas en los últimos 5 años.
- Voluntad de controlar (convivir) las garrapatas.
- Utiliza del tratamiento generacional.
- Utiliza de hemovacuna.
- No utiliza agujas descartables.
- Aplica tratamiento para mosca de los cuernos (pour-on, inmersión o aspersion).
- Utiliza Lac-macro para el control de endoparásitos.
- Asesoramiento veterinario permanente y vinculado al control de garrapatas.

Resultados del análisis

Se calculó el efecto de la zona, considerando el encontrarse ubicados en ZC como factor de exposición sobre resultar establecimiento positivo a alguno de los hematozoarios. Se obtuvieron los siguientes resultados expresados en cuadro XIX. En un análisis más detallado, se evalúa el efecto de la región, considerando como referencia la zona libre de garrapatas (región sureste). Los resultados se presentan en cuadro XX.

Cuadro XIX: Odds Ratio, establecimientos positivos en zona de control de garrapatas, Uruguay (2016).

Establecimiento Positivo	OR	IC 95%	Chi2- P=
<i>B. bovis</i>	4,07	2,49- 6,83	0,00
<i>B. bigemina</i>	21,57	13,09- 35,67	0,00
<i>Anaplasma spp.</i>	7,41	4,67-11,92	0,00

Cuadro XX: Regresión logística, efecto de la región sobre establecimientos positivos a cada hematozoario, Uruguay (2016).

<i>B. bovis</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Suroeste	Referencia		
Litoral oeste	3,91	0,01	1,52- 10,06
Norte	6,03	0,00	2,47- 14,72
Este	4,13	0,00	1,62- 10,52
cons	0,12	0,00	0,06- 0,23
<i>B. bigemina</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Suroeste	Referencia		
Litoral oeste	16,50	0,00	5,33- 51,08
Norte	17,94	0,00	5,95- 54,12
Este	6,03	0,00	2,54- 14,29
cons	0,41	0,00	0,24- 0,69
<i>Anaplasma spp.</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Sudoeste	Referencia		
Litoral oeste	13,67	0,00	5,96- 31,39
Norte	12,76	0,00	5,60- 29,06
Este	21,40	0,00	8,90- 51,43
cons	0,12	0,00	0,06- 0,21

Se observaron efectos significativos de la presencia de garrapatas sobre resultar establecimientos positivos a los hematozoarios (Chi2- p= 0,00). Los resultados son los siguientes: Est. Pos. *B. bovis* OR: 2,36 (IC 95% 1,56- 3,57); Est. Pos. *B. bigemina* OR: 10,1 (IC 95% 5,50- 19,70) y Est. Pos. *Anaplasma spp.* OR: 3,41 (IC 95% 2,29- 5,10).

La voluntad de controlar (convivir) las garrapatas, admitiendo la presencia de niveles compatibles con la producción, no ejerció efectos significativos sobre las probabilidades de resultar positivos a hematozoarios (Chi2- P< 0,05).

La utilización del TG tuvo efectos sobre las probabilidades de ser establecimiento positivo a las babesias, pero no para *Anaplasma spp.*, los resultados se muestran en cuadro XXI.

Cuadro XXI: Efecto de utilización del tratamiento generacional sobre resultar establecimientos positivos a hematozoarios, Uruguay (2016).

Establecimiento Positivo	OR	IC 95%	Chi2- P=
<i>B. bovis</i>	1,76	1,03- 2,99	0,03
<i>B. bigemina</i>	2,90	1,26- 7,48	0,01

<i>Anaplasma spp.</i>	1,05	0,63- 1,77	0,84
------------------------------	------	------------	------

La utilización de hemovacunas tuvo efectos significativos sobre los establecimientos positivos a *Anaplasma spp.* (Chi 2- P= 0,004) con un OR de 5,58 (IC 95% 1,5-3,08). No se observaron efectos significativos sobre establecimientos positivos a *B. bovis* y *B. bigemina* (Chi2- P <0,05).

El no utilizar agujas descartables ejerció efecto sobre resultar establecimientos positivos a *B. bovis* (Chi2- p= 0,03) con un OR de 2,77 (IC 95%: 1,04-8,64). Llamativamente este efecto no fue significativo sobre los establecimientos positivos a *B. bigemina* (Chi2- P= 0,47) ni *Anaplasma spp.* (Chi2- P= 0,51).

El tratamiento para mosca de los cuernos (*H. irritans*) con métodos de inmersión, aspersión o “pour-on” y la utilización de LM para el tratamiento de endoparásitos no ejercieron efectos significativos sobre establecimientos positivos a hematozoarios (Chi2- P<0,05).

La relación entre resultar establecimiento positivo y el asesoramiento veterinario se presenta en Cuadro XXIII.

Cuadro XXII: Efectos del asesoramiento veterinario sobre establecimientos positivos a hematozoarios (regresión logística), Uruguay (2016).

<i>B. bovis</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Vet- Permanente	0,34	0.04	0,12 -0,95
Vet- Garrapatas	1,95	0.09	0,91- 4,18
_cons	0,68	0.43	0,27- 1,76
<i>B. bigemina</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Vet- Permanente	0,29	0.06	0,08- 1,06
Vet- Garrapatas	6,26	0.00	2,56- 15,29
_cons	3,99	0.02	1,23- 1,29
<i>Anaplasma spp.</i>	Odds Ratio	P>t	IC 95%
Vet- Permanente	0,46	0.15	0,15- 1,34
Vet- Garrapatas	2,43	0.02	1,11- 5,29
_cons	1,41	0.46	0,56- 3,57

DISCUSIÓN

La encuesta realizada estuvo enfocada a productores rurales, con el 67 % de respuestas por parte de los propietarios o familiares del mismo y en un porcentaje amplio (22%) de respuestas por parte de los encargados del establecimiento. Se desconoce el nivel de formación técnica de los productores y encargados, por lo que nuestros resultados no expresan estrictamente decisiones técnicas. Sin embargo, reflejan algunos aspectos de lo que ocurre a nivel de campo, y cobran relevancia dada la gran participación de los productores en la toma de decisión sobre tratamientos, compra y utilización de productos veterinarios.

La población bovina representada refleja con bastante exactitud los datos presentados en la declaración jurada del 2016, año de la encuesta. Las razas bovinas presentes en el país son casi en su totalidad de biotipo *Bos taurus*, con muy escasos establecimientos en los que se menciona como raza secundaria la cruce con *Bos indicus*. Esta ampliamente documentado el efecto de la raza bovina sobre el desarrollo de la garrapatas y la tasa de transmisión de hematozoarios (Bock et al., 1999a; Bock et al., 1999b; Jonsson et al., 2008; Jonsson et al., 2014), por lo que el bajo porcentaje de cruces índicas puede ser un factor que influye en la persistencia de la garrapata y la TP en Uruguay. En esta línea la incorporación de razas índicas, podría ser una estrategia a reforzarse en las campañas de lucha de garrapatas.

Una proporción importante de productores dicen tener asesoramiento veterinario, ya sea en forma eventual o permanente. Consideramos que este dato remarca el importante rol que pueden cumplir los veterinarios liberales en las campañas de control. Hoy en día es impensado plantear campañas contra la garrapata, en las que el estado se encargue de las acciones en su totalidad (tipo asistencialistas). Por el contrario, es fundamental la participación de los profesionales liberales. La acreditación por parte del MGAP de veterinarios liberales para participar en las campañas de control de garrapatas, es parte de las acciones que se están llevando a cabo.

Garrapatas y grado de infestación

Sobre la presencia de garrapatas entre zonas las diferencias fueron significativas, resultado que era esperable dado que el país se encuentra en una campaña activa de control de garrapata. La proporción de establecimientos que afirmó haber tenido el ectoparásito en zona libre es muy baja (0,1%) y corresponden particularmente a establecimientos ubicados en el límite con zona de control. Sin embargo, no dejan de ser un ejemplo claro del riesgo de introducción del parásito en ZL. En los años 2016, 2017 y 2018 el MGAP registró respectivamente, un total de 43, 28 y 20 denuncias de presencia de garrapatas en los seis departamentos que se encuentran en ZL (Datos obtenidos del SISA- Dirección de Sanidad Animal MGAP- Fuellis C. y Luengo L., comunicación personal, 2018). En el caso particular del departamento de Durazno, en el presente trabajo se lo consideró en ZC, para facilitar el análisis de los datos. Este departamento suele considerarse en forma parcial en ZL, con algunas secciones policiales todavía en lucha activa (Miraballes & Riet-Correa, 2018). Por este motivo en

este departamento se registran con mayor frecuencia denuncias, que fueron 27, 8 y 12, en los mencionados años respectivamente. La mayor parte de estas denuncias se generan a partir del control y despacho de tropa, donde veterinarios acreditados por el ministerio revisan las tropas de animales, previo a su movimiento hacia otro destino, o durante el traslado en puestos de control en puntos estratégicos establecidos en las rutas. También algunas denuncias se encuentran vinculadas a brotes de tristeza parasitaria, que alertan a propietarios por la repentina muerte de animales. La frecuencia de denuncias anuales es relativamente baja y va en descenso, más aun si consideramos que en ZL la cantidad de tenedores de bovinos, entre ganadería y lechería, superaron los 13,6 mil en el año 2016 (MGAP, 2016).

La distribución geográfica observada sobre la presencia de garrapatas es acorde a la esperada según lo descrito por Errico et al. (2009); lo que es llamativo es la gran variabilidad entre departamentos y seccionales policiales. Esto podría explicarse en parte por la diversidad de ambientes, la presencia de montes, zonas quebradas y áreas inundables. Otro factor puede ser el manejo particular de cada predio, con variantes referidas al control de garrapatas, manejo de pasturas y a la carga de animales, que modifican la tasa de encuentro de la garrapata y el bovino e impactan sobre la supervivencia del artrópodo (Nava et al., 2013). En cuanto al grado de infestación, no fue posible realizar un conteo de garrapatas sobre los animales que permita cuantificar con mayor exactitud el problema. Además, la cantidad de garrapatas puede variar considerablemente entre año y en los diferentes meses del año. El resultado obtenido de la encuesta es estrictamente relativo, pero otorga datos estimativos sobre la problemática de la garrapata, donde casi el 15 % de los encuestados afirman tener cargas altas o medias, que a nuestro entender reflejan una falta de control del parásito.

Tratamiento con acaricidas

Un porcentaje muy grande de los productores pretende erradicar las garrapatas de sus rodeos, aunque las estrategias no se encuentran muy bien definidas. En la mitad de los casos, la elección del producto acaricida está apoyada por un profesional veterinario, resultados que son coherentes con los reportados sobre el asesoramiento profesional y vinculado al control de garrapatas. En este punto remarcamos que un porcentaje considerable de productores (32,7%) se asesoran por el proveedor de productos veterinarios, lo cual representa un riesgo dado que en muchos casos los vendedores no conocen la situación del establecimiento. Este dato afirma lo planteado por Cuore et al. (2012) que infieren que en numerosas oportunidades el comercio veterinario es el que asesora sobre la elección del producto acaricida. El momento del año en que se aplican los tratamientos no está bien definido, con un porcentaje superior a la mitad de encuestados que aplican tratamiento por calendario y muchos tratan al observar garrapatas. Este aspecto es un punto en el que debemos centrar la atención, debido a que una de las mejores estrategias para un correcto control de la garrapata es el tratamiento realizado a tiempo sobre las primeras generaciones de garrapatas. Numerosos trabajos respaldan esta teoría (Cuore et al., 2012; Nava et al., 2014; Nava et al., 2015; Morel et al., 2017) y demuestran que la utilización de tratamientos en el inicio de la primera

generación permiten reducir notoriamente el número de aplicaciones con un nivel de control aceptable y compatible con la producción. Esta estrategia también fundamenta en parte el tratamiento generacional, que además permite controlar y erradicar poblaciones de garrapatas resistentes (Cuore et al., 2012; Cuore et al., 2015). Como ya se ha mencionado, consideramos imposible plantear estrategias de control de parásitos sin la participación de los asesores veterinarios liberales, por lo que reafirmamos la necesidad de seguir trabajando con los asesores veterinarios y del comercio, para establecer el correcto uso, en tiempo y forma, de los compuestos acaricidas. De esta manera plantear estrategias de control claras y adaptadas a cada sistema productivo.

En cuanto a las formas de aplicación de productos, la más utilizada en forma única o alternada fue la inyectable, seguida por “pour-on”. Esos resultados se deben probablemente a la gran cantidad de productos comerciales disponibles actualmente con estas presentaciones y la practicidad de uso (Productos Veterinarios- DILAVE, 2018). Diferencias importantes se observan con Argentina, donde Guglielmone et al. (2007) mencionan que los baños de inmersión y la vía tópica eran las formas de aplicación más usadas, con cerca del 36% de los productores que las utilizaban. Este tipo de aplicación se vio muy ligado a los compuestos activos más empleados en el mencionado país. Consideramos que estas diferencias pueden no ser tan acentuadas en este momento, dado que los productos acaricidas han evolucionado en los últimos 10 años y la aparición de resistencia a numerosos compuestos activos ha impulsado el cambio de compuestos químicos y por consiguiente las formas de aplicación.

Cerca del 30 % de los que realizan tratamientos utilizan baños de inmersión, representando a 2085 establecimientos. Estimamos que este tipo de práctica estaría decreciendo si tenemos en cuenta que según el censo DIEA 2000 Uruguay contaba con 5282 baños de inmersión para el ganado. Un estudio reciente realizado en Artigas, donde se incluyeron 88% de los establecimientos del departamento, reporta la presencia de 525 baños, con aproximadamente el 75% en actividad (Iriarte et al., 2018). Aunque se trata de una opción terapéutica muy buena, con una relación costo beneficio favorable, su uso podría estar disminuyendo por limitaciones prácticas y aparición de resistencia a los productos disponibles para esta forma de aplicación (Cuore et al. 2017). En cuanto a las medidas de manejo de los baños, nuestros resultados indican que cerca del 49 % de los productores limpian y cambian los baños anualmente, más del 30 % lo hace cada más de un año y 21 % realizan análisis. Estas proporciones se han modificado de las observadas en estudios previos donde un 59% de los baños eran limpiados y preparados anualmente, el 26 % cada dos años y 15 % en forma esporádica (Gil & Piaggio, 2007; Nari, 2011). Un punto llamativo es que un quinto de los productores comenzó a realizar análisis, lo que probablemente refleja una conciencia de la manipulación de compuestos químicos, aunque es necesario seguir trabajando fuertemente en las prácticas de manejo y residuo de estos compuestos.

Los grupos de acaricidas más empleados solos y o alternados fueron las LM (169/269), el fipronil (152/269) y amidinas (65/269); remarcando que los grupos más usados se utilizan principalmente alternados (LM/fipronil). Esto está fuertemente relacionado con

lo expuesto sobre las formas de aplicación más empleadas, que justamente son la inyectable y “pour-on”. Nuevamente nuestros resultados fueron diferentes a los expuestos en Argentina donde se observa un uso predominante de piretroides, seguidos de formamidinas (amidinas) (Guglielmone et al., 2007). Probablemente los piretroides han caído en desuso en Uruguay debido al alto número de poblaciones resistentes a estos principios activos. Saporitti, en comunicación personal (2018), mencionó registros de 46 poblaciones con algún grado de resistencia a piretroides de 47 analizadas e Iriarte et al. (2018) reportaron un 97,8% de poblaciones resistentes a la cipermetrina de 45 poblaciones analizadas en Artigas. Estos resultados demuestran la gran difusión de la resistencia de *R. microplus* a estos grupos químicos (piretroides) en Uruguay y explica la menor frecuencia de utilización. Por último, la alta frecuencia de utilización de LM, solas y alternadas principalmente con fipronil, debe ser tomada en consideración, dado que ya existen numerosas poblaciones resistentes reportadas a estos principios activos (Cuore, 2006; Cuore et al. 2013a; Iriarte et al. 2018).

Vinculado a la rotación de compuestos activos, la totalidad de los encuestados respondieron que rotan los productos. El motivo de la rotación es variable, cerca de un cuarto no tienen causas definidas por las cuales rotan los productos y un 11 % afirman percibir fallas, aunque se desconoce si realizan diagnóstico de esas fallas. Los resultados sobre rotación se contradicen notoriamente con lo expuesto sobre los principios activos usados, donde poco más del 50 % de los establecimientos expresaron utilizar un solo principio activo. De esta pregunta deducimos que existe un grado de desconocimiento sobre los productos que se emplean y el concepto de rotación e inferimos que algunos productores cambian los productos comerciales (laboratorio fabricante) sin rotar los principios activos y en numerosas oportunidades desconocen los productos que utilizan.

El tratamiento generacional es utilizado por el 17,5 % de los productores, este porcentaje varía significativamente por zonas y asciende al 21 % cuando se evalúa la zona de control en forma independiente. El grado de adopción de esta tecnología es bajo entre los encuestados y remarca la importancia de la difusión de estos conocimientos, tanto entre productores como veterinarios. El 42 % de los encuestados en zona de control dicen no conocer el TG, nuevamente este refleja la necesidad de promover los conocimientos en el tema. En departamentos endémicos de garrapata, numerosos establecimientos realizan más de ocho tratamientos anuales y presentan poblaciones de garrapatas resistentes a múltiples principios activos (Iriarte et al., 2018; Miraballes & Riet-Correa, 2018). Con el tratamiento generacional es posible reducir el número de aplicaciones y controlar poblaciones multirresistentes (Cuore et al., 2012; Cuore et al., 2015). Consideramos que las campañas realizadas para promover las estrategias de control de la garrapata y TP que se llevaron a cabo en los últimos años, en fuerte colaboración del MGAP e INIA, pueden cambiar esta realidad y será de suma importancia evaluar la situación en años futuros.

Enfermedades Transmitidas por garrapatas, diagnóstico y prevención

Es relativamente bajo el porcentaje de productores que denuncian tener casos de TP (16,9%), particularmente cuando lo comparamos con estudios realizados en Argentina o Australia, donde un 75% (Morel, 2017) y 73% (Sserugga et al., 2003) reportan casos confirmados en algún momento en el pasado. Uno de los motivos puede ser el bajo porcentaje de diagnósticos, que también corresponde con la cantidad de casos confirmados (13) expresados en la encuesta. Este es un dato importante, dado que se trata de una patología de fácil diagnóstico y de bajos costos. Además, la TP representa la segunda enfermedad en número de diagnósticos registrados en la gran mayoría de los laboratorios regionales de DILAVE en zona de control. Estos datos sugieren que, el complejo de TP está siendo sub-diagnosticado y es importante seguir trabajando en promoción del diagnóstico etiológico y diferencial. Son diferenciales todas aquellas enfermedades que produzcan fiebre, muerte súbita, ictericia, anemia y hemoglobinuria (Mastropaolo, 2014; Solari et al., 2013), como por ejemplo hemoglobinuria bacilar, carbunco, mancha, leucosis enzoótica bovina, leptospirosis, plantas hepatotóxicas, entre otras, por lo que la realización de necropsia y el empleo de técnicas de laboratorio son fundamentales para confirmar los casos.

Se observa una amplia variabilidad en la cantidad de muertos por brote, con una media cercana a los 9 animales. Debido a que no se trata de un estudio de brotes, no hubo un abordaje puntual de cada caso y no es posible calcular tasas o pérdidas económicas referidas a muertes, aunque son datos que sirven para ejemplificar las pérdidas directas producto de este complejo. La estacionalidad de brotes registrada a lo largo del año es acorde a lo reportado en el país y en la región, obedeciendo claramente al ciclo biológico de *R. microplus*, principal transmisor de los hematozoarios. Probablemente muchos de los casos que se reportan en invierno o primavera pueden ser brotes de anaplasmosis, transmitida en forma iatrogénica o por insectos hematófagos, dado que este agente no presenta una estacionalidad tan marcada en su presentación (Guglielmone et al., 1997). También eventualmente pueden ocurrir casos de babesiosis transmitida en forma temprana por larvas de la primera generación de garrapatas o en forma tardía cuando las temperaturas ambiente permiten la eclosión de larvas entrado el invierno.

La principal tecnología disponible para el control y profilaxis de TP es una vacuna viva atenuada trivalente, que se encuentra disponible en el país hace varias décadas y presenta eficacia comprobada (Smith et al., 2006; Solari, 2006; Solari et al., 2013; Florin-Christensen et al., 2014; Miraballes et al., 2018a). Sobre el grado de conocimiento y adopción de esta tecnología se observó que solo el 6,5% de los encuestados la utilizan, y más del 82 % no la conocen. Los motivos del escaso empleo de esta vacuna parecen deberse principalmente al desconocimiento, y en menor medida a la falta de practicidad (por tratarse de una vacuna viva). Los costos actuales de la vacuna no serían un impedimento para su uso en más de la mitad de los encuestados. Se sospechaba que la vacuna era utilizada por un porcentaje bajo de productores, sobre todo en base a cifras estimadas de la comercialización anual de dosis, que permiten

estimar una cobertura de vacunación de terneros que oscila el 1% de los nacidos en un año (Nari, 2011; Miraballes & Riet-Correa, 2018). Las campañas de difusión que se están llevando a cabo ponen uno de sus focos en la utilización de la hemovacuna, por lo que se registró un ascenso en el número de vacunas comercializadas en los años 2017 y 2018 (Solari, comunicación personal, 2018). Es necesario impulsar aún más el correcto empleo de la hemovacuna y esto debe ir acompañado de mejoras en los procesos que permitan prolongar la durabilidad del producto, ampliar la escala de producción y minimizar los costos.

Sobre otros parásitos

Sobre la importancia que los productores otorgan a los diferentes parásitos, la mosca de los cuernos (*H. irritans*) lidera el listado a nivel general, en segundo y tercer orden se encuentran los NGI y la mosca de la bichera, por último, la garrapata y *F. hepatica*, con iguales porcentajes. La garrapata se encuentra ubicada en el segundo lugar cuando se analiza la ZC, pero como ya se expuso, a nivel general, no es considerada entre las parasitosis de mayor relevancia. Esta evaluación refleja la percepción de los productores y no tiene estrictamente un correlato económico, dado que existen datos en el país que mencionan a la garrapata como el parásito que mayores pérdidas económicas produce (Avila, 1998). Por otro lado no contamos con datos del impacto económico producido por NGI en ganado bovino del país, pero estudios realizados en Brasil mencionan los NGI como los de mayor impacto, seguidos por la garrapata como el segundo en importancia económica (Grisi et al., 2014). En relación a la mosca de los cuernos, se sabe que está ampliamente difundida desde hace varias décadas en el país, pero no se cuenta con datos de su impacto económico. Sin embargo existen estudios de dinámica poblacional que señalan que las poblaciones de moscas en Uruguay no son lo suficientemente grandes como para afectar la ganancia de peso en explotaciones extensivas, aunque estas poblaciones pueden ser puntualmente altas en algunos momentos del año y tener impacto productivo (Castro, 2003). De esta manera los resultados de la encuesta reflejan la sensibilidad de los productores frente a los parásitos evaluados y cómo resulta una complicación en las actividades diarias de la producción.

En cuanto a los tratamientos que se emplean para el control de *H. irritans*, es llamativa la alta frecuencia de utilización de piretroides, sobre todo teniendo en cuenta los numerosos reportes de resistencia a estos compuestos en el país desde hace más de dos décadas (Marques et al., 1997; Cuore et al., 2013b; Castro-Janer et al., 2014). La utilización de piretroides en forma repetida para el control de moscas es un factor importante en la selección dípteros resistentes y también puede estar influyendo en la selección de garrapatas resistentes a estos compuestos activos, que como se ha mencionado llegan a superar el 95% de las poblaciones en algunos departamentos del país (Iriarte et al., 2018). El motivo por el que se decide realizar tratamientos es principalmente el número alto de moscas y el comportamiento intranquilo de los animales. Este es un criterio práctico para definir tratamiento y sin duda el más sencillo de aplicar en establecimientos lecheros. De todas formas, es más recomendable realizar el conteo de moscas, sobre un porcentaje de animales, para aplicar tratamiento cuando

se supera un determinado número de insectos por animal que pueden afectar la producción. Este número o punto de corte establecido es de aproximadamente 100 moscas en rodeo de leche y 200 en rodeo cárnico (Anziani & Suárez, 2013). Además es importante considerar que las moscas suelen distribuirse en forma muy heterogénea entre los animales, parasitando particularmente a algunos individuos, por lo que el uso de tratamientos estratégicos sobre algunos animales puede ser efectivo (Miraballes et al., 2018b). Estas son algunas medidas que tienden a reducir el número de aplicaciones y evitar los tratamientos con niveles de moscas que son compatibles con buenos niveles productivos.

Cerca del 70% de los encuestados utilizan LM para el tratamiento de endoparásitos. Las categorías que reciben mayormente tratamiento son los terneros y animales de sobre año, pero un porcentaje considerable (62%) menciona tratar a la categoría adultos. Estas medidas de control de parásitos internos en categoría adulto pueden resultar excesivas debido a que existe una sólida respuesta inmune que desarrollan los animales adultos a los NGI a través de la continua exposición a infecciones parasitarias (Michel et al., 1979). Este tipo de acciones, incrementan notoriamente la cantidad de productos químicos que se aplican y pueden ayudar al desarrollo de resistencia de estos y otros parásitos. El primer reporte de resistencia de *R. microplus* a lactonas macrocíclicas registrado en el país fue en el año 2010 y posteriormente se han seguido identificando poblaciones multiresistente (Cuore et al., 2013a; Cuore & Solari, 2014; Iriarte et al., 2018). Como ya se mencionó, los bovinos adultos desarrollan una resistencia natural a los NGI, por lo que se sabe que el tratamiento en esta categoría, si bien no es perjudicial, tampoco ejerce efectos positivos notorios. Por otro lado, en el caso puntual de la garrapata, los animales adultos albergan las mayores cargas parasitarias (Jonsson et al., 2008), por lo que en esta categoría de animales, la utilización de LM podrían ser estratégicamente utilización en el control de garrapatas como parte del TG y evitar su utilización en otros momentos.

Por lo arriba expuesto se considera oportuno remarcar el concepto de control integrado de parásitos (CIP), donde el abordaje terapéutico se realiza considerando la biología de los principales parásitos que afectan los animales en su conjunto. Para una correcta implementación del CIP, es fundamental realizar un diagnóstico del establecimientos, definir y priorizar los parásitos a ser controlados (“target”), identificar posibles problemas de resistencia ya establecidos, elaborar una banco de datos y definir una estrategia de control de acuerdo a las posibilidades del implementación y voluntad del productor (Nari, 2011).

Seroprevalencia individual y predial

En el presente trabajo no se analizó la situación de estabilidad o inestabilidad de los rodeos, dado que ese cálculo solo puede aplicarse a población de animales jóvenes, de hasta 9 meses de edad, basado en la tasa de inoculación de hematozoarios por la garrapata en un determinado año de estudio (Mahoney & Ross, 1972; Sserugga et al., 2003). Se obtuvieron datos de seroprevalencia individual para los tres hematozoarios,

sobre una muestra de sueros de ganado bovino adulto de Uruguay. El diseño del muestreo permitió realizar proyecciones de los resultados a la población ganadera, lo que genera información sobre la prevalencia individual de *B. bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma* spp. en bovinos de todo el país. Además, se generaron mapas con niveles de seroprevalencia media de la sección policial para cada hematozoario. Estos mapas exponen la gran variabilidad de seroprevalencia que existe en los diferentes departamentos y reflejan en cierta forma la distribución de la garrapata y el alcance de la TP descriptas previamente (Errico et al., 2009).

Como era esperado la seroprevalencia media entre zonas (ZC vs. ZL) fueron significativamente diferentes, pero se mantuvieron las relaciones, donde *B. bigemina* siempre fue el agente más prevalente, seguido de *Anaplasma* spp. y por último *B. bovis*. Estos resultados coinciden con los reportados por otros autores en el país y la región, donde la seroprevalencia de *B. bigemina* siempre predomina sobre *B. bovis*, en tanto que la presentación de casos clínicos ocurren en forma inversa (De Almeida et al., 2006; Solari et al., 2013; Mastropaolo, 2014; Aráoz et al., 2017; Morel, 2017). Este fenómeno se puede explicar por la mayor patogenicidad de *B. bovis*, que generalmente se asocia a brotes agudos y casos fatales, donde muchos animales mueren y no llegan a la adultez. Por su parte *B. bigemina* suele cursar con enfermedad más leve, con recuperación de animales, los cuales luego presentan anticuerpos protectores. Además, *B. bigemina* se encuentra más ampliamente distribuida en las poblaciones de garrapatas, en parte por una mayor tasa de infestación del artrópodo (Mahoney & Mirre, 1971), por lo que llega a generar una situación de mayor estabilidad que *B. bovis*. En tercer lugar, es importante mencionar que dadas las características de la técnica (especificidad baja para *B. bigemina*), podemos estar considerando un número alto de falsos positivos. Este dato fue ajustado con el cálculo de prevalencia real, que suaviza las diferencias, aunque sigue habiendo un predominio de *B. bigemina*.

Por su parte, los casos de *A. marginale* suelen cursar con un cuadro anemizante progresivo, tendiendo a crónico, que resulta en animales portadores, lo que favorece la presencia de animales positivos en los rodeos. Estos animales aumentan el riesgo de contagio por transmisión iatrogénica y por otros artrópodos lo que puede tener un gran efecto difusor de este agente. Un buen ejemplo de este riesgo es el creciente número de casos de anaplasmosis reportados en el país (Cresci et al., 2018) y en países vecinos como Argentina en zonas libres de garrapata (Cora Ibarra et al., 2108).

Al trabajar con pruebas diagnósticas, que no son perfectas, la Se y Sp de las mismas influyen sobre los resultados. Para evaluar la prevalencia predial se estableció como punto de corte la presencia de al menos un animal positivo (reactor a la técnica utilizada) en el establecimiento. Este valor fue establecido en un intento de adoptar un criterio comparable con estudios previos realizados en el país, que evaluaban principalmente la dispersión, establecida como la proporción de establecimientos positivos a hematozoarios, donde se considera positivos aquellos establecimientos con uno o más animales positivos a la prueba serológica empleada (Cardozo et al., 1992). Este punto de corte, junto con la media de muestras analizadas y la población promedio

de animales permiten hacer los cálculos de Herd-Se y Herd-Sp, con el fin de cuantificar la probabilidad de que el establecimiento resulte verdaderamente positivo o negativo, en base a individuos reactivos a la prueba diagnóstica. De esta manera Herd-Se aumenta cuando la Se de la prueba se acerca al 100% y en número de animales analizados se incrementa (Martin et al., 1992). En nuestro análisis el principal inconveniente se nos planteó para establecer el punto de corte para *B. bigemina*, debido que la técnica utilizada presenta Se elevada (99%), pero Sp establecida no fue tan buena (79%). El aumentar el punto de corte, nos permitiría disminuir el valor de Herd-Se y aumenta el de Herd-Sp, aunque en este caso puntual sería necesario trabajar con un punto de corte muy elevado (<3) para lograr niveles de Herd-Sp aceptables (65%). Por este motivo, se decidió unificar el punto de corte en “1”, priorizando resultados que puedan ser presentados en forma más clara, comparables entre los diferentes agentes y con reportes previos.

Cuando revisamos estudios sero-epidemiológicos previamente realizados en el país, uno revela una dispersión para *B. bovis* de 70,5% (\pm 8,8%) en el departamento de Lavalleja (Cardozo et al. 1992). En el presente trabajo la prevalencia predial para *B. bovis* en el mencionado departamento es del 8,8%, cifra que contrasta con la reportada previamente, aunque debemos considerar que el presente muestreo fue diseñado para inferir sobre la población nacional, por lo que al analizar los datos a nivel de departamento se incurre en mayor error. El mismo autor menciona una prevalencia individual media de 3,4% (\pm 1,1%) para *B. bovis* en animales adultos en una sección policial y prevalencias que llegan a 5,6 % en establecimientos con 100-500 animales. Nuestros resultados concuerdan con los reportados para este agente en la zona mencionada y tipo de explotación. Datos más recientes de dispersión de hematozoarios en un área de estudio más extensa, sobre 169 establecimientos, 65,7% resultaron positivos a *Babesia* spp, y 74% a *Anaplasma* spp (Solari et al., 2013). En nuestro trabajo la prevalencia predial presentó variaciones entre los agentes y para los diferentes departamentos, pero a nivel general más del 75% de los establecimientos resulto positivo a algún agente. Estos datos no difieren mucho de los expuestos por Solari et al. (2013) y tampoco se alejan de proporciones reportadas previamente en Uruguay (Montenegro-James, 1992). Otro dato llamativo es que de los establecimientos que resultaron negativos a los tres agentes un 17,6% se encuentran en ZC. Estos predios estarían en una situación controlada, pero tiene altos riesgos de sufrir brotes graves en el caso de introducir animales con garrapata o infectados. Por el contrario de los establecimientos positivos a algún hematozoario, el 19,4% de encuentra en ZL, lo que también genera situaciones de riesgo de brotes. De estos resultados inferimos que la dispersión de los hematozoarios en el país se mantuvo estable a lo largo de las últimas décadas, aunque siguen representando un gran riesgo para la salud del ganado de Uruguay.

De lo arriba expuesto rechazamos la hipótesis planteada de prevalencia predial inferior al 60% a nivel general. Aunque cuando analizamos los resultados de cada agente en forma independiente se observa que para *B. bovis* y *Anaplasma* spp. no se supera este

porcentaje (26,8% y 46,2% respectivamente), por lo que no se rechazaría la hipótesis en forma independiente. En el caso particular de *B. bigemina* el porcentaje de establecimientos positivos es de 63,7%, por lo que para este agente si se rechaza la hipótesis en forma independiente. Una posible explicación a los niveles bajos de prevalencia predial encontrados es que se analizaron establecimientos de todos los departamentos del país, incluso los de zona libre de garrapatas que tienden a disminuir los porcentajes generales. Sin embargo, cuando observamos en detalle cada departamento, vemos que para *B. bovis* sólo 2 departamentos superan el 60% de los establecimientos positivos y el departamento de Flores, ubicado en zona libre de garrapatas, presenta prevalencias que superan el corte en su IC95% superior. Analizando la seroprevalencia individual de este departamento encontramos que es relativamente bajas para los tres agentes (4,2%- *B. bovis*, 22%- *B. bigemina* y 1 %-*Anaplasma* spp.), es decir que los establecimientos positivos de este departamento tienen pocos animales positivos dentro de los rodeos. En el otro extremo encontramos departamentos como Tacuarembó o Salto que no llegan al 60% de prevalencia predial en su IC95% superior, pero con seroprevalencias individuales elevadas. Esto ejemplifica la gran variabilidad existente tanto en la distribución de garrapata y la seroprevalencia de hematozoarios, que dificultan mucho las estrategias de control.

Para *B. bigemina* todos los departamentos incluidos en la ZC de garrapatas y dos de ZL, en sus IC95% superiores, presentan prevalencia predial superior al 60%. Estos resultados concuerdan con los registrados de prevalencia individual para todos los departamentos y enfatiza la gran distribución de este agente en el país. De todas maneras, para este agente se debe considerar que se está trabajando con niveles bajos de Herd-Sp, por lo que podemos estar sobreestimando este dato. Por último, para *Anaplasma* spp. se observa prevalencia predial superior al 60% en siete departamentos, todos incluidos en ZC, pero el porcentaje general es inferior al 60%, aunque considerando los IC95% superiores 13 departamentos superan el 60%, lo que remarca su amplia distribución en el país y muy particularmente en los departamentos de la zona este.

La seroprevalencia individual y predial analizada por estratos presenta diferencias importantes entre los giros lechería y ganadería. Creemos que esto se explica principalmente por la distribución de los rodeos en el país. La cuenca lechera se encuentra en los departamentos de la zona suroeste, que coinciden con la ZL de garrapatas, por lo que la mayoría de los establecimientos lecheros están en menor riesgo de exposición de garrapata y TP. Sin embargo, se reportan casos de TP en rodeos de ZL y estos brotes cobran particular importancia en predios lecheros, donde las pérdidas pueden superar ampliamente a las reportadas en ganado de carne. La prevalencia, individual y predial medias, en el giro lechero no variaron notoriamente entre estratos.

Referido al giro ganadero, observamos que la seroprevalencia individual disminuye en los estratos de mayor población en tanto que la prevalencia predial se comporta a la inversa, con mayor cantidad de predios positivos en los estratos poblacionales más altos. Esto puede tener relación con las estrategias de control de la garrapata, que en los

establecimientos más pequeños suelen ser menos estrictos, lo que favorece la presencia de garrapatas y la mayor prevalencia individual. En tanto en los establecimientos grandes, es más probable encontrar animales positivos, pero tienden a tener prevalencias individuales más bajas y probablemente se encuentran en situación de mayor inestabilidad.

Asociación de variables a la presencia de garrapatas y seroprevalencia de hematozoarios

La razón de probabilidad de ser un establecimiento positivo, difieren significativamente entre zonas, regiones y para cada agente. Esto está fuertemente relacionado con la prevalencia de cada agente. Del análisis de las diferentes regiones dentro de la ZC, es llamativo como los OR muestran diferencias entre regiones. Particularmente para *B. bigemina* en el litoral oeste (OR: 16,5) y norte (OR: 17,94) son casi 10 veces más probables que en el este (OR: 6,03). Y en la región este los establecimientos tienen más chances de resultar positivos a *Anaplasma* spp. (OR: 21,4), en tanto que el litoral oeste y norte lo hacen en menor grado (OR: 13,67 y 12,76). Las regiones norte y litoral oeste, son las de mayor aptitud ecológica para el desarrollo de garrapata, por lo que son las reportadas como más altamente parasitadas (Cuore et al., 2013a), lo cual explica el mayor riesgo de serología positiva a *B. bigemina*. En el este, se desconocen las causas que generan mayores probabilidades de resultar establecimiento positivos a *Anaplasma* spp., pero podría existir un efecto de otros vectores, como insectos hematófagos, asociados a las zonas inundables que predominan en esta región. En el caso de *B. bovis* los OR no varía sustancialmente entre regiones (OR: 3,91 - 6,03).

La presencia y distribución de babesias está estrictamente ligada a la de su vector *R. micropus*, es así como encontramos que los establecimientos que dicen tener garrapatas, tienen 2,3 y 10,1 veces más chances de resultar positivos a *B. bovis* y *B. bigemina* respectivamente. En el caso de *A. marginale*, está altamente vinculada a la garrapata, y aunque no es la única forma de transmisión, representa la forma biológica más eficiente (Aubry & Geale, 2011). Es así que encontramos que los establecimientos con garrapata presentaron 3,4 veces más razón de posibilidad de resultar positivos a *Anaplasma* spp..

Medidas de control que permiten la presencia de algunas garrapatas sobre los animales no tuvieron efecto sobre resultar positivo a hematozoarios. Estos resultados son acordes a algunos conceptos bien estudiados que demuestran que la presencia de garrapatas no es estrictamente sinónimo de inmunización de los bovinos frente a hematozoarios (Sserugga et al., 2003; Mastropaolo et al., 2009). Por este motivo es fundamental seguir trabajando en la difusión de la hemovacuna, que es la principal herramienta de prevención disponible para la TP. Entendemos que los efectos observados de la utilización del TG en la seropositividad de *Babesia* spp. se sustentan en que estos establecimientos tienen un problema establecido de garrapatas, por lo que optaron por la utilización de este tipo de tratamientos para su control. Como es de esperar ante la presencia de garrapatas aumentan los riesgos de presencia de las babesias. Un estudio realizados en Australia menciona no haber tenido efectos de la utilización de

hemovacuna sobre la transmisión de *A. marginale* (Sserugga et al. 2003), en nuestro trabajo observamos que la hemovacuna ejerció efectos sobre la seropositividad a *Anaplasma* spp. Este efecto es difícil de explicar en forma aislada, aunque en parte puede deberse a la utilización de vacunas monovalentes (exclusivamente *A. centrale*) lo cual no fue especificado en la encuesta. Por otro lado, creemos que no tuvo efectos sobre *Babesia* spp. por su baja frecuencia de utilización, menos del 7% de los predios.

Otras medidas de manejo, como la utilización de agujas descartables, el tratamiento para mosca y NGI, no impactaron en forma significativa. La propagación de *A. marginale* en forma iatrogénica es cada vez más mencionada en la región (Cora Ibarra et al., 2108; Cresci et al., 2018), aunque en nuestro estudio el utilizar agujas descartables no tuvo efecto protector. Un motivo puede ser la baja proporción de establecimientos que utilizan rutinariamente agujas, por lo que los efectos encontrados pueden no ser reales.

El asesoramiento veterinario permanente ejercería un efecto protector sobre las probabilidades de resultar positivos a ambas babesias, pero consideramos que este efecto se puede deber a que un gran porcentaje de los establecimientos con veterinario permanente están en ZL de garrapatas. Como era esperable los establecimientos seropositivos a hematozoarios tiene mayor asesoramiento veterinario para garrapatas, nuevamente esto se explica por la ubicación de estos predios en zona endémica de *R. microplus*.

CONCLUSIONES

De lo expuesto concluimos que la distribución de la garrapata se encuentra en los márgenes establecidos en el 2008, con reportes esporádicos en ZL. La garrapata se distribuye en forma heterogénea dentro de la ZC, presentando gran variabilidad entre departamentos y secciones policiales. Así también la distribución de hematozoarios es muy variable, extendiéndose en mayor medida que la garrapata a la ZL. Un porcentaje importante de establecimientos se encuentran expuestos a garrapatas y presentan gran riesgo de presentación de TP, a pesar de que los reportes de enfermedad clínica no son particularmente elevados.

En relación a las estrategias de control parasitario y los protocolos de tratamiento utilizados para las garrapatas no se implementan en forma clara y metódica en el campo. El grado de adopción y conocimiento de tecnologías como el TG y la hemovacuna para la prevención de TP, es bajo entre los productores. Es fundamental seguir trabajando en la promoción de medidas preventivas para la TP y en campañas de tratamiento estratégico de garrapatas, con participación activa de veterinarios liberales. La implementación del CIP es otra práctica para promocionar en las campañas.

La seroprevalencia individual aparente para *B. bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma* spp. en el país son datos de base para futuros análisis. La prevalencia predial a nivel general supero el 60% estimado en la hipótesis, pero presenta gran variabilidad entre agentes, lo cual expone la necesidad de profundizar el trabajo en cada agente en particular.

FINANCIACIÓN DEL PROYECTO

Esta tesis de maestría se encuentra enmarcada en el proyecto “Situación actual de la garrapata (*Rhipicephalus microplus*), y de la tristeza parasitaria en el Uruguay y control integrado de ambas enfermedades”, integrado y financiado por las siguientes instituciones: INIA, MGAP/DILAVE, Facultad de veterinaria, CENUR Regional Norte y Regional Tacuarembó.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Aguerre T. (2016). Suspéndice en forma transitoria, los registros de productos veterinarios que contengan ethion en su formulaci3n, retirándolos de plaza, prohibiéndose su comercializaci3n. Diario Oficial, MGAP:4–8.
2. Amerault TE, Roby TO. (1968). A rapid Card Agglutination Test for Bovine Anaplasmosis. J.A.V.M.A. 153 (12); 1828-1834.
3. Anziani O, Suárez, V. (2013). Epidemiología y control de dípteros en estado adulto y larvario en el área central de Argentina (*Haematobia irritans*, *Stomoxys calcitrans*, *Cochiomyia hominivorax* y *Oestrus ovis*). En: Fiel C, Nari A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevenci3n y control. Ed. Editorial Hemisferio Sur SRL 2a ed. Montevideo, Cap. 24, pp. 541–568.
4. Aráoz V, Micheloud JF, Gaido AB, Salatin AO, Aguirre DH. (2017). Brotes de babesiosis y anaplasmosis bovina diagnosticados en el INTA Salta , Argentina : período 2006-2016. Revista FAVE -Ciencias Veterinarias, 16:101–105.
5. Aubry P, Geale DW. (2011). A review of Bovine anaplasmosis. Transboundary and Emerging Diseases, 58:1–30
6. Avila D. (1998). Análisis cuantitativo de los costos a nivel pa3s y del productor por la presencia de la garrapata en Uruguay. Informe IAEA-DILAVE-MGAP.
7. Bargues MD, Gayo V, Sanchis J, Artigas P, Khoubbane M, Birriel S, Mas-Coma S. (2017). DNA multigene characterization of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea neotropica* and its fascioliasis transmission capacity in Uruguay, with historical correlation, human report review and infection risk analysis. PLoS Neglected Tropical Diseases, 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005352>
8. Berdi3 J, Cardozo H, Nari A, Solari MA, Meeusen E. (1979). Prevalencia de *Anaplasma marginale* en un área del departamento de Rivera mediante la prueba de aglutinaci3n en placa. Veterinaria(Montevideo), 15(70): 55-59.
9. Bock RE, Kingston TG, De Vos AJ. (1999a). Effect of breed of cattle on transmission rate and innate resistance to infection with *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* transmitted by *Boophilus microplus*. Aust Vet J, 77(7):461–464.
10. Bock RE, Kingston TG, De Vos AJ. (1999b). Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Anaplasma marginale* transmitted by *Boophilus microplus*. Aust Vet J, 77(11):748–751
11. Brussa Santander CA, Grela Gonzalez IA. (2007). Flora Arb3rea de Uruguay, con énfasis en las especies de Rivera y Tacuaremb3. Ed. COFUSA, 1ra ed. Montevideo.
12. Cardozo H, Solari MA, Etchebarne J, Larrauri JH. (1992). Seroepidemiological study of *Babesia bovis* in support of the Uruguayan *Boophilus microplus* control programme. MGAP:253–259.
13. Carmona C, Tort JF. (2017). Fasciolosis in South America: epidemiology and control challenges. Journal of Helminthology, 91(2):99–109.
14. Castro E. (2003). Mosca de los cuernos: efecto en ganado de carne en Uruguay. Revista Del Plan Agropecuario, 108:46–47.
15. Castro E, Gil A, Piaggio J, Chifflet L, Farias NA, Solari MA, Moon RD. (2008). Population dynamics of horn fly, *Haematobia irritans*(L.) (Diptera: Muscidae), on

- Hereford cattle in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 151(2–4):286–299.
16. Castro-Janer E, Díaz A, Buscio D, de Oliveira-Madeira L, Piaggio J, Barros ATM. (2014). Resistência de *Haematobia irritans* à cipermetrina e diazinon no Uruguai. XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Gramado, Rio Grange do Sur, Brasil.
 17. Cora Ibarra J, Lloberas M, Cantón G, Odriozola E. (2108). Anaplasmosis bovina en provincia de Buenos Aires, Argentina, durante 2015. VI Congreso AUPA-Asociación Uruguaya de Producción Animal- Salud y bienestar animal, 19-21, Marzo, Tacuarembó, Uruguay, P-132.
 18. Corp STATA. (2014). STATA Software. Texas: STATA Corp LP. www.stata.com
 19. Cresci K, Taño M, Schild C, Aráoz V, Lopez F, Riet-Correa F. (2018). Evite transmitir la anaplasmosis por el uso de jeringas y otros instrumentos. *Revista INIA*, 55:9–11.
 20. Cuore U. (2006). Resistencia a los Acaricidas, Manejo y Perspectivas. XXXIV Jornadas de Buiatría del Uruguay. Paysandú.
 21. Cuore U, Altuna M, Cicero L, Fernández F, Luengo L, Mendoza R, Nari A, Pérez Rama R, Solari MA, Trelles A. (2012). Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 48(187):1–9.
 22. Cuore U, Cardozo H, Solari MA, Cicero L. (2013a). Epidemiología y control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. En: Fiel C, Nari A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Ed. Editorial Hemisferio Sur SRL 2a ed. Montevideo, Cap.21 , pp. 457–484.
 23. Cuore U, Solari MA, Castro-Janer E, Valledor MS. (2013b). Epidemiología y control de dípteros en estado adulto y larvario en Uruguay. En: Fiel C, Nari A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Ed. Editorial Hemisferio Sur SRL 2a ed. Montevideo, Cap. 25, pp. 569–604.
 24. Cuore U, Solari MA. (2014). Poblaciones multirresistentes de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 50:4-13.
 25. 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(198):14–25.
 26. Cuore U, Solari MA, 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.
 27. De Almeida MB, Tortelli FP, Riet-Correa B, Ferreira JLM, Soares MP, Farias NAR, Riet-Correa F, Schild AL. (2006). Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: Estudo retrospectivo de 1978-2005. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 26(4):237–242.

28. de Waal DT, Combrink MP. (2006). Live vaccines against bovine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 138(1–2):88–96.
29. Errico F, Nari A, Cuore U, Mendoza R, Suarez H, Mesa P, Fernandez S, Sosa E, Salada D, Saporiti D. (2009). Una nueva ley de lucha contra la garrapata *Boophilus microplus* en el Uruguay. *Revista Plan Agropecuario*:42–47.
30. Fiel C, Nari A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Ed. Editorial Hemisferio Sur SRL 2a ed. Montevideo.
31. Florin-Christensen M, Suarez CE, Rodriguez AE, Flores DA, Schnittger L. (2014). Vaccines against bovine babesiosis: Where we are now and possible roads ahead. *Parasitology*, 141(12):1563–1592.
32. Gil A, Piaggio J. (2007). Diagnostico de situación de la infraestructura de baños acaricidas para bovinos en Uruguay. En: Serie FAO (2007). Aplicacion de control integrado de parásitos (CIP) a la garrapata *Boophilus microplus* en Uruguay. FAO/URU/3003A, Santiago de Chile.
33. Grisi L, Leite RC, Martins JR, Barros ATM de, Andreotti R, Cancado PH, Pérez de León AA, Barros Pereira J, Villela HS. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazi J Vet Parasitol*, 23:150–156.
34. Guglielmone AA. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Veterinary Parasitology*, 57:109–119.
35. Guglielmone AA, Abdale AA, Anziani O, Mangold AJ, Volpogni MM. (1997). Different seasonal occurrence of Anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle in an area of Argentina free of *Boophilus microplus* ticks. *The Veterinary Quarterly*, 19(1):32–33.
36. Guglielmone AA, Castelli ME, Mangold AJ, Aguirre DH, Alcaraz E, Cafrune MM, Cetrá B, Luciani CA, Suárez VH. (2007). El uso de acaricidas para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: IXODIDAE) en la Argentina. *RIA*, 36(1):155–167.
37. IICA. (1987). Técnicas para el diagnostico de babesiosis y anaplasmosis bovinas. Ed. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José, Costa Rica. <http://repiica.iica.int/docs/B1335E/B1335E.PDF>
38. Iriarte MV, Altuna MF, Alzaga ME, Quevedo M. (2018). Relevamiento sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el departamento de Artigas. VI Congreso AUPA- Asociación Uruguaya de Producción Animal- Salud y bienestar animal, 19-21, Marzo, Tacuarembó, Uruguay, P-135.
39. Jonsson NN, Bock RE, Jorgensen WK (2008). Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Veterinary Parasitology*, 155(1–2):1–9.
40. Jonsson NN, Piper EK, Constantinoiu CC. (2014). Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite Immunology*, 36(11):553–559.
41. Lopo Costa SC, Sampaio de Magalhães VC, Volkart de Oliveira U, Carvalho FS, Pereira de Almeida C, Zacarias Machado R, Dias Munhoz A. (2016). Transplacental

- transmission of bovine tick-borne pathogens: Frequency, co-infections and fatal neonatal anaplasmosis in a region of enzootic stability in the northeast of Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(2):270–275.
42. Madruga CR, Ribeiro de Araujo F, Oliveira Soares, C. (2001). *Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária*. Ed. Embrapa Gado de Corte 1a ed. Campo Grande.
 43. Mahoney D, Mirre G. (1971). Bovine babesiosis: estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ann Trop Med Parasitol*, 65(3):309–317.
 44. Mahoney D, Ross D. (1972). Epizootical factor in the control of bovine babesiosis. *Aust Vet J*, 48(1):292–298.
 45. Mangold AJ (2018). Vacuna contra la babesiosis y la anaplasmosis. From https://www.sani.com.ar/producto.php?id_producto=6075
 46. Marques L, Moon RD, Cardozo H, Cuore U, Trelles A, Bordaberry S. (1997). Primer diagnóstico de resistencia de *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) en Uruguay. Determinación de la susceptibilidad a la cipermetrina y el diazinon. *Veterinaria (Montevideo)*, 33(133):20–23.
 47. Martin SW, Shoukri M, Thorburn MA. (1992). Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Preventive Veterinary Medicine*, 14(1–2):33–43.
 48. Mastropaolo M. (2014). Epidemiología de la babesiosis de los bovinos causada por *Babesia bigemina* (Smith y Kilborne, 1893) en el sudoeste de la provincia del Chaco. Tesis doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Plata, Argentina.
 49. Mastropaolo M, Torioni de Echaide S, Cuatrin A, Arece H, Lobato S, Mangold AJ. (2009). Situación de la Babesiosis y Anaplasmosis de los Bovinos en el Sudoeste de la provincia de Chaco (Argentina). *Revista FAVE -Ciencias Veterinarias*, 8(1):1–7.
 50. MGAP. (2001). Garrapata. En: *Legislación Sanitaria Animal- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca*, Montevideo, Tomo 1, Cap. 2.2.4, pp. 148–177.
 51. MGAP. (2016). Indicadores basados en la Declaración Jurada Anual de Existencias DICOSE-SNIG 2016. From <http://www.mgap.gub.uy/indicadores-basados-en-la-declaracion-jurada-anual-de-existencias-dicose-snig-2016>.
 52. Michel JF, Lancaster MB, Hong C. (1979). The effect of age, acquired resistance, pregnancy and lactation on some reactions of cattle to infection with *Ostertagia ostertagi*. *Parasitology*, 79(1):157–168.
 53. Miraballes AC, Buscio D, Diaz A, Sanchez J, Riet-Correa F, Saravia A, Castro-Janer E. (2017). Efficiency of a walk-through fly trap for *Haematobia irritans* control in milking cows in Uruguay. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*:126–131.
 54. Miraballes AC, Riet-Correa F. (2018). A review of the history of research and control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay. *Experimental and Applied Acarology*, 75(4):383–398.
 55. Miraballes AC, Lara S, Lorenzelli E, Lemos E, Riet-Correa F. (2018a). Eficacia de dos vacunas, congelada y refrigerada, contra la tristeza parasitaria bovina. *Veterinaria (Montevideo)*, 54(209):9–14.
 56. Miraballes C, Sanchez J, Barros ATM, Hiteguy S, Moreno P, Saporiti T, Riet-

- Correa F. (2018b). Influence of selective treatment of bulls on the infestation of *Haematobia irritans* on untreated cows. *Veterinary Parasitology*, 260:58–62.
57. Montenegro-James S. (1992). Prevalence and control of babesiosis in the Americas. *Me Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 87(III):27–32.
58. Morel N. (2017). Factores de manejo asociados a diferentes niveles de transmisión de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en rodeos de cría bovina en el nordeste de Santiago del Estero. Tesis de maestría, Facultad de Agronomía y Agroindustria, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina.
59. Morel N, Signorini ML, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. (2017). Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 144:179–183.
60. Nari A. (1995). Strategies for the control of one-host ticks and relationship with tick-borne diseases in South America. *Veterinary Parasitology*, 57(1–3):153–165.
61. Nari A. (2011). Metodología y resultados del control integrado de parásitos en sistemas mixtos de producción. XV Congreso latinoamericano de Buiatría- XXXIX Jornada Uruguaya de Buiatría, Paysandú, Uruguay, P-1–24.
62. Nari A, Solari MA. (1990). Desarrollo y utilización de vacuna contra *Boophilus microplus*, babesiosis y anaplasmosis, perspectiva actual en Uruguay. XVIII Jornada Uruguaya de Buiatría, Paysandú, Uruguay, P-24.
63. Nava S, Mastropaolo M, Guglielmone AA, Mangold AJ. (2013). Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on the population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. *Research in Veterinary Science*, 95(3):1046–1054.
64. Nava S, Canevari JT, Morel N, Mangold AJ, Guglielmone AA. (2014). Strategic treatments with systemic biocides to control *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northwestern Argentina. *In Vet*, 16(1):23–30.
65. Nava S, Mangold AJ, Canevari JT, Guglielmone AA. (2015). Strategic applications of long-acting acaricides against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in northwestern Argentina, with an analysis of tick distribution among cattle. *Veterinary Parasitology*, 208(3–4):225–230.
66. Nava S, Venzal JM, González-Acuña D, Martins TF, Gugliermone AA. (2017). Ticks of the southern cone of America. Diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Ed. Elsevier Inc. 1ª ed. London.
67. OIE. (2014). Babesiosis bovina. En: Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Ed. OIE, Cap. 2.4.2, pp. 1–18.
68. OIE. (2015). Anaplasmosis Bovina. En: Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Ed. OIE, Cap. 2.4.1, pp.1–16.
69. Productos Veterinarios- DILAVE. (2018). Listado de garrapaticidas- Departamento de control de productos veterinarios- DILAVE. http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/garrapaticida_10_10_2018.
70. Reck J, Marks FS, Rodrigues RO, Souza UA, Webster A, Leite RC, Gonzales JC, Klafke GM, Martins JR. (2014). Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle?.

- Preventive Veterinary Medicine, 113(1):59–62.
71. Sergeant E, Greiner M. (2018). EpiTools epidemiological calculators. From: <http://epitools.ausvet.com.au>
 72. Smith RD, Evans DE, Martins JR, Ceresér VH, Correa BL, Petraccia C, Cardozo H, Solari MA, Nari, A. (2006). Babesiosis (*Babesia bovis*) Stability in Unstable Environments. Annals of the New York Academy of Sciences, 916(1):510–520.
 73. SNIG. (2016). From <https://www.snig.gub.uy>
 74. Solari MA. (2006). Epidemiología y perspectivas en el control de hemoparásitos. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, P-7.
 75. Solari MA, Cuore U, Sanchis J, Gayo V. (2008). Control integrado de parásitos con énfasis en *Boophilus microplus* y *Babesia* spp. aplicado en un establecimiento. XXXIV Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, P-8.
 76. Solari MA, Dutra F, Quintana S. (2013). Epidemiología y prevención de los hemoparasitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en el Uruguay. En: Fiel C, Nari A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Ed. Editorial Hemisferio Sur SRL 2a ed. Montevideo, Cap. 28 ,pp. 657–688
 77. Sserugga JN, Jonsson NN, Bock RE, More SJ. (2003). Serological evidence of exposure to tick fever organisms in young cattle on Queensland dairy farms. Aust Vet J, 81(3):147–152.
 78. Venzal JM, Castro O, Cabrera PA, de Souza CG, Gugliermone AA. (2003). Las garrapatas de Uruguay: especies, hospedadores, distribución e importancia sanitaria. Veterinaria (Montevideo), 38(150–151):17–24.

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

MGAP	MUESTREO SEROLOGICO DE PANEL - 2016
DGSG	Agosto - Noviembre de 2016)
UNEPI	Código del muestreo: MSFABrB_BO_02_16
	ESTUDIO DE POBLACION
(Significado del código de este Muestreo : Muestreo Serológico para Fiebre Aftosa y Brucelosis Bovina de Bovinos y Ovinos - 02 anual - 2016)	

Este predio está siendo muestreado? (SI / NO) :		En caso que NO , justifíquelo en el ítem de OBSERVACIONES .	N° de Formulario:	
--	--	---	--------------------------	--

A. IDENTIFICACION:		Nota: este N° de Formulario y este N° de DICOSE deben coincidir con los de los Formularios llamados: " Cuestionario " y los 2 de " Recolección de Muestras para . . . "
N° de DICO.SE.:		

Nombre del Propietario:	Nacionalidad:
Teléfono fijo:	Tel. Celular:
Coordenadas Geográficas (GPS):	Longitud:
Superficie (en há.s.):	N° de Há.s. dedicadas a la ganadería:
Rubros Principales del establecimiento:	Bovinos para carne:
Raza Principal (Bovinos):	Bovinos para leche:
Raza Principal (Ovinos):	Ovinos:
	Hereford
	A.Angus
	Cruza
	Holando
	Jersey
	Otra (especificar):
	Corriedale
	Merino
	Merilin
	Texel
	Cruza
	Otra (especificar):

B. POBLACION (al momento de este muestreo)					
Especie	Categoría	Población	Especie	Categoría	Población
B O V I N O S	Toros		O V I N O S	Carneros	
	Vacas en Producción			Ovejas de Cría (encarneradas)	
	Vacas de Invernada			Ovejas de descarte (consumo)	
	Novillos de más de 3 años			Capones	
	Novillos de 2 a 3 años			Borregas 2 a 4 dient. sin/encarn.	
	Novillos de 1 a 2 años			Corderas dientes de leche	
	Vaquillonas de + de 2 años sin/ent.			Corderos dientes de leche	
	Vaquillonas de 1 a 2 años			Corderos/Corderas mamones	
	Terneros/Temeras			Total de Ovinos:	
	Total de Bovinos:			EQUINOS	Equinos del establecimiento:
O	Vacas lecheras (en ordeño)		Equinos del personal:		
	Vacas lecheras (secas)		Otros equi. en el estab. (incl. potros):		
S	Total de Bovinos para leche:		PERROS	Perros del establecimiento:	
	SUINOS	Total de Suinos:		Perros del personal:	
Aves Domés.	Total de Aves Domésticas:			Otros perros en el estab. (incl.sin dueño):	

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

C. ENTREVISTADO/A:

Características del Entrevistado/a:

Propietario:

Familiar:

Capataz:

Otro/a (especificar):

Veterinario Responsable de toda la actividad:

N° de Registro ante el MGAP:

Nombre y Apellido (Dr./Dra.):

OBSERVACIONES:

Form_MSFArB_BO_02_16.xls

ENCUESTA:

I- DATOS RELACIONADOS A LA GARRAPATA Y LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS

1. Presencia de garrapatas en los últimos 5 años

- Ha tenido
- Tiene
- Nunca tuvo

2. Grado de infestación en el último año:

- 1- Alto
- 2- Medio
- 3- Bajo
- 4- Nulo

Del tratamiento con acaricidas

3. Cuando aplica tratamiento con acaricidas, busca:

- Eliminar todas las garrapatas
- Disminuir el número de garrapatas

4. A la hora de comprar el medicamento, marque opción:

- Recomendación de su veterinario

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

- Recomendación del proveedor del producto
 - Otros
5. Tipo de tratamiento en el último año (marque todos los que correspondan)
- Inmersión
 - Inyectable
 - Pour-on
 - Aspersión
6. Criterio utilizado para determinar el momento del tratamiento
- Número alto de garrapatas
 - Alguna garrapata
 - Por calendario
 - Recomendación técnica
7. Si utiliza baño de inmersión, cambia el baño:
- Anualmente
 - Cada más tiempo
 - Según análisis de baño
8. Nombre de los garrapaticidas utilizado en los últimos dos años
- Piretroides- organofosforado
 - Amidinas
 - Lactonas macrocíclicas
 - Fluazurón
 - Fipronil
 - Piretroides
9. ¿Rota los tratamientos?
- Nunca
 - Por falla de eficacia
 - Por recomendación técnica
 - Por precio
 - Otro motivo
10. Sobre el Tratamiento Generacional contra la garrapata:
- No lo conoce
 - Ha oído
 - Lo utiliza
 - Lo utilizaba y dejó de hacerlo

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

11. ¿Ha detectado fallas de eficacia de los tratamientos?

- No
- Si

* Aclarar en caso de Si.....

12. ¿Conoce el concepto de tiempo de espera?

- Si
- No

De las enfermedades transmitidas por garrapatas:

13. ¿Ha tenido casos de enfermedades transmitidas por garrapatas (tristeza parasitaria)?

- Si
- No

14. Número de muertes de animales con diagnostico de tristeza parasitaria en el último año

15. ¿En que estación del año se producen?

- Verano
- Otoño
- Invierno
- Primavera

16. ¿Conoce el agente causal de los brotes en su establecimiento?

- Babesia
- Anaplasma
- Ambos
- No conoce

17. Sobre la vacuna contra tristeza parasitaria:

- Si, la utiliza
- No la conoce
- No la utiliza por el costo
- No la utiliza por poco práctica

18. ¿Usaría la vacuna a un costo de 3 dólares /ternero?

- Si
- No

19. ¿Utiliza agujas descartables para cada animal, rutinariamente en el establecimiento?

- Si
- No

II-DATOS RELACIONADOS A OTROS PARÁSITOS

De la mosca de los cuernos:

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

20. Métodos de tratamiento

- Inmersión
- Pour-on
- Aspersión
- Caravana
- Trampa de paso

21. Droga usada para el tratamiento

- Piretroides
- Fosforados
- Mezclas

22. Criterio de tratamiento

- Mucha mosca
- Animales inquietos
- Con otros trabajos
- Recomendación técnica

De los parásitos internos:

23. Tratamiento contra parásitos internos en bovinos

- Helmintos
- Saguaypé

Categoría que se trata:

- Ternero
- Sobreaño
- Adultos

24. Drogas antihelmínticas en bovinos

- Lactonas macrocíclicas
- Otras

25. ¿En su opinión cual es el principal problema parasitario de su establecimiento?

En orden del 1 al 5 (siendo 1 el de mayor importancia)

- Garrapata común del bovino
- Mosca de los cuernos
- Mosca de la bichera
- Parásitos internos (gastrointestinales)
- Saguaypé (*Fasiola hepática*)

III- DATOS GENERALES

26. ¿Tiene asesoramiento veterinario?

- No
- Si

ANEXO I: Datos muestreo y encuesta

* En caso de si

- EVENTUAL

- PERMANENTE

27. ¿Su veterinario lo asesora acerca de los tratamientos de garrapata?

- Si

- No

28. ¿Le gustaría recibir información sobre la garrapata?

- Si

- No

¿Por qué medio?

- Por radio

- Por TV

- Por Internet

- Impreso

ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

Test de conglutinación rápida para detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp., (Card agglutination test- CAT)

Fundamento de la técnica

La reacción de conglutinación difiere de las aglutinaciones clásicas en la presencia de conglutinina, una proteína de 300 kDa de los bovinos, con estructura semejante al componente C1q del complemento. En la conglutinación, la primera reacción ocurre entre el antígeno y el anticuerpo, seguida de la fijación de la conglutinina al complejo y finalmente la unión de la conglutinina al componente 1C3b del complemento. La conglutinina posee seis cadenas polipeptídicas, y cada una posee una región C terminal globular, con actividad de lectina, que se ligan a azúcares presentes en el iC3b, permitiendo uniones cruzadas entre antígenos particulados que resultan en aglutinación. (IICA, 1987; Madruga et al. 2001).

Objetivo: detectar anticuerpos específicos para *Anaplasma* spp. en sueros bovinos.

Materiales necesarios

- Placas para reacción de aglutinación.
- Antígeno de *Anaplasma marginale* para test de conglutinación rápida.
- Sueros controles positivo y negativo.
- Sueros problema a testear.
- Suero normal bovino (SNB), fuente del componente conglutinina.
- Micropipetas.
- Fuente de luz.
- Vástago de vidrio fino.

Técnica

Preparación de antígeno *A. marginale*:

El antígeno de *A. marginale* para CAT se produce en la DILAVE “Miguel C. Rubino”, Montevideo, según lo descrito por técnicos especializados del IICA, 1987 (Berdie et al. 1979, de acuerdo a Amerault & Roby, 1968).

Preparación de SNB:

El SNB utilizado para estabilizar la cantidad de conglutinina, se obtuvo de una vaca raza Jersey pura, proveniente de zona libre de garrapatas y testeada como negativa para hematozoarios mediante técnicas moleculares y serológicas. La sangre se extrajo de vena yugular con jeringas descartables y fue colocada en tubos tipo Vacutainer, para posteriormente ser centrifugada con refrigeración (4°C). Se realizaron alícuotas del suero en crio tubos, que fueron guardadas en freezer a -80°C hasta su uso, de acuerdo a lo descrito en el manual de IICA (1987). Cada partida de suero fue rotulada con el mes de extracción y tubo un periodo de vencimiento de 3 meses.

ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

Procedimiento CAT:

- Colocar 38 μ l de suero a testear en placa.
- Colocar 38 μ l de SNB.
- Colocar 15 μ l de antígeno de *A. marginale*.
- En cada placa, además de los sueros a evaluar, se incluye un control positivo (C+) y un control negativo (C-) o complemento, donde se enfrenta el SNB a sí mismo (Figura 1).
- Mezclar y homogeneizar los componentes con movimientos rotatorios, mantenidos entre 22 y 26°C y más de 80% humedad, por 4 minutos.
- Leer la reacción bajo fuente de luz, hasta observar positividad en el control de complemento o hasta 4 minutos luego del tiempo de mezclado.

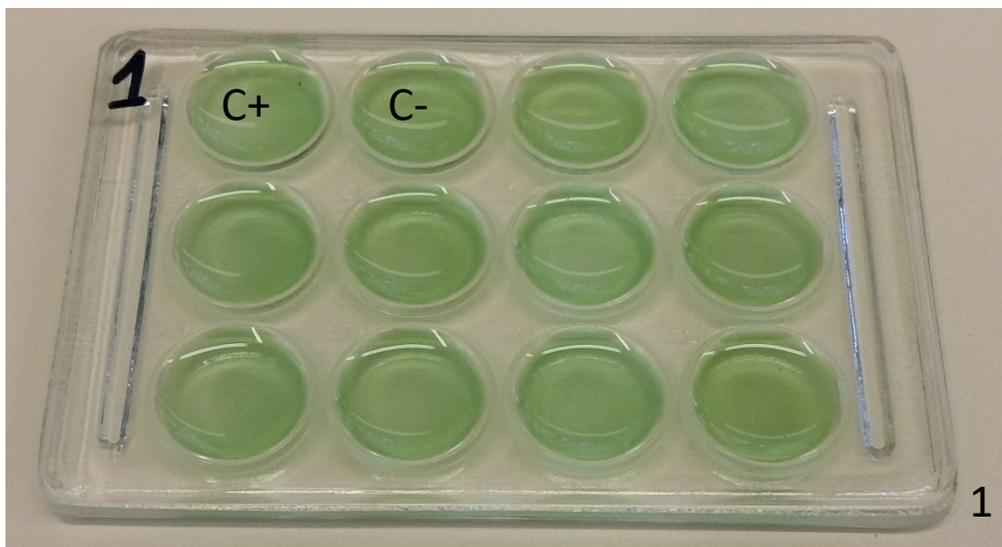


Figura 1: Placa de vidrio con pocillos, para reacción de aglutinación.

Interpretación: se considera la intensidad de formación de grumos pequeños. La técnica permite la detección de anticuerpos específicos para *A. marginale*, y reacciones cruzadas con *Anaplasma centrale*.

- Reacción negativa (-), sin presencia de grumos.
- Reacción positiva (+), con leve, regular o intensa formación de grumos.

ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de anticuerpos contra *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*

Fundamento de la técnica

El objetivo de la inmunofluorescencia indirecta es tornar visibles la reacción antígeno anticuerpo por medio de una anti-inmunoglobulina marcada con fluorocromos. Estas son sustancias que tienen la capacidad de absorber energía lumínica que luego, al excitarse por un corto periodo de tiempo, emiten en forma de fluorescencia. El fluorocromo empleado es el isotiocinato de fluoresceína (FITC), que emite fluorescencia verde. (IICA, 1987; Madruga et al. 2001).

Objetivo: Detectar anticuerpos específicos para *B. bovis* y *B. bigemina* en suero de bovinos.

Materiales necesarios

- Antígenos: Portaobjetos sensibilizados con eritrocitos parasitados por *B. bovis* y *B. bigemina* adheridos a la lamina.
- Sueros controles positivos y negativos.
- Sueros problema para evaluar.
- Anti- IgG bovina marcada con FITC.
- Solución buffer fosfato (PBS) pH 7,2.
- Microscopio óptico para inmunofluorescencia (Zeiss Lab.A1 AXION).
- Cámara húmeda.
- Placas de microtitulación 96 orificios.
- Estufa (37°C).
- Cubas para lavado de láminas.
- Agitador magnético e imanes de agitación (Thermocientific).
- Micropipetas.

Técnica

Preparación de antígeno:

Se prepararon los portaobjetos, formando los pocillos con pintura adhesiva o lápiz corrector (Lápiz corrector, punta fina metálica, secado rápido. Pentel ®, Tokyo). Se trabajo marcando los portaobjetos con 18 o 24 pocillos, que permitieron evaluar 15 o 20 muestras con 3 o 4 controles respectivamente.

Se extrajo sangre anti-coagulada de terneros esplenectomizados, inoculados con *B. bovis* y *B. bigemina*, (cepa vaccinal, DILAVE “Miguel C. Rubino”, Montevideo, Uruguay), 7 a 10 días port-inoculación. Se evaluó el porcentaje de parasitemia y hematocrito. Se utilizaron muestras de sangre que presenten porcentajes de parasitemia superiores a 2% en ambas especies de babesia. Se lavaron los eritrocitos con solución salina isotónica y la suspensión fue llevada a un hematocrito de 30 % aproximadamente.

ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

Posteriormente se realizaron diluciones seriadas de la suspensión de eritrocitos en PBS (1/5, 1/10, 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600) y se colocaron por triplicado gotas de 8 µl de la suspensión en pocillos del portaobjetos previamente marcado. Todos los procedimientos se realizaron por duplicado. Se secaron las gotas en estufa a 40 ° C por 30 minutos, lo que permite una correcta adhesión de los eritrocitos al portaobjeto. Finalmente, los antígenos secos se envolvieron con papel de aluminio, fueron rotulados y guardados en freezer -20°C.

Posteriormente se evaluaron la dilución de antígeno óptima para trabajo. Se realizó el procedimiento de IFI (que se menciona a continuación), enfrentando las diferentes diluciones de antígeno a un panel de sueros conocidos con y sin anticuerpos para *B. bovis* y *B. bigemina*. Las diluciones de sueros empleadas fueron de 1/50 para *B. bovis* y 1/25 para *B. bigemina*.

Se evaluaron las diluciones y se eligió las más apropiadas para trabajo, según la densidad de estructuras que fluorescen por campo de observación (10x y 20x). Se prepararon los portaobjetos, con la dilución de sangre elegida y con una marca se identificó la especie de babesia en el portaobjeto, utilizando una “o” para *B. bovis* y una “i” para *B. bigemina*. Finalmente, se envolvieron con papel de aluminio los portaobjetos, se rotularon (número de serie, fecha, número de pocillos e identificación de especie) y guardaron en freezer -20°C hasta su utilización. Los antígenos preparados y conservados a -20°C se utilizaron en un lapso no superior a 6 meses de la fecha de elaboración (tiempo de vencimiento del antígeno establecido por el laboratorio).

Dilución del conjugado Anti-IgG bovina:

Se utilizan diluciones de 1/70 a 1/300 en PBS (pH 7,2) según recomendación del proveedor (ver reactivos, Anticuerpos conjugados FITC).

Procedimiento IFI:

1. Realizar diluciones de los sueros a evaluar en PBS (pH 7,2) de 1/50 para *B. bovis* y 1/25 para *B. bigemina*. Las diluciones pueden realizarse en placas de microtitulación de 96 orificios o en tubos tipo eppendorff. Incluir sueros controles positivos, negativos y sueros a evaluar.
2. Sacar láminas de antígeno de freezer, secar en cercanía al mechero, sin exponer el portaobjeto al fuego directo.
3. Colocar una gota de 8 µl de suero diluido en el centro de cada pocillo del portaobjeto (Figura 2).
4. Incluir sueros control positivo y negativo en cada portaobjeto. Se propone trabajar en portaobjetos marcados con 18 o 24 pocillos, de los que se destinan dos lugares para sueros controles positivos (Figura 2) y uno o dos lugares para sueros negativos para portaobjetos de 18 y 24 pocillos respectivamente. Es factible analizar 15 o 20 muestras por portaobjeto.
5. Incubar en cámara húmeda a 37 °C por 45 minutos.

ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

6. Lavar los portaobjetos, dos lavados con PBS por 10 minutos y un lavado con agua desionizada por 5 minutos, en movimiento constante con agitador magnético (Figura 3).
7. Secar portas en cercanía al mechero.
8. Colocar una gota de 8 μ l de conjugado en cada pocillo del portaobjeto, incubar a 37°C por 45 minutos.
9. Lavar dos veces con PBS, por 10 minutos.
10. Leer en microscopio óptico con lámpara de fluorescencia y filtro Verde (Green fluorescent protein- GFP).



ANEXO II: Metodología técnicas serológicas

Figura 2: Imagen de portaobjetos (antígenos) marcados e identificados con números. A modo de ejemplo, en el portaobjeto rotulado con número 5 se indica las posiciones de los controles *C+* y *C-* y la flecha señala el rotulo “*o*” indicando que se trata de antígeno de *B. bovis*. Se repitió este padrón de trabajo en todos los procedimientos realizados. **Figura 3:** Agitador magnético con cubeta para lavados.

Reactivos: Anticuerpos anti- IgG bovina, conjugados con FITC

- Fluorescein-Labeled Antibody to Bovine IgG (H+L) produced in goat (KPL, Gaithersburg, MD, USA).
- Anti- Bovine IgG whole molecule)- FITC antibody produced in rabbit (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA).