



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Estudio de tratamientos preventivos para
anaplasmosis ovina en ovejas gestantes y corderos

Clinical study of preventive treatments for ovine
anaplasmosis in pregnant ewes and lambs

Autor/es

Marina Pomar Puente

Director/es

Delia Lacasta Lozano
Héctor Ruiz Pérez

Facultad de Veterinaria
2023 – 2024

Índice

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. Etiología de la Anaplasmosis ovina	4
1.2. Características y transmisión de <i>Anaplasma ovis</i>	4
1.3. Distribución y relevancia clínica	5
1.4. Signos clínicos y diagnóstico.....	5
1.5. Situación actual e impacto del cambio climático.....	7
1.6. Estrategias de control y tratamiento.	8
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	10
3. METODOLOGÍA.....	11
3.1. Selección de las madres	11
3.2. Animales estudiados.	12
3.3. Examen clínico y control de parásitos externos.....	13
3.4. Análisis molecular.....	14
3.5. Seguimiento de las canales.	15
3.6. Análisis estadístico.	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1. RESULTADOS	16
4.2. DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES	25
CONCLUSIONS	25
VALORACIÓN PERSONAL Y AGRADECIMIENTOS.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27

RESUMEN

La anaplasmosis ovina es una enfermedad emergente en Europa, transmitida por garrapatas, y que ocasiona importantes pérdidas económicas en los países de la cuenca mediterránea debido al decomiso de canales ictéricas en matadero. En este estudio, se comparan los efectos de la cipermetrina y la deltametrina “pour-on” para el control de garrapatas.

Se dividieron ovejas positivas a *Anaplasma ovis* y su descendencia en cinco grupos. El grupo A (control) formado por 50 ovejas y 50 corderos sin tratamiento. En los grupos B (50 ovejas y 50 corderos) y C (45 ovejas y 93 corderos) los corderos recién nacidos recibieron tratamiento con deltametrina y cipermetrina “pour-on”, respectivamente. En los grupos D (50 ovejas y 75 corderos) y E (51 ovejas y 68 corderos) las ovejas al final de la gestación recibieron tratamiento con cipermetrina y deltametrina “pour-on”, respectivamente.

Se realizaron exámenes de parásitos externos y toma de muestras de sangre para PCR de *A. ovis* en los corderos tras el nacimiento y a los días 21 y 42. En las ovejas, se realizó un examen de parásitos externos semanalmente hasta el destete. Se encontró un bajo número de garrapatas en las ovejas (122), pertenecientes a la especie *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, mientras que en los corderos se observó una garrapata en uno de los animales del grupo control.

Tres de 336 corderos analizados fueron positivos a *A. ovis* durante el experimento (0,89%). En matadero, solo uno de los corderos positivos (grupo control) fue decomisado debido a la ictericia. No se observaron diferencias significativas entre los grupos. El drástico descenso en el número de corderos infectados y en el número de canales decomisadas sugiere que el uso de piretroides como método de control para la infestación de garrapatas previene la transmisión de *A. ovis* de las ovejas infectadas a sus corderos.

ABSTRACT

Ovine anaplasmosis is an emerging tick-borne disease in Europe, which causes significant economic losses in the Mediterranean basin countries due to the condemnation of icteric carcasses at the abattoir. In this study, the effects of cypermethrin and deltamethrin pour-on for tick control were compared.

Anaplasma ovis positive ewes and their offspring were divided into five groups. Group A (control) consisted of 50 ewes and 50 untreated lambs. In groups B (50 ewes and 50 lambs) and C (45 ewes and 93 lambs) the newborn lambs were treated with deltamethrin and cypermethrin pour-on, respectively. In groups D (50 ewes and 75 lambs) and E (51 ewes and 68 lambs) ewes at the end of gestation were treated with cypermethrin and deltamethrin pour-on, respectively.

External parasite examinations and blood sampling for *A. ovis* PCR were performed on lambs after birth and at days 21 and 42. In ewes, external parasite examination was carried out weekly until weaning. Low numbers of ticks were found in the ewes (122), belonging to the species *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, while in the lambs, one tick was observed in one of the animals in the control group.

Three out of 336 lambs tested were positive for *A. ovis* during the experiment (0.89%). At slaughter, only one of the positive lambs (control group) was decommissioned due to jaundice. No significant differences were observed between the groups. The drastic decrease in the number of infected lambs and in the number of carcasses seized suggests that the use of pyrethroids as a control method for tick infestation prevents the transmission of *A. ovis* from infected ewes to their lambs.

1. INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis ovina es una enfermedad emergente en Europa, que se diagnosticó clínicamente en España por primera vez en 2014 (Jiménez et al., 2019), y que está provocando importantes pérdidas económicas asociadas, fundamentalmente, al decomiso de canales ictéricas (Lacasta et al., 2020).

1.1. Etiología de la Anaplasmosis ovina

La anaplasmosis ovina es una patología producida por la bacteria Gram negativa intraeritocitaria obligada *Anaplasma ovis*. El género *Anaplasma*, perteneciente al orden *Rickettsiales*, abarca diversas especies responsables de enfermedades transmitidas por vectores en mamíferos (Rar et al., 2021). Tras la última reorganización taxonómica del grupo (Dumler et al., 2001) se han descrito varias especies del género *Anaplasma* que afectan a rumiantes: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma caudatum*, *Anaplasma capra*, *Anaplasma ovis* y el agente zoonótico *Anaplasma phagocytophilum*. Actualmente, se considera que solo dos de estas especies son patógenas para la especie ovina, *A. phagocytophilum*, que causa la fiebre transmitida por garrapatas (Stuen et al., 2013), y *A. ovis*, el agente causal de la anaplasmosis ovina (Stuen, 2016).

1.2. Características y transmisión de *Anaplasma ovis*.

Anaplasma ovis es una bacteria Gram negativa, inmóvil e intraeritocitaria obligada que se ha aislado en pequeños rumiantes, tanto salvajes como domésticos (Dumler et al., 2001). La principal forma de transmisión de la bacteria es mediante la picadura de garrapatas de la familia Ixodidae, conocidas comúnmente como garrapatas duras, siendo especialmente relevantes en nuestra área algunas de las especies incluidas en los géneros *Dermacentor* y *Rhipicephalus*. Estas garrapatas tienen la capacidad de actuar como vectores biológicos de la bacteria, ya que es capaz de multiplicarse en las glándulas salivares de estas garrapatas, lo que incrementa la capacidad de transmisión de las mismas (Uilenberg, 1997, Kocan et al., 2004). Sin embargo, se han descrito otras posibles formas de transmisión como la picadura de pulgas, tabánidos y *Melophagus ovinus*, o incluso de forma iatrogénica mediante agujas contaminadas (Mason et al., 2017; Zhao et al., 2018).

1.3. Distribución y relevancia clínica

La anaplasmosis ovina es considerada endémica en áreas tropicales y subtropicales, donde produce síntomas clínicos leves o incluso es asintomática (Hornok et al., 2007; Renneker et al., 2013). Sin embargo, durante las últimas dos décadas, la enfermedad ha sido reportada en otras muchas zonas donde no se tenía conocimiento de ella. Por ejemplo, recientemente se han descrito casos de infección por *A. ovis* en varios países europeos, especialmente en aquellos localizados en el entorno de la cuenca Mediterránea, como Francia, Grecia, Portugal, Italia, y España. Pero, igualmente, se ha descrito en Europa recientemente en otros países más al norte, como es el caso de Rumania, Bulgaria o incluso en Alemania (Hornok et al., 2007; Jiménez et al., 2009; Renneker et al., 2013; Stuenkel, 2016; Bauer et al., 2021). Asimismo, se han reportado casos de infección por *A. ovis* en la cuenca Mediterránea norteafricana, habiendo sido descrita tanto en Túnez, Argelia y Egipto, como en zonas de Asia como China, Irán y Turquía (Yasini et al., 2012; Belkahia et al., 2014; Song et al., 2018; Chadi et al., 2024; Mahmoud et al., 2024).

Si bien la bacteria parece estar ampliamente distribuida, y cada vez es descrita afectando nuevas áreas, la enfermedad asociada a esta infección no parece presentarse por igual en todas ellas. Recientemente, se han descrito brotes graves de anaplasmosis ovina en animales adultos tanto en Irán como en Italia y España (Torina et al., 2010; Yasini et al., 2012; Lacasta et al., 2021), y también en corderos en España (Lacasta et al., 2020; Lacasta et al., 2021).

1.4. Signos clínicos y diagnóstico.

La enfermedad apenas muestra signos clínicos en aquellas zonas donde es endémica. Sin embargo, si se han descrito brotes de la enfermedad en los que se han apreciado signos clínicos graves, los cuáles son bastante inespecíficos.

En ovejas adultas, la debilidad y la pérdida de condición corporal progresiva se presentan como los signos clínicos más comúnmente apreciados. En ocasiones, estos se ven acompañados por otros signos como la pérdida de productividad, fiebre y epifora, e incluso en los casos más graves, llegan a causar la muerte de los animales (Yasini et al., 2012; Lacasta et al., 2021). Estos signos clínicos suelen ser asociados a la grave anemia hemolítica crónica que la enfermedad causa en los animales enfermos.

Por el contrario, en corderos únicamente se ha descrito la anemia hemolítica y la ictericia post-sacrificio como signos de la enfermedad, si bien los animales infectados no mostraban signos

clínicos en vida. Por este motivo, la anaplasmosis ovina es considerada como una de las posibles causas asociada al decomiso de canales por ictericia en el matadero, debido al rechazo que esta carne produce en los consumidores (Lacasta et al., 2020; Lacasta et al., 2022).

En cuanto al diagnóstico, la técnica más empleada para detectar *A. ovis* históricamente era la extensión de sangre entera en forma de frotis y teñida con Giemsa al 10%. Esta técnica permite observar al microscopio óptico la presencia de cuerpos basófilos en el interior de los eritrocitos, donde *Anaplasma* aparece como un corpúsculo denso y redondeado con un diámetro aproximado de 0,1-0,3 μm (Eriks et al., 1989). Según el estadio y la severidad de la infección, se pueden observar variaciones en el porcentaje de eritrocitos infectados (OIE art., 2012; Bautista, 1996). Sin embargo, esta técnica no es útil en casos de infección subclínica o crónica debido a su baja sensibilidad (Trueblood y Palmer, 1998).

Otra opción para el diagnóstico de esta patología son técnicas de diagnóstico indirecto como el cELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción competitivo), basado en la estabilidad de la proteína MSP5, presente en todas las especies de *Anaplasma*. Un estudio de Mason et al. (2017), mostró buenos resultados al utilizar kits de *A. marginale* para detectar *A. ovis*, siendo este el principal inconveniente de esta técnica, ya que no permite discernir entre especies de *Anaplasma*, es decir, no permite determinar si el agente causal es *A. ovis* o *A. marginale* (Horrnok et al., 2008).

Debido a esto, actualmente, el método diagnóstico más comúnmente utilizado es la PCR, capaz de detectar infecciones con un mínimo de 0,0001% de eritrocitos infectados y diferenciar la especie de *Anaplasma* presente (OIE art., 2012; Bautista, 1996). Inicialmente, se propuso el gen *msp5* como determinante para el diagnóstico molecular debido a su alta conservación en cepas de *A. marginale* (Martínez et al., 2004). No obstante, actualmente se emplea el gen *msp4*, responsable de la expresión de una proteína mayor de membrana y utilizado para diferenciar entre distintas especies de anaplasma (de la Fuente et al., 2002). La PCR es altamente sensible y específica, permitiendo detectar a la bacteria tanto en el animal como en el vector artrópodo (garrapata). Además, se ha demostrado que los animales infectados por *A. ovis* quedan permanentemente infectados si no son tratados (Ruiz et al., 2024), de modo que se usa la PCR para realizar estudios de prevalencia global (Stich et al., 1993).

Las pruebas moleculares, especialmente la PCR basada en el gen *msp4*, han supuesto un avance definitivo en el diagnóstico y diferenciación de especies de *Anaplasma*. La alta sensibilidad y especificidad de estos métodos permiten un diagnóstico preciso, fundamental para la gestión y control de la anaplasmosis ovina

1.5. Situación actual e impacto del cambio climático.

En las últimas décadas, se ha observado un aumento en la incidencia de enfermedades transmitidas por garrapatas a nivel mundial, tanto en humanos como en animales, un fenómeno que puede estar asociado al cambio climático (Piesman y Eisen, 2008; Nicholson et al., 2010). Aunque, tradicionalmente, las condiciones climáticas han constituido barreras naturales que limitan la distribución de muchas especies de garrapatas (EFSA, 2010), el cambio climático, que parece derivar hacia un clima más seco y cálido, parece haber alterado estos límites, resultando en un aumento de la población de garrapatas y su presencia en el entorno (Parola et al., 2013; Semenza y Suk, 2018). Estas modificaciones están siendo especialmente remarcables en los países de la cuenca Mediterránea, cuyos ecosistemas son especialmente sensibles a estas variaciones climáticas (Lionello y Scarascia, 2018). Diversos factores se han atribuido a este incremento, especialmente aquellos relacionados con la temperatura, humedad y precipitaciones, sin olvidar la disponibilidad y proliferación de poblaciones silvestres de ungulados, potenciales hospedadores, siendo todos ellos factores determinantes en la presencia y/o proliferación de garrapatas, y por ende en las enfermedades que estos artrópodos son capaces de transmitir (Díaz-Cao et al., 2012; Pfaffle et al., 2013; Matei et al., 2019; Cunze et al., 2021).

Durante la primavera y el verano de 2020 en Aragón, se reportaron varios brotes de decomiso por ictericia de canales de cordero en matadero asociadas a la anemia hemolítica causada por la infección de *A. ovis*. En algunas de las granjas afectadas, la tasa de decomisos por ictericia llegaba a suponer cerca del 35% del total de algunas de las partidas de corderos que eran sacrificados (Lacasta et al., 2020). A pesar de que en adultos la ictericia no se asocia con la anaplasmosis ovina, ya que generalmente se produce una anemia crónica (Rymaszewska y Grenda, 2008; Jiménez et al., 2009), la investigación exhaustiva de estos brotes identificó a *Anaplasma ovis* como el agente causal del cuadro (Lacasta et al., 2020). Este hallazgo supuso el primer caso documentado de decomisos de canales en corderos de cebadero a causa de la anaplasmosis ovina.

Esta situación se repitió de nuevo durante la primavera y verano de 2021, donde de nuevo se observó un incremento preocupante en el número de canales de corderos que presentaban ictericia tras su faenado en el matadero, siendo finalmente decomisados. Tras el estudio de estos casos, se volvió a determinar que *A. ovis* era el agente causal implicado en estos brotes (Lacasta et al., 2022).

1.6. Estrategias de control y tratamiento.

La etiología de estas enfermedades es bacteriana, por lo que comúnmente se considera que los tratamientos antibióticos resultan eficaces para su control. La mayoría de estudios se han realizado en bovino, donde tanto *A. marginale* como *A. bovis* son considerados dos problemas graves. Estos estudios realizados en bovino han demostrado la eficacia de las tetraciclinas para el tratamiento de la anaplasmosis y la mejora de los signos clínicos asociados con la enfermedad. Sin embargo, su capacidad para eliminar completamente la infección a las dosis terapéuticas habituales no está clara (Curtis et al., 2021).

Respecto a la especie ovina, estudios recientes han demostrado que el tratamiento con antibióticos como oxitetraciclina y doxiciclina inyectable a dosis terapéutica ha sido capaz de controlar la incidencia económica de la enfermedad en los corderos afectados, al ser capaz de controlar la ictericia en los mismos, evitando el decomiso de las canales (Lacasta et al., 2022). Sin embargo, actualmente no existe ningún medicamento registrado específicamente para el tratamiento de la anaplasmosis ovina en España, siendo necesario recurrir a una prescripción excepcional y utilizar una oxitetraciclina retardada, indicada para el tratamiento de la anaplasmosis bovina, cuando nos enfrentamos a un brote de anaplasmosis ovina.

Debido a la falta de disponibilidad de productos terapéuticos, y a la situación actual a nivel europeo, donde los tratamientos antibióticos están siendo restringidos al mínimo necesario, se ha convertido en fundamental la necesidad de buscar alternativas al uso de antibióticos en ganadería como herramienta de gestión de las resistencias antimicrobianas. Por este motivo, se ha sugerido la utilización de medidas preventivas alternativas, principalmente basadas en el control de la parasitación por garrapatas, como piedra angular para minimizar las infecciones transmitidas por estas, y minimizar las pérdidas económicas asociadas a estas infecciones.

El control de garrapatas se refiere a la implementación de protocolos diseñados para reducir la exposición del ganado a estos parásitos en una región específica y durante un periodo de tiempo definido (Walker, 2011). Las principales estrategias de control actuales se centran en interrumpir el ciclo biológico de las garrapatas (Betancur y Giraldo-Rios, 2018). Entre las diversas estrategias disponibles, el manejo rotatorio de los pastos se plantea como una posibilidad para controlar la parasitación con garrapatas al limitar el acceso de los animales a los pastos donde, a priori, mayor carga de garrapatas puede existir (Walker, 2011). No obstante, esta práctica es compleja de aplicar en el manejo del ganado ovino, más aún si no se limita la entrada en dichos pastos de los ungulados silvestres, que igualmente actúan como hospedadores (Walker, 2011; Betancur y Giraldo-Rios, 2018).

Otra estrategia potencial propuesta para el control de garrapatas es la vacunación, tanto contra las propias garrapatas como contra los agentes etiológicos causantes de la enfermedad, en este caso la bacteria *A. ovis*. Sin embargo, hasta la fecha, no se han desarrollado vacunas realmente efectivas ni frente a las garrapatas ni frente a la mayoría de agentes que son capaces de transmitir (Pipano et al., 2013; Pereira et al., 2018; Popara et al., 2013; Abbas et al., 2014).

Dado este contexto, una de las estrategias más comúnmente aceptadas y consideradas eficaces para el control de garrapatas es el uso de acaricidas. Estos deben ser aplicados de manera programada para proteger a los animales durante los picos de actividad de las garrapatas, que generalmente en las especies implicadas en la transmisión de la anaplasmosis ovina ocurren a finales de la primavera y principios del verano (Abbas et al., 2014; Betancur y Giraldo-Rios, 2018). Actualmente, en los países europeos el control de garrapatas se realiza mediante la aplicación de piretroides “pour on”, siendo los más comunes deltametrina, flumetrina, cipermetrina y alfacipermetrina (Stuen et al., 2012).

A nivel nacional, en ganadería se encuentran registrados para el control de garrapatas una serie de principios activos como son el dimpilato, la foxima, la deltametrina, la cipermetrina, la doramectina y la ivermectina. Por ello, en el presente estudio se han utilizado dos piretroides sintéticos, la cipermetrina y la deltametrina, ambos registrados en el mercado español para la prevención y el tratamiento de infestaciones con garrapatas en ovino, cuyo coste económico y su facilidad de aplicación, proporcionada por su presentación “pour on”, hacen que su uso en granjas comerciales para combatir las consecuencias de las enfermedades transmitidas por garrapatas sea una opción viable.

En este estudio se han llevado a cabo pruebas de eficacia de estos dos principios activos para el control de garrapatas, de tal manera que se valora su utilidad como medida para prevenir la anaplasmosis ovina producida por *A. ovis* en corderos, mediante el seguimiento del estatus sanitario y el grado de parasitación de los corderos, así como del aspecto de las canales de dichos animales una vez sacrificados en el matadero para su expedición comercial.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La anaplasmosis ovina causada por *Anaplasma ovis* es una enfermedad emergente y de importancia creciente en Europa, especialmente en regiones de la cuenca Mediterránea donde la producción ovina es importante, como es el caso de la Comunidad Autónoma de Aragón. La aparición de brotes de anaplasmosis ovina que producen, entre otras cosas, un alto porcentaje de canales decomisadas en matadero, suponen importantes pérdidas económicas para los ganaderos y empresas afectadas.

Esto unido a la necesidad de reducir el uso de antibióticos en producción animal, el hecho de que actualmente no existe una vacuna efectiva y la dificultad que suponen las estrategias de manejo de los pastos para el ganado ovino, hace que sea necesario buscar alternativas que permitan controlar la infestación de los animales con garrapatas y su infección con *A. ovis*, esperando controlar de esa manera la aparición de canales ictéricas en matadero.

El control de garrapatas mediante la aplicación de acaricidas piretroides “pour-on” es una opción viable y actualmente extendida en Europa. En este trabajo de fin de grado se evalúa la eficacia e impacto en la prevención de la anaplasmosis ovina de dos principios activos (cipermetrina y deltametrina), con el objetivo de:

1. Determinar la capacidad de estos compuestos para reducir la infestación con garrapatas en las condiciones habituales de manejo del ganado ovino.
2. Prevenir la aparición de anaplasmosis ovina en corderos, minimizando así el decomiso de canales ictéricas en matadero.
3. Desarrollar estrategias o prácticas de manejo eficaces para el control de garrapatas que puedan implementarse en las explotaciones.

3. METODOLOGÍA

El experimento se llevó a cabo durante la primavera de 2022 en una explotación de ovino que durante los últimos dos años había sufrido brotes significativos diagnosticados de anaplasmosis ovina, con un importante número de decomisos de canal por ictericia (Lacasta et al, 2021; Lacasta et al., 2022). La ganadería está ubicada en Apiés, Huesca (42°13'30''N, 0°24'13'') a 680 metros sobre el nivel del mar y cuenta con un censo de 2000 ovejas manejadas en un sistema productivo de tipo semi-intensivo.

La ganadería está incluida en el Libro Genealógico de la raza Rasa Aragonesa, siendo el principal producto generado el cordero de Indicación Geográfica Protegida (IGP) "Ternasco de Aragón" (corderos de dos a tres meses y de 21 a 23 kg de peso vivo al sacrificio). Respecto al manejo reproductivo, está organizado en cuatro periodos de apareamiento al año de 45 días de duración. El manejo alimentario de la explotación se basa en el aprovechamiento de pastos y zonas de monte bajo próximos, prácticamente durante todo el año. Durante los períodos de cría, las hembras son estabuladas 14 días antes de parir, siendo suplementadas con pienso y forraje de calidad. Una vez paridas, las hembras son agrupadas en lotes de unas 50 ovejas con sus respectivos corderos, las cuales, a partir de los 7 días de vida del cordero, salen a pastar por la mañana y vuelven a la explotación por la tarde, mientras los corderos permanecen permanentemente estabulados en las instalaciones, con pienso de iniciación, paja y agua ad libitum. Los corderos son destetados en torno a los 45 días tras haber adquirido el peso apropiado, pasando en ese momento a ser cebados en la misma ganadería hasta alcanzar el peso adecuado para su sacrificio.

3.1. Selección de las madres

Como paso previo a la realización del estudio, las ovejas en último tercio de gestación fueron muestreadas y marcadas, de tal manera que se seleccionaran las madres positivas a *A. ovis* para posteriormente seleccionar sus corderos. De esta manera, se muestrearon 369 ovejas del lote de gestantes para estimar por un lado la prevalencia de infección de *A. ovis* en la ganadería, así como seleccionar los animales que posteriormente serían incluidos en el estudio. La toma de muestras se realizó mediante el sistema vacutainer (sistema de vacío para la extracción de sangre). Se utilizaron agujas BD Vacutainer® PrecisionGlide TM 18G x 1" (1,2 x 25mm) y tubos VACUTEST® kima 4ml K 3 EDTA 7,2mg.

Se realizaron análisis moleculares individuales a cada uno de los 369 animales muestreados mediante el kit comercial EXOone *Anaplasma ovis* (EXOPOL S.L., San Mateo de Gállego, España). mostrando resultados positivos en 364 de los 369 animales testados, lo que supone un 98,68% de animales positivos.

De estos animales positivos a *A. ovis* se seleccionaron las 250 primeras ovejas en parir durante el mes de marzo para el estudio, que se llevó a cabo en las condiciones normales de manejo de la granja durante la paridera de primavera (durante el mes de marzo).

3.2. Animales estudiados.

Este estudio incluye un total de 250 ovejas positivas a *Anaplasma ovis* y toda su descendencia (336 corderos). Los animales se dividieron de forma aleatoria en 5 grupos (nombrados con letras de la A a la E) de aproximadamente 50 ovejas junto a su respectiva descendencia, siendo el número de corderos variable entre grupos, ya que agrupaban partos simples y gemelares en diferentes lotes. Se comprobó la eficacia de los productos tanto en ovejas como en corderos.

Los animales del grupo A (formado por 50 ovejas y sus 50 corderos) se consideraron como grupo control y no se les aplicó ningún tratamiento. En el grupo B, formado por 50 ovejas y sus 50 corderos correspondientes, las ovejas no fueron tratadas, mientras que se trataron los corderos (peso medio de 5 kg) a los 7 días de vida con deltametrina “pour on” en una sola dosis en aplicación dorsal continua (Butox suspensión pour-on. Merck Sharp & Dohme Animal Health, S.L. (Salamanca, España) 25 mg de deltametrina por cordero con un peso menor a 10 kg peso vivo (PV)).

En cuanto al grupo C, formado por 49 ovejas y 93 corderos, se procedió de manera similar al grupo B, pesando los corderos (obteniendo una media de 5 kg) y tratando a los 7 días de vida con cipermetrina “pour on” en una sola dosis de aplicación dorsal continua (CIPERMETRIVEN pour on. Laboratorios e Industrias IVEN, S.A. (Madrid, España) 25 mg de cipermetrina/kg PV). Las ovejas de este grupo tampoco fueron tratadas.

En los dos grupos restantes, D y E, por el contrario, se trató a las ovejas durante la últimasemana antes del parto. Las 50 ovejas del grupo D se trataron con cipermetrina “pour on” en una sola dosis de aplicación dorsal continua (CIPERMETRIVEN pour on. Laboratorios e Industrias IVEN, S.A. (Madrid, España) 25 mg de cipermetrina/kg PV). Finalmente, las 51 ovejas del grupo E fueron tratadas con deltametrina “pour on” en una sola dosis de aplicación dorsal continua (Butox suspensión pour-on. Merck Sharp & Dohme Animal Health, S.L. (Salamanca,

España) 75 mg de deltametrina por animal). En ambos casos, los 75 corderos nacidos e incluidos en el grupo D y los 68 corderos del grupo E se dejaron sin tratar (Tabla 1).

Tabla 1. Grupos de animales estudiados y tratamientos aplicados.

GRUPO	DESCRIPCIÓN	Nº OVEJAS	Nº CORDEROS
A	Grupo control	50	50
B	Corderos tratados con deltametrina	50	50
C	Corderos tratados con cipermetrina	49	93
D	Ovejas tratadas con cipermetrina	50	75
E	Ovejas tratadas con deltametrina	51	68

Ambos productos recomiendan repetir el tratamiento entre 4 y 5 semanas después de la primera aplicación en caso de observar reinfestación moderada o severa, no siendo necesario tratar de nuevo en este caso porque los corderos eran destetados a los 45 días de vida.

En el momento del parto los corderos fueron identificados de forma individual mediante crotales numerados y de colores distintos según el grupo al que correspondían. Además, cada oveja fue identificada de forma individual con collares numerados de 5 colores distintos en función del grupo, siendo registrada la correlación del collar con su crotal e identificación electrónica oficial. También se llevó a cabo el registro de los partos para saber la relación entre las ovejas y los corderos.

Durante el experimento murieron únicamente 6 corderos: 1 en los grupos A y C; 2 en los grupos D y E. Además, 10 ovejas murieron por mamitis durante la realización de la prueba, 1 en el grupo A y 3 en los grupos C, D y E. En el grupo B no se produjo ninguna muerte. Los animales que murieron fueron retirados del estudio.

3.3. Examen clínico y control de parásitos externos.

Se realizó un examen clínico de las ovejas y de los corderos antes de aplicar el tratamiento antiparasitario y cada vez que se manejaba a los animales para controlar la presencia de garrapatas. Las ovejas de los cinco grupos fueron examinadas semanalmente de forma individual en la manga de manejo de la explotación en busca de garrapatas, prestando especial atención a las zonas donde se encuentran con mayor frecuencia: orejas, rostro, cruz y alrededor de la vulva.

Los corderos fueron examinados también de forma individual en el mismo momento que se tomaron muestras de sangre. De esta manera, los corderos fueron examinados y muestreados después del nacimiento (T0) y a los 21 (T1) y 42 (T2) días. Durante estos exámenes clínicos tanto en las ovejas como en los corderos, se recogieron todas las garrapatas encontradas, las cuáles fueron almacenadas y conservadas para su posterior identificación.

3.4. Análisis molecular.

Se tomaron muestras de sangre completa de los 336 corderos estudiados en tres momentos diferentes. Las muestras se tomaron inmediatamente antes del tratamiento (T0), cuando los corderos tenían menos de una semana de vida. Posteriormente, los corderos se muestrearon de nuevo en los días 21 (T1) y 42 (T2), justo antes del destete. La toma de muestras se realizó mediante el sistema vacutainer (sistema de vacío para la extracción de sangre). Se utilizaron agujas BD Vacutainer® PrecisionGlide™ 20G x 1" (0,9 x 25mm) y tubos VACUTEST® kima 4ml K 3 EDTA 7,2mg.

Todas las muestras fueron refrigeradas y enviadas rápidamente al laboratorio para detectar la presencia de *A. ovis* mediante PCR cuantitativa. La extracción de los ácidos nucleicos se utilizó el kit comercial MagMAX™ Pathogen RNA/DNA (Thermo Fisher Scientific, Austin, TX, USA) junto con un procesador magnético de partículas (KingFisher Flex System, Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finland), siguiendo las instrucciones del fabricante. La amplificación se llevó a cabo en una máquina QuantStudio 5 Real-Time PCR (Applied Biosystems, Marsiling, Singapore) y los resultados fueron analizados con el software correspondiente (QuantStudio Design & Analysis software v1.5.1). Finalmente, la detección se realizó mediante el uso del kit comercial EXOone *Anaplasma ovis* (EXOPOL S.L, San Mateo de Gállego, España), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Esta prueba de PCR cuantitativa tiene una sensibilidad analítica de 50 copias de equivalente genómico por reacción e incluye un control positivo sintético cuantificado. La prueba se dirige al gen de copia única *msp4*, el cual permite la diferenciación específica de *A. ovis* con *A. marginale*, que están muy emparentados (Torina et al., 2012). En estas pruebas también se incluyó un control interno para evitar resultados falsos negativos. La carga bacteriana se ha expresado utilizando los ciclos de cuantificación (quantification cycle, Cq), que se refiere al número de ciclo en el que la curva de amplificación de la PCR se cruza con la línea del umbral de detección (Busin et al., 2009). El valor Cq puede usarse para cuantificar o para determinar la presencia o ausencia de la secuencia buscada.

3.5. Seguimiento de las canales.

Finalmente, pudo realizarse el seguimiento de 119 canales y sus vísceras tras el sacrificio del total de corderos incluidos inicialmente en el estudio, en las instalaciones del matadero de la plataforma logística de Mercazaragoza (Zaragoza, España).

Se anotó la identificación individual de cada una de las canales, así como la presencia de ictericia o no, y el decomiso o no de la canal. Este seguimiento pudo realizarse en 27 corderos del grupo A, 21 del grupo B, 20 del grupo C, 27 del grupo D y 24 del grupo E, respectivamente.

3.6. Análisis estadístico.

Para el análisis de los resultados, los grupos de tratamiento se utilizaron como variables. Para definir las variables se utilizaron estadísticas descriptivas basadas en recuentos y proporciones: número de garrapatas por individuo tanto en ovejas como en corderos, número de ovejas parasitadas, número de corderos parasitados y aparición de ictericia.

Para el análisis de variables cualitativas (ovejas parasitadas e ictericia [severa/leve/ninguna]) se utilizó la prueba de chi-cuadrado. Para el número de garrapatas, se utilizaron test no-paramétricos debido a la falta de ajuste respecto a la normalidad y la falta de transformaciones adecuadas de las variables. El procedimiento que se siguió fue la prueba de Kruskal-Wallis (grupos A, B, C, D y E) para analizar las diferencias entre grupos en cuanto a las muestras tomadas en cada momento (T0, T1, T2).

Estas pruebas se realizaron con el software IBM SPSS Statistics V.22. En todos los casos, se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

a. Prevalencia de *Anaplasma ovis* en el rebaño.

De las 369 hembras muestreadas, 364 resultaron positivas a *A. ovis* (364/369: 98,65% IC 97,71-99,58%). El valor Cq medio de *A. ovis* fue $26,90 \pm 1,733$. Se incluyeron en el estudio las primeras 250 ovejas positivas a *A. ovis* en parir, independientemente de su valor Cq. No obstante, fue necesario descartar a 10 de ellas debido a su muerte durante el experimento.

La mortalidad en el grupo de ovejas durante el experimento se mantuvo dentro de valores normales (10/250: 4,00%), con todas las muertes atribuidas a cuadros de mamitis agudas o hiperagudas. Ninguna de las ovejas mostró signos compatibles con anaplasmosis ovina.

b. Examen clínico y evaluación de la presencia de parásitos externos en ovejas.

Se realizó el examen clínico al mismo tiempo que se evaluaba de la presencia de garrapatas y otros parásitos externos en todas las ovejas semanalmente durante los meses de marzo y abril, cuyos resultados son expuestos en la tabla 2. Se observó un total de 122 garrapatas a lo largo del estudio, las cuales se encontraban principalmente en la cara interna del pabellón auricular de las ovejas. No se observaron diferencias significativas entre grupos en cuanto al número de garrapatas encontradas. El análisis taxonómico determinó que todas las garrapatas recogidas pertenecían al género *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.).

No se encontraron pulgas, ácaros u otros parásitos externos, aunque se pudo apreciar cómo, con el aumento de la temperatura, aumentó la población de moscas (*Musca domestica*) durante el mes de abril.

Tabla 2. Número de garrapatas recogidas en las ovejas de los diferentes grupos.

Grupo (n)		10 de marzo	17 de marzo	29 de marzo	31 de marzo	7 de abril	14 de abril	21 de abril	28 de abril	TOTAL
A (49)	Nº garrapatas	0	9	1	4	4	6	3	3	30
	Nº ovejas parasitadas	0	6	1	4	3	4	3	2	20
B (50)	Nº garrapatas	0	8	4	5	9	4	2	5	37
	Nº ovejas parasitadas	0	7	2	4	4	4	2	3	20
C (46)	Nº garrapatas	1	6	1	1	6	0	3	4	22
	Nº ovejas parasitadas	1	5	1	1	3	0	2	4	13
D (47)	Nº garrapatas	4	1	3	3	1	1	2	0	15
	Nº ovejas parasitadas	1	1	3	3	1	1	2	0	10
E (48)	Nº garrapatas	0	1	1	2	5	4	4	1	18
	Nº ovejas parasitadas	0	1	1	2	4	4	4	1	15
Nº total de garrapatas		5	25	10	15	25	15	14	13	122
		p=0.529	p=0.079	p=0.717	p=0.680	p=0.673	p=0.215	p=0.867	p=0.253	p=0.406
Nº total de ovejas parasitadas		2	21	8	14	15	15	13	10	78
		p=0.527	p=0.081	p=0.717	p=0.680	p=0.673	p=0.215	p=0.867	p=0.253	p=0.204

c. Examen clínico y evaluación de la presencia de parásitos externos en corderos.

Todos los corderos estudiados estaban aparentemente sanos, con buena condición corporal y presentaron un crecimiento acorde a la raza durante el experimento. En los exámenes clínicos realizados, no se observó ningún signo clínico asociado con la anaplasmosis ovina. La mortalidad de los corderos observada durante el experimento fue inferior al 2,00% (6/336: 1,79%), muy por debajo de los valores normales para la raza y sistema productivo, que recomiendan mortalidades en el período de lactación no deben superar el 5% de muertes (Delgado y Gutiérrez, 2009).

Se recogió una única garrapata en un cordero perteneciente al grupo control, a los 21 días tras el inicio del tratamiento (T1). Al igual que en las ovejas, la garrapata se encontró en el interior del pabellón auricular y se identificó como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato.

d. Análisis molecular.

Solo tres de los 336 corderos seleccionados para el experimento resultaron positivos a *A. ovis* (3/336: 0,89%). Dos de ellos formaban parte del grupo control (A) (crotales 1503 y 1509), y el cordero restante pertenecía al grupo E (crotal 058), grupo en el que las ovejas se habían tratado con cipermetrina antes del parto.

Dos de los corderos, uno del grupo A (1509) y otro del grupo E (058) fueron positivos en el muestreo T0, es decir, en el momento del nacimiento o durante la primera semana de vida, con una carga bacteriana alta (valores Cq de 23 y 25, respectivamente). Ambos corderos permanecieron positivos en los otros dos momentos de muestreo, T1, y T2, manteniendo en todo momento una elevada carga bacteriana (valores Cq de 23 y 27, respectivamente).

El otro cordero positivo (1503), fue el animal del grupo control en el que la única garrapata encontrada en los corderos fue observada en el momento T1. Este cordero fue negativo a *A. ovis* tanto en T0 como en T1, mientras que la muestra tomada en T2 mostró un resultado positivo, con un valor Cq de 26, justo 21 días después de haber sido detectada y retirada la garrapata.

e. Seguimiento de las canales.

Los corderos fueron sacrificados con un peso vivo de 21 a 23 kg durante mayo de 2023, con una edad de entre dos meses y dos meses y medio. Se examinaron 119 canales en el matadero (Tabla 3), gracias a la identificación individual de los animales. Solo uno de los animales, perteneciente al grupo control, fue decomisado por ictericia (0,84%; IC 95%: 0,32-2,16%). Este cordero, gracias al seguimiento individual, pudo ser identificado como el animal 1509, el cordero del grupo control que desde el momento T0 mostró un resultado positivo frente *A. ovis*, el cual mantuvo el resto de la prueba.

Igualmente, las canales de los otros dos corderos positivos a *A. ovis* (1503 y 058) mostraron ictericia moderada y esplenomegalia (1,68%; CI 0,60%-3,54%), aunque la intensidad de la ictericia no fue suficiente como para justificar el decomiso de ambas canales (Tabla 3). Las 116 canales restantes no mostraron ictericia o esplenomegalia.

Tabla 3. Clasificación de las canales a las que se realizó el seguimiento en matadero.

GRUPO	Nº de canales	Ictericia severa (decomiso)	Ictericia moderada	Sin ictericia
A	27	1 (3.70%)	1 (3.70%)	25 (92.60%)
B	21	0 (0%)	0 (0%)	21 (100%)
C	20	0 (0%)	0 (0%)	20 (100%)
D	27	0 (0%)	0 (0%)	27 (100%)
E	24	0 (0%)	1 (4.17%)	23 (95.83%)
TOTAL	119	1 (0.84%)	2 (1.68%)	116 (97.48%)

4.2. DISCUSIÓN.

La relevancia de la anaplasmosis ovina en ganado ovino varía considerablemente entre países e incluso entre regiones. Sin embargo, la importancia de esta y otras patologías transmitidas por garrapatas en ganadería es innegable (Betancur y Giraldo-Ríos, 2018). Los aspectos que determinan la relevancia de este tipo de patologías pueden verse influenciados principalmente por condiciones climáticas, geográficas y medioambientales. Estas condiciones pueden ser muy variables en el momento en el que nos encontramos, principalmente debido a las variaciones que están ocurriendo como consecuencia del cambio climático y al calentamiento global, lo que afecta especialmente en áreas susceptibles como son los países de la cuenca mediterránea (Lionello y Scarascia, 2018).

a. Prevalencia de *Anaplasma ovis*.

La prevalencia de *Anaplasma ovis* aún no ha sido ampliamente investigada a nivel nacional. Sorprendentemente, en nuestro estudio la prevalencia observada fue extremadamente alta, alcanzando el 98,65% (IC 97,71% - 99,58%), afectando casi a la totalidad del rebaño, independientemente de la edad de las ovejas. Esto contrasta marcadamente con los datos de prevalencia en ovejas obtenidos a partir de PCR cuantitativa específica para *A. ovis* reportados en otros países como Sudán (41,70%), Irak (66,7%) o Turquía (31,40%) (Renneker et al., 2013). En un estudio llevado a cabo en cabras en Córcega, Francia, bajo condiciones climáticas similares a las de España, se detectó una prevalencia individual media del 52,00% en 55 rebaños diferentes. Sin embargo, en este estudio se reportó que en 10 de los rebaños muestreados la prevalencia de entre el 90,00 y el 100%, aunque en estos casos solo se muestrearon 10 cabras por rebaño (Cabezas-Cruz et al., 2019).

Asimismo, se han reportado prevalencias elevadas en otras regiones, como en el norte de Portugal, donde se detectó una prevalencia de *Anaplasma ovis* del 91,70% en ovejas adultas (Renneker et al., 2013), y en Túnez, con una prevalencia del 70,10% en un estudio en el que se muestrearon 204 ovejas. Notablemente, en este estudio la prevalencia fue extremadamente alta en las zonas de costa mediterránea, llegando a alcanzar el 91,10% (Belkahia et al., 2014)

En varios estudios epidemiológicos basados en análisis serológicos, como el realizado en Italia por Torina y Caracapa (2012), se encontró una prevalencia del 82,90% de *Anaplasma sp.* en ovejas adultas. Sin embargo, cuando se comparó esta prevalencia con los resultados obtenidos mediante pruebas moleculares (método utilizado en este estudio), que sí permiten detectar la presencia de *Anaplasma ovis*, el porcentaje fue significativamente más bajo, reduciéndose al 47,35%. Resultados similares se observaron en Hungría, donde los análisis serológicos mostraron una prevalencia del 99,40% (Hornok et al., 2007). Estos resultados sugieren que, en algunas regiones, los animales pueden alcanzar un estado de endemidad, convirtiéndose en portadores del patógeno, sin manifestar signos clínicos evidentes. Además, esta podría ser una de las razones por las que *A. ovis* se considera un agente moderadamente patógeno, lo que a menudo resulta en una subestimación de su impacto en la salud del ganado (Hornok et al., 2007; Renneker et al., 2013).

b. Momento de infección.

Un aspecto clave relacionado con la alta prevalencia de *Anaplasma ovis* encontrada en este rebaño es el momento de infección de los animales. Estudios previos realizados en esta misma explotación indican que las corderas de reposición se infectan en las primeras semanas de vida, mostrando un alto número de animales positivos a edades muy tempranas (Lacasta et al., 2020; Lacasta et al., 2022). Este fenómeno parece estar asociado con un aumento del número de garrapatas durante la primavera, afectando tanto a los animales que pastan al aire libre como a los que permanecen en la nave, siendo las madres de estos corderos los que introducen las garrapatas al interior de la explotación, parasitando posteriormente a los corderos allí alojados. Por el contrario, otros estudios sugieren que la primera infección por *A. ovis* en ovejas se produce alrededor del primer parto o incluso en la edad adulta (Hornok et al., 2007; Calasanz et al., 2019; Lacasta et al., 2021).

En animales adultos, se ha descrito que los casos agudos se asocian a factores de estrés como la coinfección, temperaturas elevadas, vacunación, desparasitación, gran infestación con garrapatas, transporte de largas distancias y movimientos de animales (Manickam, 1987; Fierdhoff, 1997; Renneker et al., 2013). En este estudio no se observaron signos clínicos en

ningún momento, aunque tampoco se dieron ninguno de los factores estresantes mencionados anteriormente.

c. Las garrapatas como principal vector de transmisión.

Muchos estudios coinciden en que las garrapatas son el principal vector de la anaplasmosis ovina. Por esta razón, este estudio se ha centrado en las garrapatas, aunque cualquier otro insecto que hubiera sido encontrado en las ovejas se recogería para su identificación. Tras el estudio, *Rhipicephalus sanguineus* s.l. fue la única especie de garrapata observada y recogida en la granja, afectando tanto a las ovejas como a los corderos. En España se ha demostrado presencia de los géneros *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma*, *Dermacentor* y *Amblyoma* (Estrada, 2015), aunque se considera que los principales vectores biológicos de la anaplasmosis ovina son *Rhipicephalus* y *Dermacentor* (Hornok et al., 2007; Rymaszewska y Grenda, 2008; Torina y Caracapa, 2012). En otros estudios realizados en esta explotación (Lacasta et al., 2020; Lacasta et al., 2022) las garrapatas observadas también se clasificaron como *R. sanguineus* s.l., mientras que en el primer brote de anaplasmosis ovina detectado en ovino, que se dio en el sur de Aragón, la principal especie responsable fue *R. turanicus* (Lacasta et al., 2021).

Aunque las garrapatas se consideran el principal vector, otros autores sugieren que otras especies de insectos, como la mosca del ciervo (*Lipoptena cervi*), *Melophagus ovinus* (Zhao et al., 2018), los tabánidos (Hawkins et al., 1982) o las pulgas (Torina et al., 2013) pueden actuar como vectores mecánicos de *Anaplasma ovis*. En el presente trabajo no se encontraron otros vectores en los animales analizados.

d. Uso de acaricidas en el control de garrapatas.

El uso de acaricidas se ha descrito como un punto clave en el control de la transmisión de las enfermedades transmitidas por garrapatas (Stuen et al., 2012). Aunque en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre el número de garrapatas detectadas entre los grupos tratados con deltametrina o con cipermetrina debido al bajo número de garrapatas detectadas tanto en corderos como en ovejas.

La reducida presencia de garrapatas en los animales estudiados, incluyendo al grupo control en el que los animales no habían recibido ningún tratamiento, puede deberse a varias causas. En primer lugar, las 250 ovejas que formaban parte del experimento pastaban en un lote de 1000 ovejas, y el ganadero, con el objetivo de evitar la gran cantidad de decomisos que había tenido en años anteriores, trató también a las 750 ovejas restantes con cipermetrina “pour on”. Esto puede haber tenido como consecuencia un efecto repelente que podría entenderse de forma

similar a un efecto de inmunidad de rebaño, tal y como se ha descrito por otros autores en estudios que utilizan este tipo de productos (Delabie et al., 1985; Stuen et al., 2012; Robin et al., 2015).

Por otro lado, las condiciones climáticas durante la época del estudio fueron más cálidas y más secas que en los años previos, con un aumento de la temperatura media de 0,9°C y un 16,40% menos de precipitaciones comparando con el periodo de referencia (1981-2020) (AEMET, 2023). Esto pudo haber reducido el número de garrapatas. Sin embargo, esto sería contradictorio con la gran cantidad de garrapatas que los ganaderos reportaron haber encontrado en los perros como en los pastores del rebaño.

Varios estudios han investigado la eficacia de estos productos en rumiantes. Algunos de ellos demostraron una efectividad media, puesto que se seguían encontrando garrapatas tras el tratamiento, pero en mucha menos cantidad (Mitchel et al. 1986; Henderson y Stevens 1987). Estos datos concuerdan con lo observado durante este estudio, en el que se encontró un número reducido de garrapatas en los animales tras el tratamiento con los dos productos. Sin embargo, en otros estudios se ha demostrado que la deltametrina a concentración de 7,5 mg/ml tiene un buen efecto acaricida tanto frente a *I. ricinus* como frente a *R. sanguineus* (Mehlhorn et al., 2010).

Aunque no hay estudios específicos de la eficacia de la cipermetrina para el control del *R. sanguineus* en ovino, este principio activo se ha propuesto como un producto eficiente para prevenir la infestación con especies del género *Rhipicephalus* en ovino y en vacuno (da Silva et al., 2018; Kumar et al., 2021).

Stuen et al. (2012) demostraron que el uso de flumetrina, otro piretroide similar, también reduce significativamente la infestación con *I. ricinus* en corderos (Stuen et al., 2012). Sin embargo, es destacable el hecho de que durante los últimos años se ha detectado resistencia a este tipo de piretroides, un aspecto que debería tenerse en cuenta en el manejo de estas sustancias para el futuro (Barre et al., 2008; Veiga et al., 2012; Kumar et al., 2021; Sindhu et al., 2022).

e. Infección por *Anaplasma ovis* y decomiso de canales ictéricas

Asociado al reducido número de garrapatas encontradas en los animales durante el experimento, el número de corderos positivos a *A. ovis* también fue muy bajo (0,89%). Este resultado contrasta con la alta prevalencia de corderos positivos a *A. ovis* que se encontró en la granja en los dos años anteriores: 86,04% de positivos en 2020 (Lacasta et al., 2020) y 74,35%

en 2021 (Lacasta et al., 2022). Esta alta prevalencia tuvo relación con el número de canales ictericas asociadas con anaplasmosis en ovinos en los tres estudios que se han llevado a cabo en esta granja.

El porcentaje de decomisos de este estudio fue del 0,84% (0.32%-2.16%), una reducción del porcentaje de decomisos muy significativa con respecto a los años anteriores: 34,84% en 2020 (Lacasta et al., 2020) y 58,33 en animales no tratados en 2021 (Lacasta et al., 2022). La baja incidencia de decomisos junto a la baja prevalencia de infección por *A. ovis* en los corderos analizados parece claramente relacionada con el reducido número de garrapatas que se encontró tanto en los corderos como en sus madres.

f. Transmisión vertical de *A. ovis*.

Sorprendentemente, dos de los tres corderos positivos a *A. ovis* mostraron el primer resultado positivo entre las primeras 24 horas de vida y la primera semana de vida. Este resultado positivo puede deberse a una infestación temprana por garrapatas, pero el hecho de que los animales resultasen positivos tan rápido tras el nacimiento así como la estabulación de las madres durante la primera semana de vida para asegurar el vínculo entre madres y corderos, sugiere una posible vía de transmisión vertical de la bacteria que, aunque todavía no se ha demostrado en ovino (Jiménez et al., 2019), sí que se ha demostrado que esta vía es posible en vacuno para otras especies de *Anaplasma* (Costa et al., 2003; Grau et al., 2013; Bock et al., 2016; Lopo et al., 2016).

En 1987, Zaugg sugirió que la transmisión de *Anaplasma ovis* por vía transplacentaria podría ocurrir en condiciones de experimentación, aunque no se realizaron pruebas de diagnóstico directo (Zaugg, 1987). En otros estudios, se han obtenido resultados negativos de PCR en corderos nacidos de ovejas infectadas experimentalmente con *A. ovis* (Jiménez et al., 2019). Sin embargo, en estudios realizados en terneros de *Cervus canadiensis* con *A. ovis*, los autores sugieren que la transmisión vertical es posible (Hendrix et al., 2019). En bovino, la transmisión vertical de *A. marginale* está bien documentada (Costa et al., 2003; Grau et al., 2013; Bock et al., 2016; Lopo et al., 2016). La transmisión transplacentaria de *A. marginale* puede variar dependiendo de la región, condiciones climáticas, el animal, factores de inmunosupresión, momento de la gestación, la presencia de vectores y la variabilidad genética del agente (Salabarra y pino 1988; Lopo et al., 2016). Por lo tanto, basándonos en estos resultados, la transmisión vertical de este patógeno no se puede descartar completamente en ovino, y es necesario realizar más estudios para concretar este aspecto epidemiológico de la anaplasmosis ovina.

g. Estrategias futuras para el control de garrapatas y enfermedades transmitidas por ellas.

En las últimas décadas, gran cantidad de factores como el calentamiento global, con veranos más cálidos y secos, inviernos menos fríos y un aumento de la vegetación, han favorecido el desarrollo del ciclo de las garrapatas, acortando el periodo de diapausa y permitiendo el desarrollo de una mayor cantidad de generaciones de garrapatas (Parola et al., 2013; Semenza y Suk, 2018; Díaz-Cao et al., 2021). Esto ha producido un aumento importante de la presencia de enfermedades transmitidas por garrapatas.

El objetivo de este estudio era analizar la eficacia de la deltametrina y la cipermetrina para el control de las garrapatas, y aunque no se encontraron diferencias significativas entre grupos, los resultados sugieren que ambos productos podrían utilizarse para controlar la infestación por garrapatas y, por lo tanto, la anaplasmosis ovina en corderos. Sin embargo, es necesario desarrollar estrategias para conservar la eficacia de los tratamientos acaricidas existentes evitando la aparición de resistencias a los mismos (Willadsen, 2006; Walker, 2011; Abbas et al., 2014). Por lo tanto, es necesario realizar más estudios para desarrollar estrategias de control integrado que permitan controlar tanto la infestación con garrapatas como las enfermedades transmitidas por ellas.

Una combinación de diferentes medidas como el uso racional de acaricidas, monitorización de la presencia de garrapatas, control medioambiental, el estudio de la ecología de las garrapatas, la selección de animales genéticamente resistentes, el manejo nutricional, etc., aplicadas desde una perspectiva One Health, deberían incluirse en campañas integradas para controlar la infestación con garrapatas y las enfermedades transmitidas por ellas en los próximos años (Willadsen, 2006; Dantas-Torres et al., 2012; Abbas et al., 2014).

CONCLUSIONES

Tras la realización de este estudio se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. Se ha demostrado la eficacia de los piretroides sintéticos, cipermetrina y deltametrina pour on, para el control de la infestación de garrapatas en el ganado ovino. Ambos compuestos sugieren una significativa reducción en la presencia de garrapatas sobre los animales tratados.
2. Una reducción en la presencia de garrapatas en los corderos ha demostrado una baja incidencia de anaplasmosis ovina y el consiguiente decomiso de canales ictéricas.
3. Aunque la transmisión vertical de *A. ovis* no ha sido previamente demostrada en ovino, los resultados obtenidos en este estudio sugieren que esta vía de transmisión podría existir. Es necesario realizar más investigaciones para confirmar y comprender mejor esta posible vía de transmisión.

CONCLUSIONS

Following the completion of this study the following conclusions have been reached:

1. The efficacy of the synthetic pyrethroids, cypermethrin and deltamethrin pour on, for the control of tick infestation in sheep has been demonstrated. Both compounds suggest a significant reduction in the presence of ticks on treated animals.
2. A reduction in the presence of ticks on lambs has shown a low incidence of ovine anaplasmosis and subsequent condemnation of icteric carcasses.
3. Although vertical transmission of *A. ovis* has not previously been demonstrated in sheep, the results obtained in this study suggest that this route of transmission may exist. Further research is needed to confirm and better understand this possible transmission pathway.

VALORACIÓN PERSONAL Y AGRADECIMIENTOS

La anaplasmosis ovina es una patología no muy estudiada que ha cobrado importancia en los últimos años principalmente por las importantes pérdidas económicas que puede producir en el sector ovino. La realización de este trabajo me ha llevado a reflexionar sobre la situación actual de este y otros problemas del sector ovino, un sector cada vez más olvidado pero muy importante para el desarrollo y mantenimiento del mundo rural.

Este trabajo también me ha dado la oportunidad de ver de cerca el trabajo que realizan los ganaderos y pastores de ovino, su organización, saber hacer, resiliencia, disciplina, y también sus inquietudes, lo que me ha permitido ver las cosas desde otra perspectiva y darme cuenta, como futura veterinaria, de lo importante que es su trabajo para el trabajo de los veterinarios.

He podido, además, conocer de primera mano lo difícil (y también gratificante) que puede llegar a ser llevar a cabo una investigación de este tipo.

Me gustaría dedicar unas palabras de agradecimiento en primer lugar a mis tutores, Héctor y Delia, por darme la oportunidad de realizar este trabajo que no solo me ha permitido aprender sobre esta patología, sino que también me ha dado habilidades de organización del trabajo y gestión de la información que creo me resultarán muy útiles en mi futuro profesional. También al resto de profesores al frente del SCRUM, Luis Miguel, Juanjo y Marta, por acompañarme durante los últimos años de la carrera y darme la oportunidad de acercarme al mundo del ovino. Sin olvidarme de la familia Yebra, al frente de la explotación en la que se ha llevado a cabo este estudio, por abrirnos sus puertas cada miércoles.

Agradezco también a las compañeras que me han ayudado a realizar este trabajo. Finalmente, agradezco también a mi familia, por su apoyo incondicional, y en especial a mi abuelo, por siempre animarme a seguir mi propio camino.

BIBLIOGRAFÍA

Abbas, R. Z., Zaman, M. A., Colwell, D. D., Gilleard, J., Iqbal, Z. (2014). Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its managements: the state of play. *Veterinary Parasitology*, 203 (1-2), 6-20. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.03.006

AEMET. *Informe del estado del clima en España en 2022*. (2023). DOI: 10.31978/666-23-003-8

Barré, N., Li, A. Y., Miller, R. J., Gaïa, H., Delathière, J., Davey, R. B., & George, J. E. (2008). In vitro and in vivo evaluation of deltamethrin and amitraz mixtures for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in New Caledonia. *Veterinary Parasitology*, 155(1-2), 110-119. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.04.016

Bauer, B. U., Răileanu, C., Tauchmann, O., Fischer, S., Ambros, C., Silaghi, C., & Ganter, M. (2021). *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma ovis*—Emerging Pathogens in the German Sheep Population. *Pathogens*, 10(10), 1298. DOI: 10.3390/pathogens10101298

Bautista, G. (1996). La respuesta inmune celular en anaplasmosis bovina. *Ciencia Veterinaria*, 7(24), 315–329.

Belkahia, H., Said, M. B., Hamdi, S. E., Yahiaoui, M., Gharbi, M., Daaloul-Jedidi, M., Mhadhbi, M., Jedidi, M., Darghouth, M. A., Klabi, I., Zribi, L., & Messadi, L. (2014). First molecular identification and genetic characterization of *Anaplasma ovis* in sheep from Tunisia. *Small Ruminant Research*, 121(2-3), 404-410. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.07.009

Betancur, O. J. y Giraldo-Ríos, C. (2019). Economic and Health Impact of the Ticks in Production Animals. En *IntechOpen eBooks*. DOI: 10.5772/intechopen.81167

Bock, R. E., deVos, A. J., Kingston, T. G., & Carter, P. D. (2003). Assessment of a low virulence Australian isolate of *Anaplasma marginale* for pathogenicity, immunogenicity and transmissibility by *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, 118(1-2), 121-131. DOI: 10.1016/j.vetpar.2003.08.011

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611-622. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797

Cabezas-Cruz, A., Gallois, M., Fontugne, M., Allain, E., Denoual, M., Moutailler, S., Devillers, E., Zientara, S., Memmi, M., Chauvin, A., Agoulon, A., Vayssier-Taussat, M., & Chartier, C. (2019). *Epidemiology and genetic diversity of Anaplasma ovis in goats in Corsica, France. Parasites & Vectors, 12*(1). DOI: 10.1186/s13071-018-3269-7

Chadi, H., Moraga-Fernández, A., Sánchez-Sánchez, M., Chenchouni, H., De Mera, I. G. F., Garigliany, M., De la Fuente, J., Tennah, S., Sedrati, T., & Ghalmi, F. (2024). Molecular detection and associated risk factors of *Anaplasma marginale*, *A. ovis* and *A. platys* in sheep from Algeria with evidence of the absence of *A. phagocytophilum*. *Acta Tropica, 249*, 107040. DOI: 10.1016/j.actatropica.2023.107040

Chochlakis, D., Ioannou, I., Tselentis, Y., & Psaroulaki, A. (2010). Human Anaplasmosis and *Anaplasma Ovis* Variant. *Emerging Infectious Diseases, 16*(6), 1031-1032. DOI: 10.3201/eid1606.090175

Costa, S. C. L., De Magalhães, V. C. S., De Oliveira, U. V., Carvalho, F. S., De Almeida, C. P., Machado, R. Z., & Munhoz, A. D. (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. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2015.11.001

Cunze, S., Glock, G., & Klimpel, S. (2021). Spatial and temporal distribution patterns of tick-borne diseases (Tick-borne Encephalitis and Lyme Borreliosis) in Germany. *PeerJ, 9*, e12422. DOI: 10.7717/peerj.12422

Curtis, A. K., Kleinhenz, M. D., Anantatat, T., Martin, M. S., Magnin, G. C., Coetzee, J. F., & Reif, K. E. (2021). Failure to Eliminate Persistent *Anaplasma marginale* Infection from Cattle Using Labeled Doses of Chlortetracycline and Oxytetracycline Antimicrobials. *Veterinary Sciences, 8*(11), 283. DOI: 10.3390/vetsci8110283

Da Silva Rodrigues, V., Bonatte, P., Garcia, M. V., De Oliveira Souza Higa, L., Piña, F. T. B., Zimmermann, N. P., Duarte, P. O., Barros, J. C., & Andreotti, R. (2018). Efficacy profile of Cypermethrin and Chlorpyrifos based acaricides on *Rhipicephalus microplus* control on cattle in the rearing phase, naturally infested and exposed to tick fever agents in central Brazil. *Veterinary Parasitology. Regional Studies And Reports, 12*, 43-48.

DOI: 10.1016/j.vprsr.2018.02.001

Dantas-Torres, F., Chomel, B. B., & Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends In Parasitology, 28*(10), 437-446. DOI: 10.1016/j.pt.2012.07.003

De la Fuente, J., Garcia-Garcia, J. C., Blouin, E. F., Saliki, J. T., & Kocan, K. M. (2002). Infection of Tick Cells and Bovine Erythrocytes with One Genotype of the Intracellular Ehrlichia *Anaplasma marginale* Excludes Infection with Other Genotypes. *Clinical And Vaccine Immunology*, 9(3), 658-668. DOI: 10.1128/cdli.9.3.658-668.2002

Delabie, J., Bos, C., Fonta, C., & Masson, C. (1985). Toxic and repellent effects of cypermethrin on the honeybee: Laboratory, glasshouse and field experiments. *Pesticide Science*, 16(4), 409-415. DOI: 10.1002/ps.2780160417

Delgado Román, L.C. y Gutiérrez Martínez, P. (2009) *Manual práctico de Manejo de una explotación de ovino de carne*. Valladolid: Servicio de Formación Agraria e Iniciativas, Junta de Castilla y León.

Díaz-Cao, J. M., Adaszek, Ł., Dziegiel, B., Paniagua, J., Caballero-Gómez, J., Winiarczyk, S., Winiarczyk, D., Cano-Terriza, D., & García-Bocanegra, I. (2021). Prevalence of selected tick-borne pathogens in wild ungulates and ticks in southern Spain. *Transboundary And Emerging Diseases*, 69(3), 1084-1094. DOI: 10.1111/tbed.14065

Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and «HGE agent» as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 51(6), 2145-2165. DOI: 10.1099/00207713-51-6-2145

Eriks, I. S., Palmer, G. H., McGuire, T. C., Allred, D. R., & Barbet, A. F. (1989). Detection and quantitation of *Anaplasma marginale* in carrier cattle by using a nucleic acid probe. *Journal Of Clinical Microbiology*, 27(2), 279-284. DOI: 10.1128/jcm.27.2.279-284.1989

Estrada-Peña, A. Orden Ixodida: Las Garrapatas. IDE@-SEA (2015). 2015, pp. 1–15. Disponible en: http://sea-entomologia.org/IDE@/revista_13.pdf

Friedhoff, K. T., 1997. Tick-borne diseases of sheep and goats caused by Babesia, Theileria or Anaplasma spp. *Parasitologia* 39(1), 99– 109.

- Grau, H. E. G., Da Cunha Filho, N. A., Pappen, F. G., & Da Rosa Farias, N. A. (2013). Transplacental transmission of *Anaplasma marginale* in beef cattle chronically infected in southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária/Brazilian Journal Of Veterinary Parasitology*, 22(2), 189-193. DOI: 10.1590/s1984-29612013000200038
- Hawkins, J. A., Love, J. N., Hidalgo, R. J., 1982. Mechanical transmission of anaplasmosis by tabanids (Diptera: Tabanidae). *Am. J. Vet. Res.* 43(4), 732-734.
- Henderson, D., & Stevens, D. P. (1987). Cypermethrin pour-on for the control of ticks (*Ixodes ricinus*) on sheep. *Veterinary Record/The Veterinary Record*, 121(14), 317-319.
DOI: 10.1136/vr.121.14.317
- Hendrix, G. K., Brayton, K. A., & Burcham, G. N. (2019). *Anaplasma ovis* as the suspected cause of mortality in a neonatal elk calf. *Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31(2), 267-270. DOI: 10.1177/1040638719830456
- Hornok, S., Elek, V., De la Fuente, J., Naranjo, V., Farkas, R., Majoros, G., & Földvári, G. (2007). First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. *Veterinary Microbiology*, 122(3-4), 316-322. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.01.024
- Hornok, S., Földvári, G., Elek, V., Naranjo, V., Farkas, R., & De la Fuente, J. (2008). Molecular identification of *Anaplasma marginale* and rickettsial endosymbionts in blood-sucking flies (Diptera: Tabanidae, Muscidae) and hard ticks (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 154(3-4), 354-359. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.03.019
- Jimenez, J.C., Lacasta, D. (2015) "Estudios sobre la anaplamosis ovina en la comarca del Matarraña (Teruel)" Trabajo de Fin de Grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Jiménez, C., Benito, A., Arnal, J., Ortín, A., Gómez, M., López, A., Villanueva-Saz, S., & Lacasta, D. (2019). *Anaplasma ovis* in sheep: Experimental infection, vertical transmission and colostral immunity. *Small Ruminant Research*, 178, 7-14. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.07.003
- Kocan, K. M., De la Fuente, J., Blouin, E. F., & Garcia-Garcia, J. C. (2004). *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host-pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology*, 129(S1), S285-S300. DOI: 10.1017/s0031182003004700
- Kumar, S., Sharma, A. K., Kumar, B., Shakya, M., Patel, J. A., Kumar, B., Bisht, N., Chigure, G. M., Singh, K., Kumar, R., Kumar, S., Srivastava, S., Rawat, P., & Ghosh, S. (2021). Characterization of deltamethrin, cypermethrin, coumaphos and ivermectin resistance in populations of

Rhipicephalus microplus in India and efficacy of an antitick natural formulation prepared from *Ageratum conyzoides*. *Ticks And Tick-borne Diseases*, 12(6), 101818.

DOI: 10.1016/j.ttbdis.2021.101818

Lacasta, D., Ferrer, L. M., Sanz, S., Labanda, R., González, J. M., Benito, A. Á., Ruiz, H., Rodríguez-Largo, A., & Ramos, J. J. (2020). Anaplasmosis Outbreak in Lambs: First Report Causing Carcass Condemnation. *Animals*, 10(10), 1851. DOI: 10.3390/ani10101851

Lacasta, D., Lorenzo, M., González, J. M., De Arcaute, M. R., Benito, A. Á., Baselga, C., Milian, M. E., Lorenzo, N., Jiménez, C., Villanueva-Saz, S., & Ferrer, L. M. (2021). Epidemiological Study Related to the First Outbreak of Ovine Anaplasmosis in Spain. *Animals*, 11(7), 2036. DOI: 10.3390/ani11072036

Lacasta, D., Ruiz, H., Ortín, A., Villanueva-Saz, S., Estrada-Peña, A., González, J. M., Ramos, J. J., Ferrer, L. M., Benito, A. Á., Labanda, R., Malo, C., Verde, M. T., Fernández, A., & De Arcaute, M. R. (2022). Comparative Study of the Use of Doxycycline and Oxytetracycline to Treat Anaplasmosis in Fattening Lambs. *Animals*, 12(17), 2279. DOI: 10.3390/ani12172279

Lionello, P. y Scarascia, L. (2018). The relation between climate change in the Mediterranean region and global warming. *Regional Environmental Change*, 18(5), 1481-1493.

DOI: 10.1007/s10113-018-1290-1

Lopo, S.C., Carvalho, V., Volkart, U., Santos, F., Pereira, C., Zacarias, 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 Tick Borne Dis.* 7(2), 270-275. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2015.11.001

Manickam, R., 1987. Epidemiological and clinical observations of acute anaplasmosis in sheep. *Indian J. Vet. Med.* 7, 159– 160.

Mahmoud, H. y. A. H., Tanaka, T., Ali, A. O., & Emeish, W. F. A. (2024). Molecular detection and characterization of *Anaplasma ovis*, *Theileria ovis*, and *Theileria lestoquardi* in sheep and goats in Luxor, Egypt. *BMC Veterinary Research*, 20(1). DOI: 10.1186/s12917-024-04109-5

Martínez, S.; Corona, B.; Minet, C. y Albina, E. (2004). Comparación de las secuencias de los genes *msp5* y *mspα* de los aislados habana y Florida de *A. marginale*. *Rev. Salud Animal*. Vol. 26, No. 2: 73- 81.

- Mason, K. L., Gonzalez, M. V., Chung, C., Mousel, M. R., White, S. N., Taylor, J. B., & Scoles, G. A. (2017). Validation of an improved Anaplasma antibody competitive ELISA for detection of Anaplasma ovis antibody in domestic sheep. *Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29(5), 763-766. DOI: 10.1177/1040638717709494
- Matei, I. A., Estrada-Peña, A., Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Varela-Castro, L., Potkonjak, A., Zeller, H., & Mihalca, A. D. (2019). A review on the eco-epidemiology and clinical management of human granulocytic anaplasmosis and its agent in Europe. *Parasites & Vectors*, 12(1). DOI: 10.1186/s13071-019-3852-6
- Mehlhorn, H., Schumacher, B., Jatzlau, A., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K. A. S., Klimpel, S., & Pohle, H. (2010). Efficacy of deltamethrin (Butox® 7.5 pour on) against nymphs and adults of ticks (Ixodes ricinus, Rhipicephalus sanguineus) in treated hair of cattle and sheep. *Parasitology Research*, 108(4), 963-971. DOI: 10.1007/s00436-010-2141-2
- Mitchell, G., Webster, K., & Wright, C. (1986). Use of deltamethrin «pour on» for control of the sheep tick Ixodes ricinus. *Veterinary Record/The Veterinary Record*, 119(7), 156-157. DOI: 10.1136/vr.119.7.156
- Nicholson, W. L., Allen, K. E., McQuiston, J. H., Breitschwerdt, E. B., & Little, S. E. (2010). The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends In Parasitology*, 26(4), 205-212. DOI: 10.1016/j.pt.2010.01.007
- OIE. (2012). Bovine Anaplasmosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, VI (Mayo), 589–600.
- Parola, P., Paddock, C. D., Socolovschi, C., Labruna, M. B., Mediannikov, O., Kernif, T., Abdad, M. Y., Stenos, J., Bitam, I., Fournier, P., & Raoult, D. (2013). Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: A Geographic Approach. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 657-702. DOI: 10.1128/cmr.00032-13
- Pereira, M.C., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J., Klafke, G.M., 2008. Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência. In: Editora Med Vet, Sao paulo, Brasil.
- Pfäffle, M., Littwin, N., Muders, S. V., & Petney, T. N. (2013). The ecology of tick-borne diseases. *International Journal for Parasitology*, 43(12-13), 1059-1077. DOI: 10.1016/j.ijpara.2013.06.009
- Piesman, J., & Eisen, L. (2008b). Prevention of Tick-Borne Diseases. *Annual Review Of Entomology*, 53(1), 323-343. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093429

Pipano, E., Alekceev, E., Galker, F., Fish, L., Samish, M., & Shkap, V. (2003). Immunity against *Boophilus annulatus* induced by the Bm86 (Tick-GARD) vaccine. *Experimental & Applied Acarology*, 29(1/2), 141-149. DOI: 10.1023/a:1024246903197

Popara, M., Villar, M., Mateos-Hernández, L., De Mera, I. G. F., Marina, A., Del Valle, M., Almazán, C., Domingos, A., & De la Fuente, J. (2013). Lesser protein degradation machinery correlates with higher BM86 tick vaccine efficacy in *Rhipicephalus annulatus* when compared to *Rhipicephalus microplus*. *Vaccine*, 31(42), 4728-4735.

DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.08.031

Rar, V., Tkachev, S., & Tikunova, N. (2021). Genetic diversity of *Anaplasma* bacteria: Twenty years later. *Infection, Genetics And Evolution*, 91, 104833. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104833

Raynal, J.T., Silva, A.A., Sousa Tde, J., Bahiense, T.C., Meyer, R., Portela, R.W., 2013. Acaricides efficiency on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from Bahia state North-Central region. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 22, 71–77. DOI: 10.1590/S1984-29612013005000006

Renneker, S., Abdo, J., Salih, D. E. A., Karagenç, T., Bilgiç, H., Torina, A., Oliva, A. G., Campos, J., Kullmann, B., Ahmed, J., & Seitzer, U. (2013). Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer? *Transboundary And Emerging Diseases*, 60, 105-112.

DOI: 10.1111/tbed.12149

Robin, M., Archer, D., McGowan, C., Garros, C., Gardès, L., & Baylis, M. (2015). Repellent effect of topical deltamethrin on blood feeding by *Culicoides* on horses. *Veterinary Record/The Veterinary Record*, 176(22), 574. DOI: 10.1136/vr.102800

Ruiz, H., Villarroja, S. S., Labanda, R., Lozano, D. L., Mayayo, L. M. F., Saínz, J. M. G., Benito, A. A., Largo, A. R., & Antón, J. J. R. (2020). Anaplasmosis ovina en España. *MG Mundo Ganadero*, 31(296), 48-52.

Ruiz, H., de Arcaute, M. R., Benito, A. Á., Villanueva-Saz, S., Jiménez, J. C., & Lacasta, D. (2024). Long-lasting infection with *Anaplasma ovis* in sheep. *Veterinary Research Communications*, 48(1), 521-525. DOI: 10.1007/s11259-023-10186-y

Rymaszewska, A. y Grenda, S. (2008). Bacteria of the genus *Anaplasma* - characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinárni Medicina*, 53(11), 573-584. DOI: 10.17221/1861-vetmed

Salabarría, F. F. y Pino, R., 1988. Vertical transmission of *Anaplasma marginale* in cows affected in late pregnancy. *Rev. Cub. Cien. Vet.* 19, 179-182.

- Scientific Opinion on Geographic Distribution of Tick-borne Infections and their Vectors in Europe and the other Regions of the Mediterranean Basin. (2010). *EFSA Journal*, 8(9), 1723. DOI: 10.2903/j.efsa.2010.1723
- Semenza, J. C. y Suk, J. E. (2017). Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 365(2). DOI: 10.1093/femsle/fnx244
- Sindhu, Z. U. D., Naseer, M. U., Raza, A., Aslam, B., Ahmad, J., Abbas, R. Z., Khan, M. K., Imran, M., Zafar, M. A., & Khattak, B. (2022). Resistance to Cypermethrin Is Widespread in Cattle Ticks (*Rhipicephalus microplus*) in the Province of Punjab, Pakistan: In Vitro Diagnosis of Acaricide Resistance. *Pathogens*, 11(11), 1293. DOI: 10.3390/pathogens11111293
- Song, R., Wang, Q., Guo, F., Liu, X., Song, S., Chen, C., Tu, C., Wureli, H., & Wang, Y. (2018). Detection of *Babesia* spp., *Theileria* spp. and *Anaplasma ovis* in Border Regions, northwestern China. *Transboundary And Emerging Diseases*, 65(6), 1537-1544. DOI: 10.1111/tbed.12894
- Stich, R. W., Sauer, J. R., Bantle, J. A., & Kocan, K. M. (1993). Detection of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in Secretagogue-Induced Oral Secretions of *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) with the Polymerase Chain Reaction. *Journal Of Medical Entomology*, 30(4), 789-794. DOI: 10.1093/jmedent/30.4.789
- Stuen, S., Enemark, J. M., Artursson, K., & Nielsen, B. (2012). Prophylactic treatment with flumethrin, a pyrethroid (Bayticol®, Bayer), against *Anaplasma phagocytophilum* infection in lambs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 54(1). DOI: 10.1186/1751-0147-54-31
- Stuen, S., Granquist, E. G., & Silaghi, C. (2013). *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 3. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00031
- Stuen, S. (2016). Haemoparasites in small ruminants in European countries: Challenges and clinical relevance. *Small Ruminant Research*, 142, 22-27. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2016.03.005
- Torina, A., Galindo, R. C., Vicente, J., Di Marco, V., Russo, M., Aronica, V., Fiasconaro, M., Scimeca, S., Alongi, A., Caracappa, S., Kocan, K. M., Gortazar, C., & De la Fuente, J. (2010). Characterization of *Anaplasma phagocytophilum* and *A. ovis* infection in a naturally infected sheep flock with poor health condition. *Tropical Animal Health And Production*, 42(7), 1327-1331. DOI: 10.1007/s11250-010-9580-8

- Torina, A. Caracappa, S. (2012). Tick-borne diseases in sheep and goats: Clinical and diagnostic aspects. *Small Rum. Res.* 106, S6-S11. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2012.04.026
- Torina, A., Agnone, A., Blanda, V., Alongi, A., D'Agostino, R., Caracappa, S., Marino, A., Di Marco, V., De la Fuente, J., (2012). Development and validation of two PCR tests for the detection of and differentiation between *Anaplasma ovis* and *Anaplasma marginale*. *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 282–286. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.033
- Torina, A., Blanda, V., Antoci, F., Scimeca, S., D'agostino, R., Scariano, E., Piazza, A., Galluzo, P., Giudice, E., Caracappa, S., (2013). A molecular survey of *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Ehrlichia canis* and *Babesia microti* in foxes and fleas from Sicily. *Transbound. Emerg. Dis.* 60, 125-130. DOI: 10.1111/tbed.12137
- Trueblood, S. E. y Palmer, G. H. (1998). Anaplasmosis: A Review of Diagnostic Techniques. 8th National Veterinary hemoparasite Disease Conference.
- Uilenberg, G., (1997). General review of tick-borne diseases of sheep and goats world-wide. *Parassitologia* 39(2), 161-165.
- Veiga, L. P. H. N., De Souza, A. P., Bellato, V., Sartor, A. A., De Oliveira Nunes, A. P., & Cardoso, H. M. (2012). Resistance to cypermethrin and amitraz in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* on the Santa Catarina Plateau, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária/Brazilian Journal Of Veterinary Parasitology*, 21(2), 133-136.
DOI: 10.1590/s1984-29612012000200011
- Walker, A. R. (2011). Eradication and control of livestock ticks: biological, economic and social perspectives. *Parasitology*, 138(8), 945-959. DOI: 10.1017/s0031182011000709
- Willadsen, P. (2006b). Tick control: Thoughts on a research agenda. *Veterinary Parasitology*, 138(1-2), 161-168. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.01.050
- World organization for animal health. (1996, 2000). Manual of standards for diagnostic test and vaccines: 295-300. world organization for animal health, paris, france.
- Yasini, S., Khaki, Z., Rahbari, S., Kazemi, B., Amoli, J. S., Gharabaghi, A., & Jalali, S. (2012). Hematologic and Clinical Aspects of Experimental Ovine Anaplasmosis Caused by *Anaplasma ovis* in Iran. PubMed Central (PMC).
- Zaugg, J.L., 1987. Ovine anaplasmosis: in utero transmission as it relates to stage of gestation. *Am. J. Vet. Res.* 48, 100–103.

Zhao, L., He, B., Li, K., Li, F., Zhang, L., Li, X., & Liu, Y. (2018). First report of *Anaplasma ovis* in pupal and adult *Melophagus ovinus* (sheep ked) collected in South Xinjiang, China. *Parasites & Vectors*, *11*(1). DOI: 10.1186/s13071-018-2788-6