



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**  
**MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE**

**Importancia de la movilización del ganado de zonas endémicas a zonas  
libres de garrapata**

**TESIS**

**Que como parte de los requerimientos para obtener el grado de**

**Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable**

**Presenta**

**MVZ. Alfredo Lara González**

**Dirigida por**

**Dr. Germinal Jorge Cantó Alarcón**

**Santiago de Querétaro, Qro. 29 de agosto de 2019**

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

**Importancia de la movilización del ganado de zonas endémicas a zonas  
libres de garrapata**

**TESIS**

Que como parte de los requerimientos para obtener el grado de  
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

**Presenta**

MVZ. Alfredo Lara González

**Dirigida por**

Dr. Germinal Jorge Cantó Alarcón

**Sinodales**

Dr. Germinal Jorge Cantó Alarcón

Presidente

Dr. Feliciano Milián Suazo

Secretario

M.S.P.A.S. Roberto Ilwikatzin Guerrero

Solorio

Vocal

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú

Vocal

Dr. Carlos A. Vega y Murguía

Vocal

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

29 de agosto de 2019

México

## RESUMEN

Las garrapatas son parásitos endémicos de las regiones tropicales y subtropicales del mundo; causan gran impacto en la producción ganadera bovina pues ocasionan pérdidas económicas como la disminución en las variables productivas: ganancia de peso, conversión alimenticia y aumento de costos de producción por la compra de insumos para su control, entre otros. Además, las garrapatas son vectores de agentes infecciosos como *Babesia bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale*. En México existe una campaña contra la garrapata *Boophilus spp* (*Rhipicephalus*), dicha campaña busca la erradicación del género *Rhipicephalus* en el territorio nacional, así como evitar la infestación o re infestación en zonas declaradas libres, esto está regulado y supervisado por SAGARPA. La protección de regiones, estados o zonas libres de *Rhipicephalus spp* se debe efectuar mediante un estricto control de la movilización de los animales, con el que se prohíba el traslado de animales infestados por garrapata hacia otras zonas del territorio nacional. Durante este trabajo se observó que la movilización de ganado de zonas endémicas de la garrapata a través del país se lleva a cabo sin ninguna restricción y que los cordones zoonosanitarios no se encuentran en funcionamiento, con esto, la garrapata y las enfermedades que éstas transmiten pueden ser diseminadas a zonas libres. Para este trabajo se recolectaron muestras de dos Unidades de Producción Pecuaria (UPP) de ganado bovino de carne ubicadas en el municipio de Ezequiel Montes, en ambas UPP se encontraron animales infestados con garrapatas del género *Rhipicephalus*, no se observó *A. marginale*, *B. bigemina* o *B. bovis* en los frotis sanguíneos realizados a los bovinos, las garrapatas recolectadas durante los muestreos se les determinó la resistencia a ixodicidas y los resultados fueron: Lindano 48%, Chlorpiriphos 51.58%, Coumaphos 89.62%, Diazinon 90.68%, Flumetrina 80.22%, Deltrametrina 66.67%, Cypermetrina 66.76%, Amitraz 79.78% de larvas vivas. Además, a las garrapatas se les realizó la prueba de hemolinfa, encontrando la presencia de quinetos de *Babesia*. Posteriormente, se realizaron muestreos a ganado de pequeños productores en la comunidad de Urecho ubicado entre los límites de los municipios de Ezequiel Montes y Tequisquiapan, donde se observaron animales con signos clínicos

sugerentes a *Babesia*, se trataron 30 animales con imidocarb, tres animales murieron debido a la presencia de anemia hemolítica, en los resultados de los frotis sanguíneos se encontró la presencia de trofozoitos de *B. bigemina* dentro de eritrocitos de dos de los animales, en el tercer animal se encontró esplenomegalia, en dos de los animales vivos tratados con imidocarb se encontró la presencia de *A. marginale* en los resultados de frotis sanguíneos. Por otro lado, las garrapatas recolectadas resultaron ser resistentes a Amitraz 65.75%. Un becerro de 6 meses de edad, de la raza suizo americano, proveniente de una UPP ubicada en el municipio del Marqués especializada en la producción láctea, fue introducido a pastar junto con los animales de los pequeños productores de la zona de Urecho durante los meses de diciembre y enero, al retirar el becerro, se le retiraron 51 garrapatas repletas, 17 hembras no repletas, 23 machos y 8 ninfas de garrapata *Rhipicephalus annulatus*. Con estos datos concluimos que la movilización de ganado de zonas endémicas a zonas libres impacta de manera negativa en la transmisión de garrapatas y la diseminación de enfermedades de las que son vectores, así mismo, este trabajo nos brinda información para la implementación de medidas precautorias que eviten el establecimiento de la garrapata en regiones consideradas libres y hace un llamado a las autoridades para trabajar en la contención de este vector.

**Palabras Clave:** *Babesia*, *Anaplasma*, Resistencia, Garrapata

## SUMMARY

Ticks are endemic parasites from tropical and subtropical regions of the world; they cause great impact on bovine livestock production because of the economic losses like the decrease in the productive variables: weight gain, food conversion and the increase of production costs for the purchase of inputs for their control, etc. In addition, ticks are vectors of infectious agents such as *Babesia bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale*. In Mexico we have a campaign against the *Boophilus* spp ticks (*Rhipicephalus*), this campaign aims to eradicate the *Rhipicephalus* from the national territory, as well as to prevent the infestation or re infestation in areas declared as free, this is regulated and supervised by SAGARPA. The protection of regions, states or *Rhipicephalus* spp free areas should be carried out by a strict control of the mobilization of the animals, prohibiting the movement of infected tick animals to other national territory areas. During this work it was noted that the mobilization of livestock across the country through tick-endemic areas is carried out without any restriction, and that the zoosanitary cords are not operating as they are supposed to, the ticks and the diseases they transmit could be disseminated to tick free zones.

For this research samples from two units of livestock production of meat cattle from Ezequiel Montes were collected, in both samples *Rhipicephalus* tick infested animals were found, but didn't found agents *A. marginale*, *B. bigemina* and *B. bovis* on blood smears taken from bovine, ticks collected during sampling were tested for acaricide resistance and the results were: Lindane 48%, Chlorpiriphos 51.58%, Coumaphos 89.62% Diazinon 90.68%, Flumethrin 80.22%, Deltrametrin 66.67%, Cypermethrin 67.76%, Amitraz 79.78%. In addition, a hemolymph test was performed on this ticks, finding the presence of *Babesia* kinetes. Subsequently, samplings were carried out to a smallholder livestock in the community of Urecho, located between the boundaries of Ezequiel Montes and Tequisquiapan. Cattle with suggestive clinical signs for *Babesia* were found, 30 animals were treated with imidocarb, three animals died because of hemolytic anemia, blood smears showed the presence of trophozoites of *B. bigemina* in two animals, in the third animal

hepatomegaly was found, two of the living treated animals were found with the presence of *A. marginale* in blood smears. On the other hand, collected ticks were found to be resistant to Amitraz 65.75%. We introduced a 6 months old, American Swiss calf, coming from a UPP located in the Marques region, specialized in dairy production, with the small producers of the Urecho area during the months of December and January, by the time we withdraw the calf from the area, 51 filled ticks, 17 not filled females, 23 males and 8 nymphs of *Rhipicephalus* spp were removed from it. We conclude that the mobilization of cattle from endemic areas to free zones has a negative impact in the tick transmission and the diseases, likewise, this work provides us with information for the implementation of precautionary measures that prevents the establishment of the ticks in free zones, and it calls on the authorities to work on the containment of this vector.

**Key Words:** *Babesia*, *Anaplasma*, Tick, Resistance

## DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a mis padres Alfredo Juan Lara y Marivel González de quienes siempre he tenido todo el apoyo incondicional en todo momento y su cariño.

A mis hermanos Luis Eduardo y Francisco Javier, que con su cariño me impulsan día a día a crecer más como persona y profesionalmente, ellos que son gran parte de mi motor que me mueve día a día, ya que este logro no es solo mío y recordarles que cuando nos proponemos algo no hay imposibles.

A Isabella Lara que, aunque en tampoco tiempo significa tanto para mí.

A toda mi familia que, con su cariño, y forma peculiar de ser siempre han estado presentes, hay una frase que dice que la diferencia de los amigos y la familia es, que a los amigos los escogemos y a la familia no, pero en lo personal si me dieran escoger yo los escogería cada uno de ellos nuevamente.

Al Dr. Cantó que en un principio dudo, pero me dio la oportunidad y la confianza.

A mis sinodales por sus aportaciones y sus conocimientos que me brindaron a lo largo de este proceso.

## AGRADECIMIENTOS

No puedo expresar todo el agradecimiento que le tengo a mis padres, por darme la vida, por apoyarme siempre por darme una educación, por forjar la persona que soy hoy en día, les estaré agradecido siempre y los amare toda mi vida.

Agradezco al Dr. Cantó por su apoyo, por su paciencia y su guía en este proceso.

Al Dr. Milián, Dr. Vega y la Dra. Tipacamú por compartirme sus conocimientos, por sus críticas constructivas y proporcionarme herramientas para culminar este proyecto.

A Ilwi por su apoyo incondicional, tiempo, conocimiento y dedicación, ya que fue pieza muy importante en este proceso, por su solidaridad y amistad.

A María Jose por todo el apoyo que me brindo, su paciencia, por ser un pilar de apoyo en este proceso como en lo personal.

A todos mis amigos que fueron pieza fundamental para alentarme, compartir experiencias, conocimientos y brindarme su amistad durante este proceso.

A los productores que me permitieron muestrear sus animales y que gracias a ellos pude realizar este trabajo.

A Phibro por darme la oportunidad y el espacio de seguir preparando profesionalmente.

A la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, ya que me abrió las puertas para continuar con mi preparación profesional y con esto alcanzar una de mis metas personales.

Gracias a Dios por darme los medios, las oportunidades y todas las personas que me rodean, y seguir lleno de bendiciones.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	i
SUMARY.....	iii
DEDICATORIAS.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
ÍNDICE.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS .....	ixx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS .....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1. Generalidades .....	2
2.1.1. Garrapatas .....	2
2.2. <i>Rhipicephalus</i> spp.....	4
2.2.1. Taxonomía .....	5
2.2.2. Ciclo biológico.....	8
2.2.3. Importancia.....	10
2.2.3.1. Distribución.....	11
2.2.3.2. Enfermedades transmitidas .....	12
2.2.2.2.1. Anaplasmosis .....	12
2.2.2.2.2. Babesiosis .....	15
2.2.3.3. Resistencia a ixodícidas .....	20
2.3. <i>Amblyomma</i> spp. ....	22
2.3.1. Generalidades .....	22
2.3.2. Taxonomía .....	24
2.3.3. Ciclo biológico .....	27

2.3.4. Importancia.....	28
2.3.4.1. Distribución.....	29
2.3.4.2. Enfermedades transmitidas .....	35
III. OBJETIVOS .....	37
3.1. Objetivo específico .....	37
3.2. Objetivos específicos.....	37
IV. MATERIAL Y MÉTODOS .....	38
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
VI. CONCLUSIONES .....	47
VII. REVISION DE LITERATURA.....	48
VIII. APÉNDICE.....	56

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Clasificación taxonómica del género <i>Rhipicephalus</i> .	5
2	Clasificación taxonómica del género <i>Amblyomma</i> .	24
3	Registro de presencia de garrapatas del género <i>Amblyomma</i> en México por estado.	29
4	Porcentaje de animales infestados con garrapatas a la recepción en UPP de Ezequiel Montes durante junio, julio y agosto del 2018.	40
5	Resultados de la prueba de inmersión de larvas modificada para Ivermectina en garrapatas <i>Rhipicephalus</i> colectadas en UPP de Ezequiel Montes.	41
6	Resultados de las pruebas de resistencia, realizados en el CENAPA para diferentes compuestos.	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Anatomía externa de las garrapatas duras (Ixodidae).	3
2	Posicionamiento relativo de los órganos internos de una garrapata adulta macho, de la familia Ixodidae	4
3	Ciclo de vida de <i>Rhipicephalus microplus</i> .	9
4	Ciclo de vida de <i>Babesia bigemina</i>	17
5	Ciclo de vida de <i>Amblyomma mixtum</i> .	28
6	Distribución geográfica de las garrapatas más importantes que infestan al ganado bovino en México.	35

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA	Título	Página
1	Vaca nativa de los pequeños productores de Urecho con hemoglobinuria.	44
2	Deceso de la vaca con hemoglobinuria horas más tarde.	44
3	Trofozoito de <i>Babesia</i> en frotis sanguíneo de otra vaca nativa de los pequeños productores de la zona de Urecho con hemoglobinuria.	45
4	Hematocritos de dos vacas nativas de los pequeños productores en la zona de Urecho con hemoglobinuria.	45
5	Cuerpos de inclusión de <i>A. marginale</i> en frotis sanguíneo, en vaca nativa de los productores de Urecho.	45
6	Cuerpos de inclusión de <i>A. marginale</i> en frotis sanguíneo, en vaca nativa de los productores de Urecho.	45

## I.INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son parásitos endémicos de las regiones tropicales y subtropicales del mundo; causan gran impacto en la producción ganadera bovina pues ocasionan pérdidas económicas como la disminución en las variables productivas: ganancia de peso, conversión alimenticia y aumento de costos de producción por la compra de insumos para su control, entre otros. Además, las garrapatas son vectores de agentes infecciosos como *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *Anaplasma marginale* entre otros. En México contamos con la campaña contra la garrapata *Boophilus spp (Rhipicephalus)*, dicha campaña busca la erradicación de la garrapata *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus* en el territorio nacional, así como evitar la infestación o re infestación en zonas declaradas libres, esto está regulado y supervisado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Además, existe la presencia de otras especies de garrapatas que afectan la ganadería nacional como las pertenecientes al género *Amblyomma*, la protección de regiones, estados o zonas libres de *Rhipicephalus spp* y *Amblyomma* se debe de efectuarse mediante un estricto control de la movilización de los animales, con el que se prohíba el traslado de animales infestados por garrapata hacia otras zonas del territorio nacional. Esto último no se ha realizado de manera adecuada durante los últimos años, por lo que se considera de importancia conocer que es lo que está sucediendo en la región de engorda de ganado de carne en el estado de Querétaro.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades

#### 2.1.1. Garrapatas

Las garrapatas pertenecen al filo de los artrópodos, los artrópodos son el grupo más numeroso de animales que habitan la tierra, están caracterizados por tener apéndices articulados, cuerpo y apéndices se encuentran cubiertos por una cutícula, esta última formada por un polisacárido nitrogenado y una proteína llamados quitina y esclerótica respectivamente, estas le confieren dureza a su esqueleto externo (Prescott *et al.*, 2003).

Las garrapatas son ectoparásitos de una gran variedad de huéspedes, entre ellos animales silvestres y domésticos e incluso pueden afectar al humano, pueden transmitir distintos patógenos. Su transmisión se realiza por el contacto directo; sus estados evolutivos son el huevo, larva, ninfa y adulto y su desarrollo puede darse en uno o más huéspedes dependiendo de la especie (Quiroz, 1990).

La anatomía externa de las garrapatas en general, está comprendida por 3 regiones, el capítulo, el idiosoma y las patas. El capítulo contiene la base del capítulo, este une al capítulo con el resto del cuerpo, los quelíceros, los cuales utiliza para cortar y penetrar la piel del hospedador, los palpos y el hipostoma, que se encuentra armado con dientes en forma de ganchos para mantenerse unido al huésped. El idiosoma se divide en una región anterior o podosoma y una posterior o opistoma, el podosoma contiene los cuatro pares de patas y el poro genital y en el opistoma se encuentran las placas con los espiráculos y la apertura anal (figura 1). Las patas se encuentran divididas en 6 segmentos y se articulan con el cuerpo por medio de las coxas. En los tarsos de las primeras patas se encuentra el órgano de Hallern un importante órgano sensitivo que permite la detección de olor, calor y probablemente otros factores externos que le asisten con la localización de un huésped idóneo. En las garrapatas de la familia Ixodidae encontramos una placa esclerotizada en la parte dorsal del cuerpo, este escudo cubre el dorso completo en

los machos adultos y solo la mitad anterior en hembras adultas, ninfas y larvas (Bowman, 2011; Quiroz, 1990; Sonenshine and Michael, 2014).

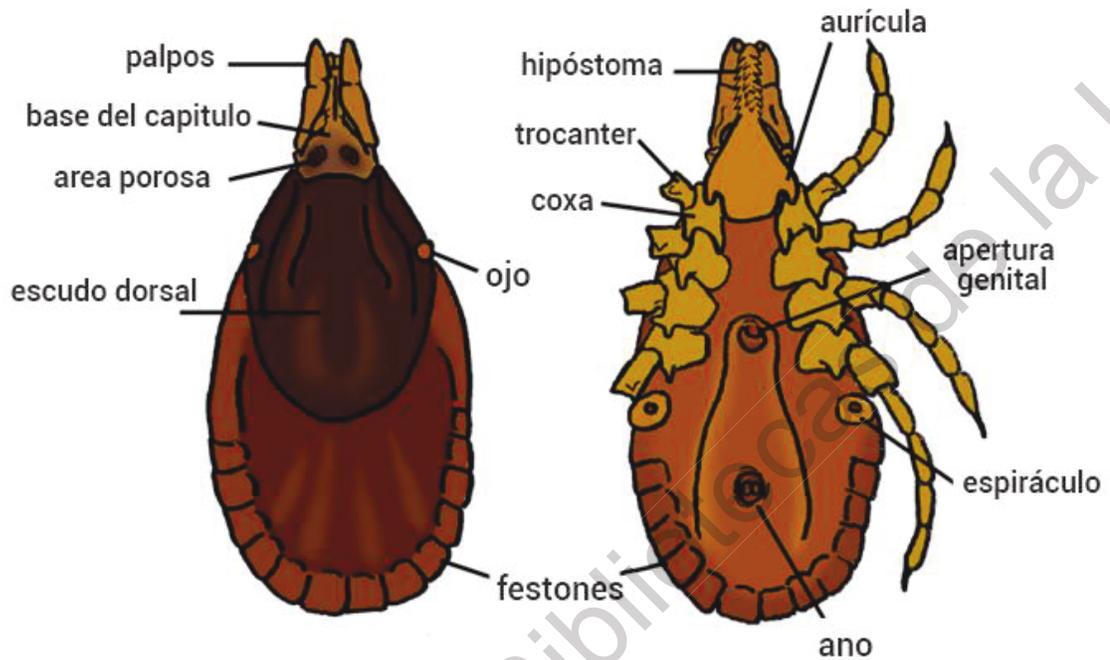
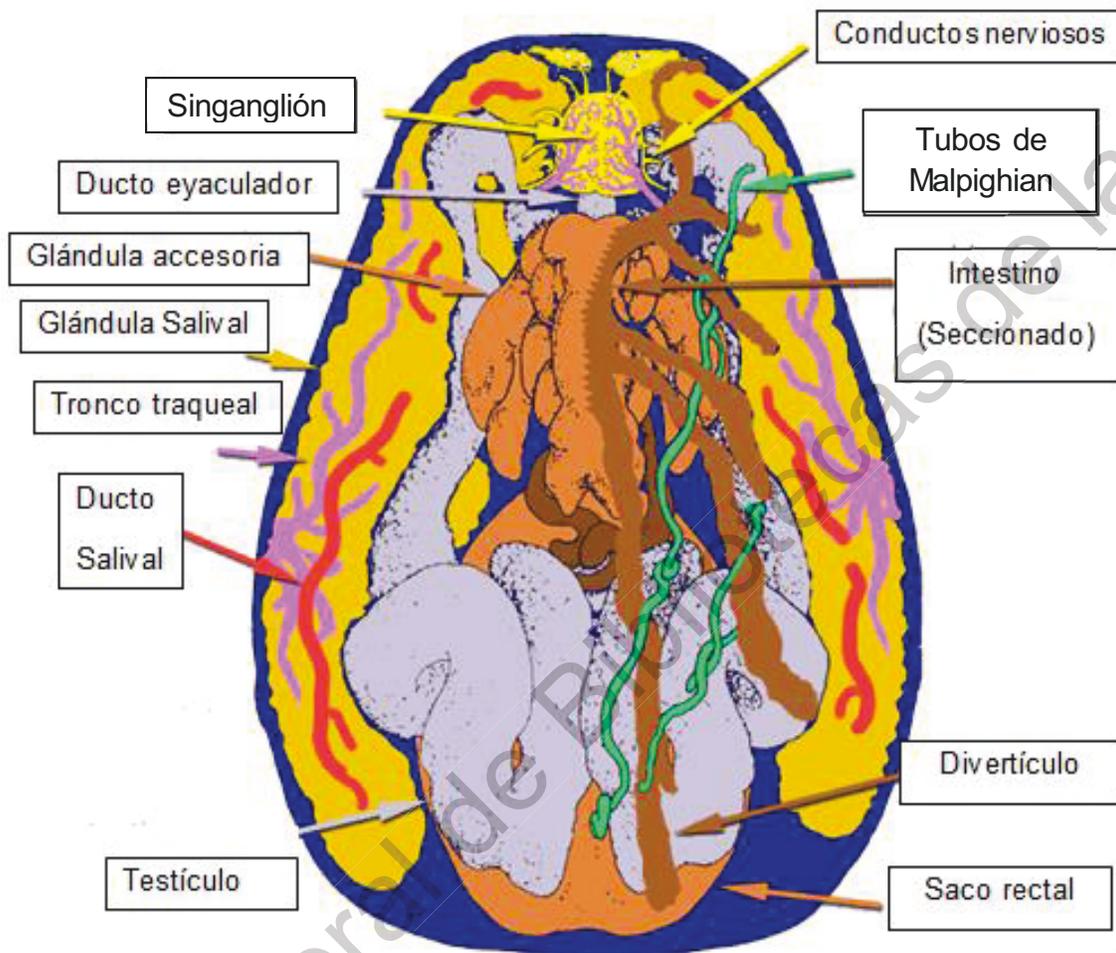


Figura 1. Anatomía externa de las garrapatas duras (Ixodidae)

(Modificado de Mathison and Pritt, 2014).

Internamente, los órganos de la garrapata se encuentran bañados en un fluido que circula libremente llamado hemolinfa, los principales órganos y más prominentes son: el tracto digestivo, comprendido por la faringe, esófago, intestino y saco rectal, glándula salival, órganos reproductivos, singanglión (sistema nervioso central fusionado), túbulos de Mapighian y tráquea. La hemolinfa, además, contiene hemocitos (ancestro de leucocito mamífero) y numerosas proteínas en solución, estos le sirven para la distribución de nutrientes y la remoción de desperdicios, además, cumplen un papel importante en la inmunidad de la garrapata (Sojka *et al.*, 2013; Sonenshine and Michael, 2014) (Figura 2).



**Figura 2. Posicionamiento relativo de los órganos internos de una garrapata adulta macho, de la familia Ixodidae (adaptado de Sonenshine and Michael, 2014).**

## 2.2. *Rhipicephalus* spp.

El género *Rhipicephalus* pertenece a la Ixodidae las cuales se caracterizan por la presencia de un escudo, pequeño cubriendo parcialmente el dorso en la hembra, mientras que en el macho cubren todo el dorso, el capítulo se encuentra en la parte anterior en todos los estadios evolutivos. El escudo en las hembras después de la repleción de sangre se muestra como una pequeña placa. Las garrapatas son

parásitos obligados que requieren para completar su desarrollo de un huésped, los cambios de un estadio a otro requieren de una o más mudas, estos cambios no están restringidos a una estacionalidad, hay una adaptación a la temperatura y humedad que influyen en la duración de cada una de las etapas (Quiroz, 1990).

### 2.2.1. Taxonomía

<b>Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género <i>Rhipicephalus</i>.</b>	
Filo:	Arthropoda
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Superorden:	Parasitiformes
Orden:	Ixodida
Familia:	Ixodidae
Género:	<i>Rhipicephalus</i>
Especies:	<i>Rhipicephalus annulatus</i> <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> <i>Rhipicephalus aquatilis</i> <i>Rhipicephalus armatus</i> <i>Rhipicephalus arnoldi</i> <i>Rhipicephalus aurantiacus</i> <i>Rhipicephalus bequaerti</i> <i>Rhipicephalus bergeoni</i> <i>Rhipicephalus boueti</i> <i>Rhipicephalus bursa</i> <i>Rhipicephalus camicasi</i> <i>Rhipicephalus capensis</i> <i>Rhipicephalus carnivoralis</i> <i>Rhipicephalus cliffordi</i> <i>Rhipicephalus complanatus</i> <i>Rhipicephalus compositus</i> <i>Rhipicephalus cuspidatus</i>

*Rhipicephalus decoloratus*  
*Rhipicephalus deltoideus*  
*Rhipicephalus distinctus*  
*Rhipicephalus duttoni*  
*Rhipicephalus dux*  
*Rhipicephalus evertsi*  
*Rhipicephalus exophthalmos*  
*Rhipicephalus follis*  
*Rhipicephalus fulvus*  
*Rhipicephalus geigy*  
*Rhipicephalus gertrudae*  
*Rhipicephalus glabroscutatum*  
*Rhipicephalus guilhoni*  
*Rhipicephalus haemaphysaloides*  
*Rhipicephalus humeralis*  
*Rhipicephalus hurti*  
*Rhipicephalus interventus*  
*Rhipicephalus jeanneli*  
*Rhipicephalus kochi*  
*Rhipicephalus kohlsi*  
*Rhipicephalus leporis*  
*Rhipicephalus longiceps*  
*Rhipicephalus longicoxatus*  
*Rhipicephalus longus*  
*Rhipicephalus lounsburyi*  
*Rhipicephalus lunulatus*  
*Rhipicephalus maculatus*  
*Rhipicephalus masseyi*  
*Rhipicephalus microplus*  
*Rhipicephalus moucheti*  
*Rhipicephalus muehlensi*

*Rhipicephalus muhsamae*  
*Rhipicephalus neumanni*  
*Rhipicephalus nitens*  
*Rhipicephalus oculatus*  
*Rhipicephalus oreotragi*  
*Rhipicephalus pilans*  
*Rhipicephalus planus*  
*Rhipicephalus praetextatus*  
*Rhipicephalus pravus*  
*Rhipicephalus pseudolongus*  
*Rhipicephalus pulchellus*  
*Rhipicephalus pumilio*  
*Rhipicephalus punctatus*  
*Rhipicephalus pusillus*  
*Rhipicephalus ramachandrai*  
*Rhipicephalus rossicus*  
*Rhipicephalus sanguineus*  
*Rhipicephalus scalpturatus*  
*Rhipicephalus schulzei*  
*Rhipicephalus sculptus*  
*Rhipicephalus senegalensis*  
*Rhipicephalus serranoi*  
*Rhipicephalus simpsoni*  
*Rhipicephalus simus*  
*Rhipicephalus sulcatus*  
*Rhipicephalus supertritus*  
*Rhipicephalus tetracornus*  
*Rhipicephalus theileri*  
*Rhipicephalus tricuspis*  
*Rhipicephalus turanicus*  
*Rhipicephalus warburtoni*

	<i>Rhipicephalus zambeziensis</i> <i>Rhipicephalus ziemanni</i> <i>Rhipicephalus zumpti</i>
--	---

(Guglielmone *et al.*, 2010)

### 2.2.2. Ciclo biológico

Las garrapatas tienen cuatro estadios evolutivos en su ciclo de vida, huevo, larva hexápoda, ninfa octápoda y adulto. La transformación entre los estadios requiere de mudas. Los cambios no están restringidos necesariamente a una estación del año, hay adaptación de las diferentes especies a la temperatura y humedad, habilidad para llegar al huésped que influyen en la duración de cada una de las etapas. El número de generaciones puede variar de tres a cuatro en las especies de un huésped y hasta una generación cada dos o tres años en especies de tres huéspedes (Quiroz, 1990; Sonenshine and Michael, 2014).

Las garrapatas del género *Rhipicephalus* de las especies *microplus* y *annulatus* pueden llegar a poner de 4000 a 4500 huevos, cubiertos por una sustancia gelatinosa y pegajosa que los mantiene unidos en forma de racimos y los protege de la deshidratación. El periodo de ovoposición dura de 4 a 70 días, la incubación se determina en gran medida por la temperatura y esta va de 14 a 202 días. Al nacer las larvas, generalmente permanecen cerca del lugar donde eclosionan para madurar y endurecer su cutícula, este proceso dura aproximadamente quince días, posteriormente, suben al pasto o vegetación de poca altura en espera de un huésped susceptible, las larvas son estimuladas por el olor a bióxido de carbono, vibraciones, corrientes de aire, luz intermitente, calor y humedad. Las larvas pueden sobrevivir por más de 246 días en ayuno. Las larvas se alimentan, permanecen en el huésped y después de un breve tiempo de letargo mudan ninfas, este proceso lleva de 5 a 16 días, El comportamiento de las ninfas es similar al de las larvas pero con un tiempo de vida más prolongado, después mudan a adultos, este proceso de alimentación y muda dura de 5 a 18 días. Los adultos, una vez que mudaron, dejan el lugar donde habían picado y se cambian a

uno nuevo, la cópula se lleva a cabo sobre el huésped, después de la cual hay una repleción alimenticia muy activa por parte de la hembra y que se debe a una sustancia liberada por el macho denominada factor de repleción, este proceso completo se lleva de 4 a 14 días, las hembras repletas se dejan caer del huésped y tienen un proceso de preoviposición que puede durar de dos a sesenta y seis días. Por otro lado los machos permanecen sobre el huésped más tiempo copulando con múltiples hembras (Bowman, 2011; Quiroz, 1990; Sonenshine and Michael, 2014; Weiss and Kaufman, 2001, 2004; Weiss *et al.*, 2002) (Figura3).

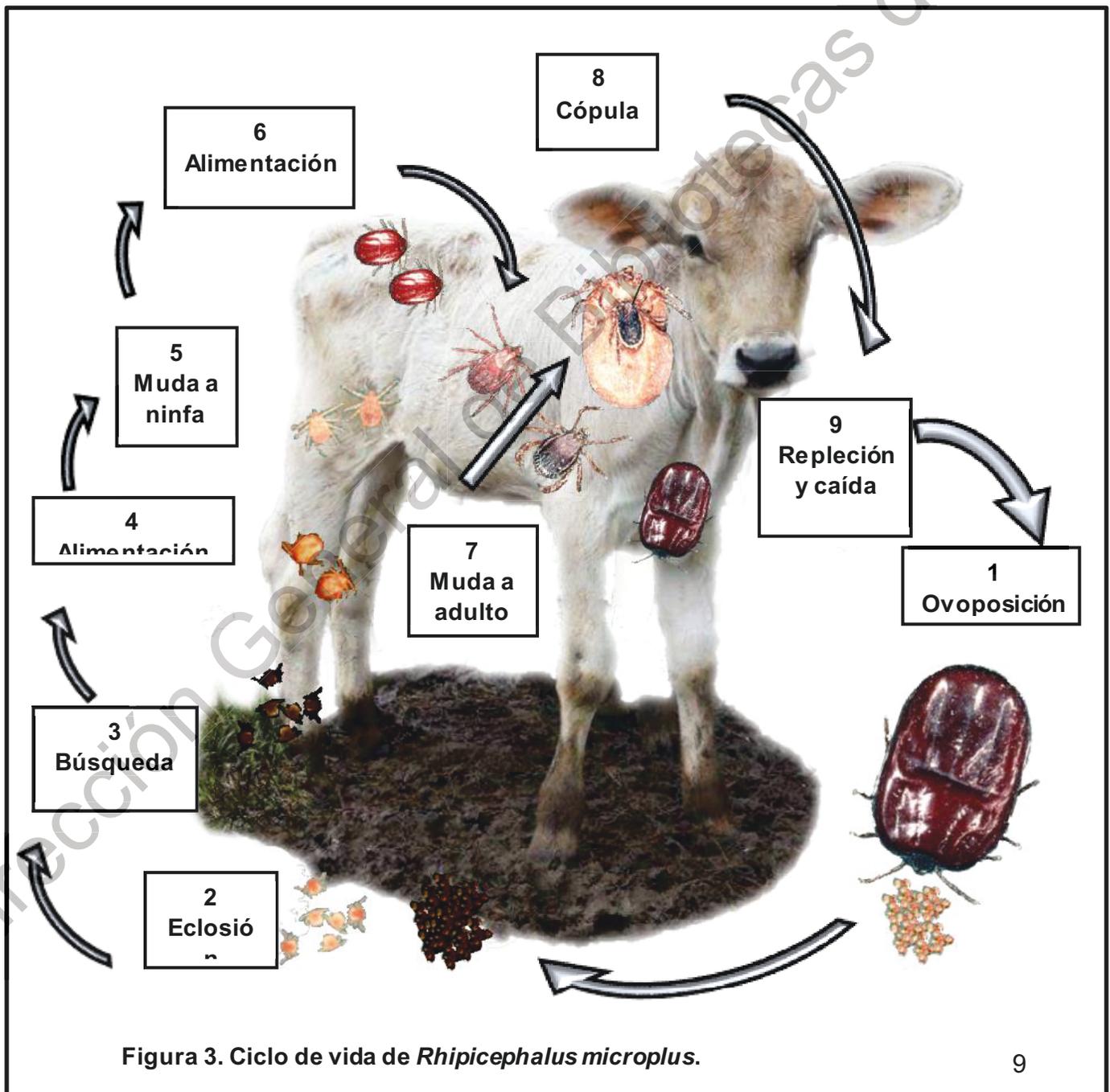


Figura 3. Ciclo de vida de *Rhipicephalus microplus*.

### 2.2.3. Importancia

La industria de la ganadería bovina es una de las más importantes y más productivas actividades agroindustriales en el mundo (Robinson *et al.*, 2014). México a nivel mundial se encuentra en la posición número ocho por el número de cabezas que se encuentran en su inventario, para el 2015, este inventario se estimó en aproximadamente 33.5 millones de animales, 2.5 millones destinados a la producción lechera y 31 millones con un fin zootécnico enfocado en la producción de carne (Siap-SAGARPA, 2016), además, México exporta anualmente a Estados Unidos alrededor de un millón de cabezas de ganado (Pérez de León *et al.*, 2013). Sin embargo, esta actividad se ve afectada por las garrapatas y las enfermedades que transmiten (Almazan *et al.*, 2018).

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos que afectan al humano, animales domésticos y silvestres, los puede afectar directamente a través de sus mordidas y del consumo de la sangre que de ellos obtiene, además, puede afectarlos indirectamente por la transmisión de diversos patógenos, los cuales incluye protozoarios, bacterias y virus (Peel *et al.*, 2011). *Rhipicephalus microplus* es considerada el ectoparásito económicamente más importante de la ganadería tropical y subtropical en el mundo, esta garrapata está distribuida en más de la mitad del territorio nacional (Siap-SAGARPA, 2016). Si bien es difícil calcular las pérdidas causadas por las garrapatas, se han hecho algunas estimaciones, en Brasil, el país con el mayor inventario de cabezas de ganado bovino, se ha estimado pérdidas anuales debido a *R. microplus* por cerca de 3.2 mil millones de dólares (Grisi *et al.*, 2014). Recientemente, en México, Rodríguez-Vivas y su grupo de trabajo realizaron una estimación de pérdidas anuales en la producción bovina asociadas al parasitismo de *R. microplus* sin considerar las enfermedades de las que es vector, el resultado fue de más de 573 millones de dólares (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2016). Sumado a esto, *R. microplus* impide la implementación de programas de mejoramiento genético. Pues es vector de los agentes infecciosos causantes de babesiosis y anaplasmosis bovina (Aubry and Geale, 2011; Pérez de León *et al.*,

2014b). Estas enfermedades resultan en una alta morbilidad y mortalidad donde esta garrapata es endémica (Mosqueda *et al.*, 2012; Rodríguez *et al.*, 2009).

Otra especie de garrapata de importancia económica en México es *R. annulatus*, si bien no está tan diseminada como *R. microplus*, es también un vector biológico de *Anaplasma* y *Babesia* ((Pérez de León *et al.*, 2014a; Samish *et al.*, 1993).

#### 2.2.3.1. Distribución

Dentro del género *Rhipicephalus* que afectan al ganado en México existen dos especies de importancia, *R. microplus* y *R. annulatus*, su distribución varía según las condiciones ambientales, *R. microplus* se encuentra a través del país con excepción de las altas mesetas del centro y norte del territorio (Estrada-Peña *et al.*, 2006a).

Poblaciones resistentes a acaricidas se encuentran diseminadas, incluso pueden encontrarse poblaciones que son resistentes a más de un grupo de acaricidas, esto dificulta su control (Miller *et al.*, 2013; Rosario-Cruz *et al.*, 2009), al mismo tiempo, esto ocasiona infestaciones a otras especies además del ganado (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2016). Se ha encontrado parasitismo de esta especie en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Carreón *et al.*, 2012) y en venado rojo (*Cervus elaphus*) (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2013) en regiones donde estas especies cohabitan con el ganado, esta situación propicia el mantenimiento de *R. microplus* en el ambiente, a pesar del tratamiento químico efectuado en el ganado. Bajo ciertas condiciones el tratamiento se realiza en fauna silvestre, especialmente en regiones cercanas a la frontera con Estados Unidos donde está vigente un programa de erradicación que evita el establecimiento de la garrapata en su territorio. (Pound *et al.*, 2010)

Al comienzo de la ahora inexistente campaña nacional para la erradicación contra *Boophilus* en México, *R. microplus* se encontraba en todos los estados de la república con excepción de la Ciudad de México y Tlaxcala (Woodham *et al.*, 1983). Actualmente 47.8% del país, el cual corresponde a estados del norte como Baja

California, Sonora y algunos otros estados del centro del país están libres (Siap-SAGARPA, 2016). Los estados que forman el borde del Golfo de México: Tamaulipas, Veracruz y Tabasco tienen 90% o más de la población del ganado bovino infestado con *R. microplus*. (Alonso-Díaz *et al.*, 2013; Martínez-Ibáñez *et al.*, 2006)

Posterior al inicio, en 1907, de un programa de erradicación intenso en Estados Unidos, el país fue declarado libre de *R. microplus* y *R. annulatus* en 1943, con la excepción de la zona de cuarentena permanente en el sur de Texas y el borde con México a todo lo largo del Río Grande, esta región se mantiene en vigilancia como zona buffer de incursiones de la garrapata (George, 1989). Algunos brotes de esta garrapata pueden suceder en esta zona de cuarentena permanente, estas suelen estar causadas por *R. annulatus*, pues ha sido identificada en algunos estados, ya que, esta garrapata tiene preferencia por lugares con temperaturas altas y con poca precipitación pluvial (Estrada-Peña *et al.*, 2006b), por lo tanto, tiene facilidad por establecerse en esta región delimitada en el norte del país, en los estados de Tamaulipas y Coahuila. Almazán y sus colaboradores (2018) mencionan que han encontrado, junto con personal encargado de la campaña por el control de la garrapata, *R. annulatus* en granjas de los municipios de Miguel Alemán, Mier y Guerrero. Posiblemente se han encontrado especímenes de esta especie en otros estados del país, pero no se han establecido geográficamente por las condiciones ambientales. Además, las hembras repletas de las especies *R. microplus* y *R. annulatus* son muy parecidas, dando cabida a la posibilidad del error en la identificación, esto puede afectar la delimitación real de la distribución de ambas especies (Almazan *et al.*, 2018) (Figura 5).

### 2.2.3.2. Enfermedades transmitidas

#### 2.2.2.2.1. Anaplasmosis

La anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa no contagiosa, transmitida principalmente por garrapatas del género *Rhipicephalus* spp. En ausencia de garrapatas la transmisión puede suceder por insectos que a través de

su mordida pueden transmitir al agente causal (Rodríguez *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2009; Scoles *et al.*, 2005). El agente etiológico pertenece al género *Anaplasma*, fue descrita por primera vez en 1910 por Sir Arnold Theiler en eritrocitos de ganado bovino de Sudáfrica y los describió como “puntos marginales”, esta enfermedad es endémica en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. *Anaplasma marginale*, es una bacteria Gram-negativa que infecta eritrocitos maduros del ganado bovino y otros ungulados (Aubry and Geale, 2011; Kocan *et al.*, 2010). Cuando el ganado es joven, adquieren la infección, los becerros fungen normalmente como refractarios del agente, el síndrome clínico afecta principalmente a animales mayores de un año (Kreier and Ristic, 1963). Dicho síndrome incluye postración, ictericia, aborto en el último trimestre de gestación, pérdida severa de peso, y muerte si no es aplicado a tiempo el tratamiento adecuado de antibioterapia y paliativo (Aubry and Geale, 2011). Como la enfermedad carece de signos patognomónicos, es necesario realizar un diagnóstico de laboratorio por la identificación directa del patógeno (OIE, 2016). La identificación directa se puede realizar por microscopía realizando un frotis sanguíneo y tiéndolo con Giemsa o algún otro método de hemotinción (Horobin and Walter, 1987), sin embargo, la tinción con Giemsa es el método preferido (Johntson *et al.*, 1980). Existen algunos otros métodos moleculares para la detección del patógeno, pero, estos son usualmente aplicados para propósitos experimentales (Chaisi *et al.*, 2017; Torioni de Echaide *et al.*, 2001).

En el bovino el principal sitio de infección son los eritrocitos, sin embargo, Munderloh y colaboradores (2004) han reportado a *Anaplasma* infectando las células del endotelio, pero esto aún debe revisarse. Dentro de los eritrocitos del bovino, unidos a la membrana encontramos los cuerpos de inclusión que va a contener de 4 a 8 rickettsias, puede llegar a infectar al 70% o más de los eritrocitos en la fase aguda de la infección. La incubación puede ir de 7 a 60 días, pero de manera general es alrededor de 28 días. Después de que la infección es detectada la infección de células rojas sigue incrementándose, los eritrocitos son fagocitados por las células retículo endoteliales del bovino, resultando en la presentación de los signos clínicos (Kocan *et al.*, 2010). El desarrollo del ciclo de *A. marginale* en las

garrapatas es complejo y coordinado con el ciclo de alimentación de las garrapatas, Cuando los eritrocitos infectados son ingeridos por las garrapatas las rickettsias infectan las células del intestino. Después de desarrollarse en las células del intestino, *Anaplasma* infecta otros tejidos de la garrapata, incluyendo las glándulas salivales, sitio desde el cual *A. marginale* es transmitido al bovino por medio de la alimentación (Ge *et al.*, 1996). En cada sitio de infección en la garrapata, *A. marginale* desarrolla dentro y unido a la membrana vacuolas o colonias. La primera forma de las *Anaplasma* vista dentro de las vacuolas tiene una apariencia reticulada (vegetativa) y están en constante división por medio de fisión binaria, esto da lugar a una gran colonia con cientos de microorganismos. Después las formas reticuladas cambian a formas densas, esta forma es la infectiva y puede sobrevivir fuera de las células del huésped por un periodo de tiempo limitado (Kocan *et al.*, 2010)

La anaplasmosis es la principal causa de pérdidas económicas en el ganado bovino localizado en las regiones tropicales y subtropicales de México (Quiroz-Castañeda *et al.*, 2005). En estimaciones de costo anual, se ha indicado a la anaplasmosis como el causante de más del 25% del total de las pérdidas en programas de mejoramiento genético en el ganado de carne (Rodríguez *et al.*, 2009). Las pérdidas en sementales importados pueden alcanzar un 20% cuando el ganado es adquirido de zonas libres de anaplasmosis (Rodríguez *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2009). Es difícil calcular la pérdida económica, hay muchos factores a considerar los cuales incluyen el peso, producción láctea, abortos y mortalidad (Almazan *et al.*, 2018).

En el caso de que la enfermedad clínica sea detectada a tiempo, la anaplasmosis puede ser tratada específicamente con tetraciclinas (oxitetraciclina) y con dipropionato de imidocarb. La oxitetraciclina se da a una dosis de 22mg/kg diariamente por al menos 5 días, o el dipropionato de imidocarb a 5mg/kg dos veces, con 7 días de diferencia, se ha reportado el control de la enfermedad, pero no la eliminación completa de *A. marginale*, este es llevado por el animal de manera asintomática (Coetzee *et al.*, 2006). La inhabilidad para la eliminación total del patógeno con los tratamientos disponibles actualmente y la gran diversidad y

variabilidad de cepas hace difícil la eliminación de la enfermedad (Battilani *et al.*, 2017). El éxito de la vacunación como método profiláctico es limitado debido a la variación antigénica y a la gran diversidad genética, esto envuelve mecanismos de generación de nuevas variantes de proteínas de su membrana externa resultando en la persistencia del patógeno en el animal, por tanto, promueve la transmisión a otros miembros del hato (Almazan *et al.*, 2018).

#### 2.2.2.2. Babesiosis

La babesiosis bovina, conocida también como piroplasmosis, es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas y es causada por protozoarios del género *Babesia* (Macmillan *et al.*, 2008), este parásito intraeritrocítico causa fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria ocasionalmente, y signos nerviosos. Los animales infectados pueden tener presentaciones que van desde la subclínica a la hiperaguda (Mahoney *et al.*, 1979). Los signos varían de acuerdo a la patogenicidad y virulencia de la especie y la cepa que se trate. La susceptibilidad del huésped es también afectada por varios factores como la edad, la raza y el estatus inmunológico. Los animales muestran manifestaciones clínicas como fiebre de 41° a 42°C, hemoglobinuria, ictericia, atonía ruminal, deshidratación, temblor muscular, debilidad, postración y muerte de 8 a 14 días después de la infestación con garrapatas infectadas. Signos nerviosos como ataxia, incoordinación, y coma son evidentes en animales infectados con *B. bovis*. Pocas horas antes de la muerte, la temperatura desciende a niveles subnormales. La recuperación de los animales enfermos es seguida por una aparente eliminación del parásito en la sangre, con una infección subclínica que podría durar algunos años (Bock *et al.*, 2004).

La babesiosis bovina tiene una distribución mundial, es común en regiones donde el clima es tropical y subtropical. En México, está asociado con la presencia del vector, la garrapata del ganado, *R. microplus* y *R. annulatus* (Callow, 1979). Otras vías de transmisión son por la inoculación de sangre de un animal infectado a uno sano, o por fomites (material quirúrgico o agujas hipodérmicas) (Callow, 1979).

Cuando una garrapata ingresa los esporozoitos al hospedero mamífero, cada esporozoito invade una célula roja y desarrolla como primera fase, un trofozoito intracelular con forma de anillo (Melhorn and Schein, 1984). Este trofozoito se divide por fisión binaria dando lugar a dos merozoitos, cada merozoito abandona al eritrocito e inmediatamente invade otro, continuando así el ciclo hasta que el huésped muere o la infestación es eliminada. La destrucción de las células rojas produce anemia y hemoglobinuria. La garrapata adquiere la infección cuando esta se alimenta de un animal infectado (Callow, 1979). Entre 16 y 24 horas después de dejarse caer del huésped, la transmisión transovárica tiene lugar en la garrapata y su progenie es infectada por el parásito (Riek, 1964). Una vez que las larvas emergen infestan a un nuevo huésped y comienzan a alimentarse, comienzan múltiples ciclos de reproducción por parte de las babesias en distintos tejidos de la garrapata, incluyendo las glándulas salivales donde forman los esporoblastos que contienen en su interior miles de esporozoitos infectivos (Friedhoff and Buscher, 1976) (Figura 4.)

La enfermedad se encuentra en regiones tropicales y subtropicales donde el vector está presente. Para que ocurran brotes de babesiosis son requeridas dos situaciones: 1.- La exposición de una gran cantidad de animales susceptibles, esto sucede cuando se introducen animales de una zona libre de garrapatas a una zona endémica o por la introducción de garrapatas provenientes de una zona endémica a una zona libre por medio de ganado infestado. 2.- Por inestabilidad enzoótica, esto sucede cuando los becerros no son infectados por la *Babesia*, incluso si estos son expuestos a garrapatas, por tanto, la inmunidad contra la babesiosis no se desarrolla (Mahoney and Ross, 1972).

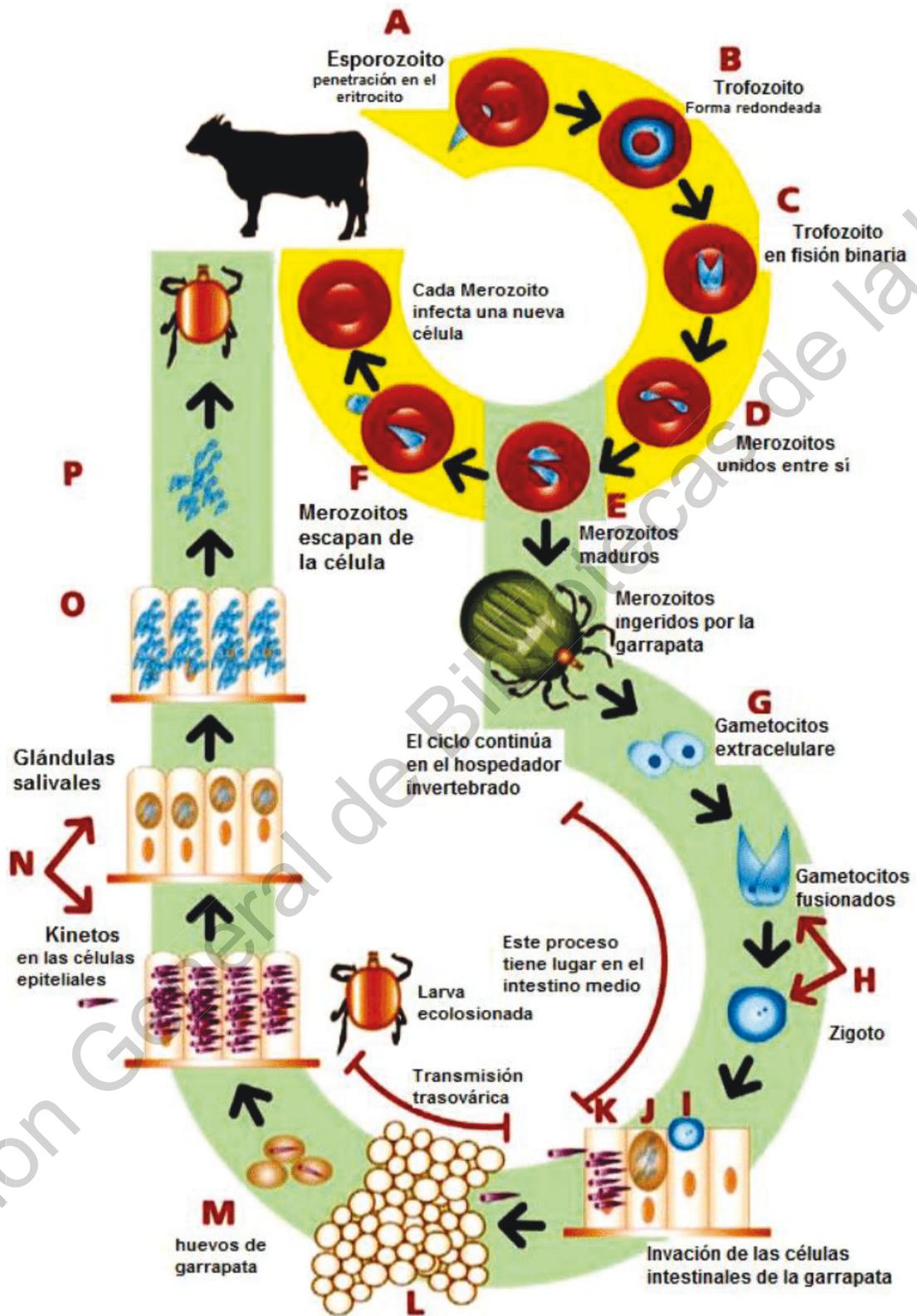


Figura 4. Ciclo de vida de *Babesia bigemina*. (Modificado de Mosqueda et al., 2012.)

Las áreas de estabilidad enzoótica son aquellas en las que la población de garrapatas puede variar durante el año, pero la cantidad de garrapatas infectadas con *Babesia* son suficientes para garantizar que los becerros estarán expuestos a la infección por el protozoo antes de los nueve meses de edad, por tanto, los anticuerpos ingeridos provenientes del calostro y la resistencia por edad los protegerán de la enfermedad clínica, desarrollando inmunidad en presencia del patógeno. No es necesaria una gran cantidad de garrapatas infectadas para mantener la estabilidad enzoótica, incluso en condiciones de campo un bajo porcentaje de garrapatas transmiten la babesiosis (Almazan *et al.*, 2018). Las áreas en las cuales no existe estabilidad enzoótica son lugares donde las poblaciones de garrapatas se reducen considerablemente de una temporada a otra, propiciando que algunos animales no se expongan a la infección por *Babesia* hasta después de 9 meses de edad, etapa en la que son muy susceptibles a la enfermedad, y a veces después de que pasan los dos años de edad, generando una muy agresiva reacción que termina con la muerte del huésped. La severidad de la reacción está directamente relacionada con la proporción de animales susceptibles (Mahoney and Ross, 1972).

El diagnóstico se basa en signos clínicos, historia clínica y presencia del vector. Sin embargo, pruebas del laboratorio deben confirmar la presencia del parásito (Kuttler *et al.*, 1988; Mosqueda *et al.*, 2012). La observación de frotis sanguíneo teñido con Giemsa en microscopio es el procedimiento más útil. Frotis de la garrapata utilizando hemolinfa, o improntas de órganos del huésped como cerebro o riñón son útiles para la observación de *B. bovis*. Pruebas serológicas son utilizadas en estudios de investigación y epidemiológicos. Los más comunes son Fijación del complemento, Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA (Mosqueda *et al.*, 2012). Otras técnicas consisten en la detección de material genético por medio de una PCR.

Para el tratamiento se han utilizado una gran cantidad de compuestos, algunos de ellos son muy efectivos y solo requieren de una aplicación para la eliminación del parásito. Algunos de los compuestos son derivados de las quinolonas, estos

pueden ser muy efectivos, sin embargo, su uso es limitado debido a su toxicidad. Actualmente, los derivados de la diamidina son los tratamientos más efectivos y utilizados contra la babesiosis (Bock *et al.*, 2003).

Para tener un control del problema, deben tomarse acciones directas en contra del vector, contra el parásito intraeritrocítico y tener un manejo específico del ganado:

- A. El control del vector consiste en la interrupción del ciclo de transmisión mediante el tratamiento del ganado en contra de la garrapata. Esto es utilizado regularmente como un manejo en los programas integrales de control del vector.
- B. Control en la movilización de ganado, para prevenir la introducción de animales infectados en regiones libres de *Babesia*.
- C. Quimioprofilaxis, puede ser útil, pero es cara e impráctica para ser usada como única o definitiva estrategia de control.
- D. Uso de animales resistentes, el uso de ganado cebú (*Bos indicus*) pues se conoce que tiene mayor resistencia a las infestaciones de garrapatas que el ganado europeo. También, este ha sido utilizado en algunos países para mantener la estabilidad enzoótica, la baja productividad de las razas cebú hacen esta práctica poco popular entre los productores.
- E. Inmunización del ganado, se ha utilizado ampliamente, con el objetivo de conferir inmunidad para controlar la enfermedad; sin embargo, no es recomendada por el riesgo de la transmisión con otros agentes infecciosos. En Australia y algunos otros países, se utilizan organismos atenuados a través de pases en becerros esplenectomizados (Bock *et al.*, 2003). Esta práctica está limitada debido al mantenimiento de la cadena fría y al riesgo de la transmisión de patógenos por medio de la sangre (Florin-Christensen *et al.*, 2014). A pesar de que la vacunación con organismos vivos atenuados confieren una inmunidad efectiva, esta se realiza con eritrocitos infectados lo

que siempre conlleva un riesgo de contaminación con otros microorganismos, esto lo hace impráctica y poco segura. Las vacunas recombinantes contra la babesiosis bovina no se han desarrollado aún, en parte debido a la limitada investigación en antígenos vacunales candidatos presentes durante el proceso de invasión a las células rojas y a la invasión a tejidos de la garrapata y en parte también, debido a los altos costos de las pruebas de vacunación. La secuenciación y registro del genoma de *Babesia* permite el desarrollo de estrategias para identificar candidatos vacunales ideales (Brayton *et al.*, 2007)

#### 2.2.3.3. Resistencia a ixodicidas

El tratamiento contra las garrapatas se basa principalmente en moléculas sintéticas conocidas como acaricidas, eliminan las fases parasíticas que infestan al ganado (Graf *et al.*, 2004). Los métodos de tratamiento incluyen baños de inmersión, aspersión, Pour-on y parenterales (Guerrero *et al.*, 2014). Sin embargo, el proceso de toma de decisión que lleva al uso del acaricida puede variar significativamente, siendo más reactivo las fuertes infestaciones del ganado, aunque las garrapatas generalmente no son identificadas y su susceptibilidad al tratamiento es desconocida (Jasiorowski, 1990). Entender la susceptibilidad y resistencia a los acaricidas es fundamental para el éxito de programas para el manejo de garrapatas en áreas amplias (Pérez de León *et al.*, 2014a). En México es común la infestación con garrapatas de las especies *R. microplus* y *A. mixtum* en el ganado de las unidades de producción bovina a lo largo de la costa del golfo de México (Almazán *et al.*, 2016; Alonso-Díaz *et al.*, 2013), El uso de tratamientos químicos es usualmente dirigido hacia *R. microplus* (Alonso-Díaz *et al.*, 2013).

Existen distintas clases de acaricidas comerciales disponibles, arsénicos, organoclorados, organofosforados, piretroides, amitraz, lactonas macrocíclicas, reguladores del crecimiento de insectos (IGRs), y fenilpirazolonas (fipronil) (Aguilar and Rodríguez-Vivas, 2003; Black *et al.*, 1994; FAO, 1987). Para evitar el uso inapropiado de estos productos, fue publicada una norma oficial por las autoridades del gobierno mexicano la NOM-019-ZOO-1994. Esta establece estrategias y el

tratamiento sistemático basado en el conocimiento de la dinámica de población de las garrapatas, identificando según la especie, la temporada de mayor y menor abundancia, conduciendo también, a programas donde se mantenga suficiente cantidad de garrapatas para que se garantice la estabilidad enzoótica de las enfermedades que transmiten estos vectores (Solorio and Rodríguez-Vivas, 1997). Por tanto, el ganado puede estar infestado con un número reducido de garrapatas que mantengan memoria inmunológica, de otro modo resultaría en brotes de enfermedades transmitidas por garrapatas con una significativa mortalidad y pérdida económica para el productor (Black *et al.*, 1994; Mosqueda *et al.*, 2012).

El uso exclusivo de químicos para el manejo de las poblaciones de garrapatas ha puesto muchísima presión en la selección de garrapatas resistentes, esto tiene una base genética y por lo tanto es transmitida a las siguientes generaciones (Stone, 1972). La resistencia múltiple a los acaricidas representa un problema serio en todo el mundo (Klafke *et al.*, 2017), especialmente en áreas tropicales donde la producción de ganado es una de las principales actividades agroindustriales. En México, los estudios de la resistencia en garrapatas comenzaron en la década de los noventa, cuando poblaciones de *R. microplus* comenzaron a resistir el uso de piretroides (Fragoso *et al.*, 1995), organofosforados y organoclorados (Santamaría *et al.*, 1999). Por esta problemática, amidinas como el amitraz fueron promocionados para el control de la garrapata, por lo que muy pronto se detectó desarrollo de resistencia al amitraz en el sur de Tabasco (Soberanes *et al.*, 2002). En Tabasco *R. microplus* también resultó ser resistente a piretroides y organofosforados.

Las lactonas macrocíclicas comenzaron a utilizarse en forma parenteral y como Pour-on para el tratamiento de nematodos gastroentéricos y para el control de garrapatas en México (Aguilar and Rodríguez-Vivas, 2003; Solorio and Rodríguez-Vivas, 1997). Pero, después de 10 años de intenso uso se detectó resistencia a ivermectina en el sur del estado de Yucatán (Perez-Cogollo *et al.*, 2010). La resistencia de *R. microplus* a la ivermectina parece estar ligada al uso de esta para el tratamiento de parásitos gastrointestinales en ganado (Alegría-López

*et al.*, 2015). El número de poblaciones de garrapatas con múltiple resistencia a los acaricidas continúa incrementando en México, en algunas regiones es común encontrar poblaciones con resistencia a piretroides, organofosforados y amitraz, con resistencia del 19 al 95% en el sur del país (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2005). En Tamaulipas, se encontró una cepa de *R. microplus* resistente a permetrina, coumafóenzoóticas, amitraz y fipronil. Este fue el primer reporte de resistencia de *R. microplus* al fipronil (Miller *et al.*, 2013).

La investigación de la resistencia de los acaricidas en México está enfocada a *R. microplus* a pesar de la co infección del ganado con *A. mixtum* en las regiones importantes de producción pecuaria. Solo existe un trabajo formal acerca de la resistencia a acaricidas de esta garrapata, realizado en Veracruz donde se encontraron una gran cantidad de poblaciones resistentes a organofosforados y amitraz (Alonso-Díaz *et al.*, 2013).

### **2.3. *Amblyomma* spp.**

#### 2.3.1. Generalidades

El género *Amblyomma* incluye varias especies que se han adaptado muy bien al continente americano (Almazán *et al.*, 2016). Este género está comprendido por 130 especies, de las cuales el 50% se encuentran en el Neotrópico (Guglielmone and Nava, 2006). Las garrapatas de este género son de gran importancia económica, capaces de producir daños físicos a los animales como debilidad, fiebre y mortalidad (Almazán *et al.*, 2016; Soulsby, 1992).

De este género, *A. cajennense* ha sido declarada la especie más importante debido al impacto económico que ocasiona en la industria ganadera, así como en salud animal y humana (Alonso-Díaz *et al.*, 2013). Esta garrapata se encuentra distribuida ampliamente en América, desde el sureste de Estados Unidos (Texas) y extendiéndose hasta Sudamérica (Cooley and Kohls, 1944; Guglielmone *et al.*, 2006; Guglielmone and Nava, 2006) *A. cajennense* causa pérdidas económicas debido que tiene una baja especificidad de huésped, a la gran cantidad de sangre que ingiere de estos y a la transmisión de enfermedades infecciosas a los animales

domésticos y silvestres, incluyendo al humano (Angerami *et al.*, 2012; de Lemos *et al.*, 1997; Lopes *et al.*, 1998) En algunas regiones es la principal garrapata que parasita humanos (Labruna *et al.*, 2001) y el principal vector de *Rickettsia rickettsi*, el agente de la fiebre manchada en humanos (de Lemos *et al.*, 1997) y del virus de la encefalitis equina venezolana (Linthicum *et al.*, 1991).

En México el género *Amblyomma* es el segundo en importancia en bovinos en el trópico (Almazán *et al.*, 2016), con un total de 8 especies reportadas (Martínez-Ibáñez *et al.*, 2006; Woodham *et al.*, 1983). De todas, *A. cajennense* fue la de mayor importancia seguida de *A. imitator* y *A. maculatum*. El Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (Senasica, SAGARPA) menciona que *A. cajennense* se localiza en los estados que comprenden la franja del Golfo de México hasta la península de Yucatán, la región central del país y el Pacífico desde el estado de Nayarit hasta Chiapas (Senasica-SAGARPA, 2012). Beati *et al.*, (2013) concluyeron mediante estudios de ADN mitocondrial que existen 6 grupos de *A. cajennense Sensu Latu* filogenéticamente distintos, entre ellos *A. mixtum* y que *A. cajennense Sensu Stricto* es monofilogenético quedando delimitado a Rondonia en la Amazonia de Brasil y la Guyana Francesa. *Amblyomma mixtum* fue descrita por Koch en 1844 en garrapatas de México, el grupo de trabajo de Nava y colaboradores en el 2014 determinaron que *A. mixtum* es la especie de garrapata del género *Amblyomma* que se localiza parasitando comúnmente a los bovinos y equinos de las zonas tropicales de México y a las personas que realizan actividades ganaderas y que se ven expuestas con frecuencia a este parásito (Nava *et al.*, 2014).

*A. mixtum* puede alimentarse de diferentes especies de mamíferos y aves, sin embargo, en el noreste de México se ha observado que todos los estadios se alimentan del bovino (Almazán *et al.*, 2016), cohabitando con *R. microplus*, aumentando el parasitismo de *A. mixtum* en lugares donde se ha logrado el control o disminución de *R. microplus* (Alonso-Díaz *et al.*, 2013).

### 2.3.2. Taxonomía

<b>Cuadro 2. Clasificación taxonómica del género <i>Amblyomma</i>.</b>	
Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Superorden:	Parasitiformes
Orden:	Ixodida
Familia:	Ixodidae
Subfamilia:	Amblyomminae
Género:	<i>Amblyomma</i>
Especie:	<i>Amblyomma albolimbatum</i> <i>Amblyomma albopictum</i> <i>Amblyomma americanum</i> <i>Amblyomma antillarum</i> <i>Amblyomma arcanum</i> <i>Amblyomma argentinae</i> <i>Amblyomma astrion</i> <i>Amblyomma aureolatum</i> <i>Amblyomma auricularium</i> <i>Amblyomma australiense</i> <i>Amblyomma babirussae</i> <i>Amblyomma beaurepairei</i> <i>Amblyomma boeroi</i> <i>Amblyomma boulengeri</i> <i>Amblyomma brasiliense</i> <i>Amblyomma breviscutatum</i> <i>Amblyomma cajennense</i> S.L. <i>Amblyomma calabyi</i> <i>Amblyomma calcaratum</i> <i>Amblyomma chabaudi</i> <i>Amblyomma clypeolatum</i> <i>Amblyomma coelebs</i> <i>Amblyomma cohaerens</i> <i>Amblyomma compressum</i> <i>Amblyomma cordiferum</i> <i>Amblyomma crassipes</i> <i>Amblyomma crassum</i>

	<i>Amblyomma crenatum</i> <i>Amblyomma cruciferum</i> <i>Amblyomma darwini</i> <i>Amblyomma dissimile</i> <i>Amblyomma dubitatum</i> <i>Amblyomma eburneum</i> <i>Amblyomma echidnae</i> <i>Amblyomma elaphense</i> <i>Amblyomma exornatum</i> <i>Amblyomma extraoculatum</i> <i>Amblyomma falsomarmoreum</i> <i>Amblyomma fimbriatum</i> <i>Amblyomma flavomaculatum</i> <i>Amblyomma fulvum</i> <i>Amblyomma fuscolineatum</i> <i>Amblyomma fuscum</i> <i>Amblyomma geayi</i> <i>Amblyomma gemma</i> <i>Amblyomma geochelone</i> <i>Amblyomma geoemydae</i> <i>Amblyomma gervaisi</i> <i>Amblyomma glauerti</i> <i>Amblyomma goeldii</i> <i>Amblyomma hainanense</i> <i>Amblyomma hebraeum</i> <i>Amblyomma helvolum</i> <i>Amblyomma hirtum</i> <i>Amblyomma humerale</i> <i>Amblyomma imitator</i> <i>Amblyomma incisum</i> <i>Amblyomma inopinatum</i> <i>Amblyomma inornatum</i> <i>Amblyomma integrum</i> <i>Amblyomma javanense</i> <i>Amblyomma komodoense</i> <i>Amblyomma kraneveldi</i> <i>Amblyomma latepunctatum</i> <i>Amblyomma latum</i> <i>Amblyomma lepidum</i> <i>Amblyomma limbatum</i> <i>Amblyomma loculosum</i> <i>Amblyomma longirostre</i> <i>Amblyomma macfarlandi</i> <i>Amblyomma macropi</i> <i>Amblyomma maculatum</i> <i>Amblyomma marmoreum</i> <i>Amblyomma moreliae</i>
--	--

	<i>Amblyomma moyi</i> <i>Amblyomma multipunctum</i> <i>Amblyomma naponense</i> <i>Amblyomma neumanni</i> <i>Amblyomma nitidum</i> <i>Amblyomma nodosum</i> <i>Amblyomma nuttalli</i> <i>Amblyomma oblongoguttatum</i> <i>Amblyomma orlovi</i> <i>Amblyomma ovale</i> <i>Amblyomma pacae</i> <i>Amblyomma papuanum</i> <i>Amblyomma parkeri</i> <i>Amblyomma parvitarsum</i> <i>Amblyomma parvum</i> <i>Amblyomma pattoni</i> <i>Amblyomma paulopunctatum</i> <i>Amblyomma pecarium</i> <i>Amblyomma personatum</i> <i>Amblyomma pictum</i> <i>Amblyomma pilosum</i> <i>Amblyomma pomposum</i> <i>Amblyomma postoculatum</i> <i>Amblyomma pseudoconcolor</i> <i>Amblyomma pseudoparvum</i> <i>Amblyomma quadricavum</i> <i>Amblyomma rhinocerotis</i> <i>Amblyomma robinsoni</i> <i>Amblyomma romitii</i> <i>Amblyomma rotundatum</i> <i>Amblyomma sabanerae</i> <i>Amblyomma scalpturatum</i> <i>Amblyomma scutatum</i> <i>Amblyomma soembawense</i> <i>Amblyomma sparsum</i> <i>Amblyomma sphenodonti</i> <i>Amblyomma splendidum</i> <i>Amblyomma squamosum</i> <i>Amblyomma supinoi</i> <i>Amblyomma sylvaticum</i> <i>Amblyomma tapirellum</i> <i>Amblyomma testudinarium</i> <i>Amblyomma tholloni</i> <i>Amblyomma tigrinum</i> <i>Amblyomma torrei</i> <i>Amblyomma transversale</i> <i>Amblyomma triquttatum</i>
--	--

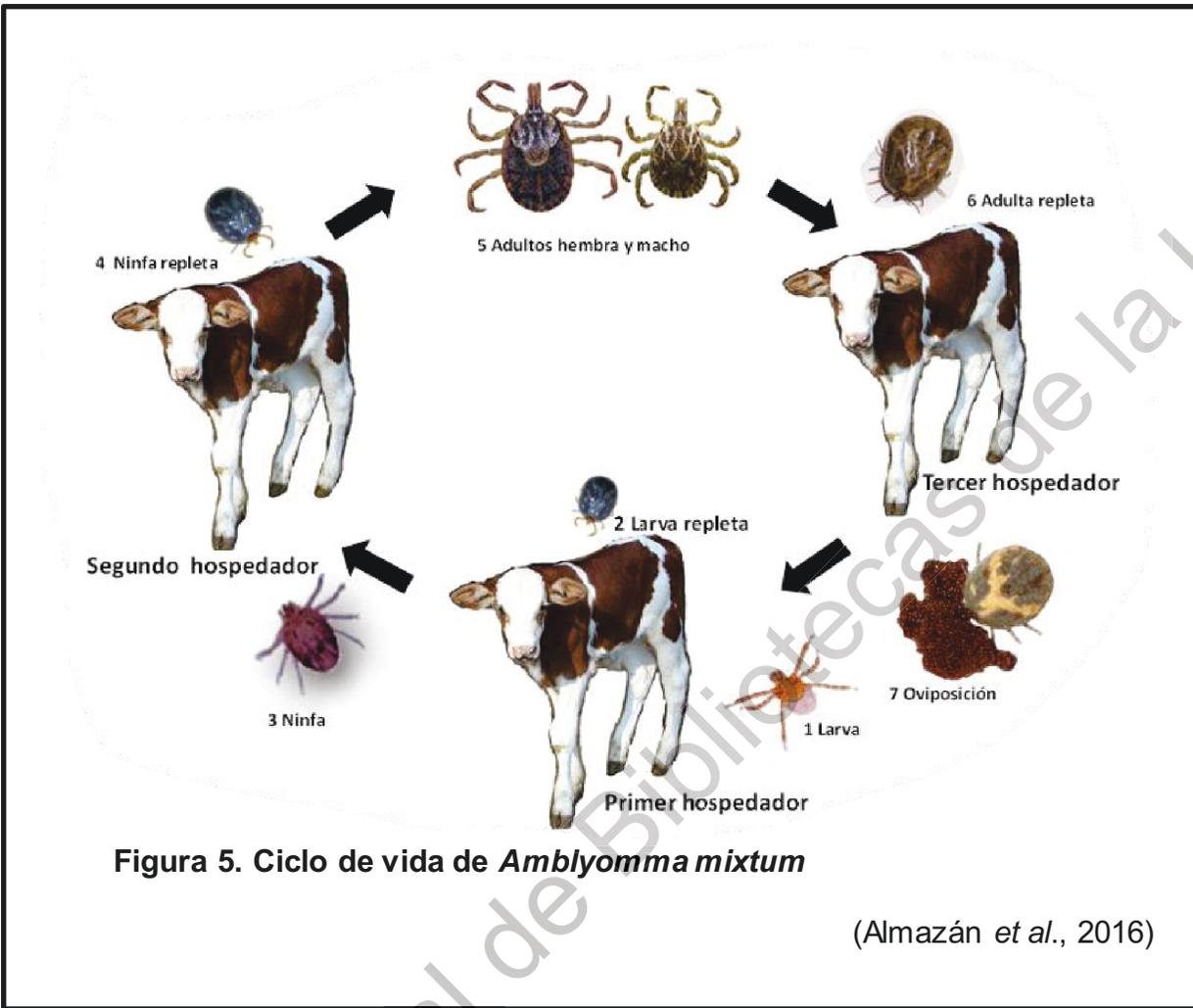
	<i>Amblyomma trimaculatum</i> <i>Amblyomma triste</i> <i>Amblyomma tuberculatum</i> <i>Amblyomma usingeri</i> <i>Amblyomma varanense</i> <i>Amblyomma variegatum</i> <i>Amblyomma varium</i> <i>Amblyomma vikirri</i> <i>Amblyomma williamsi</i>
--	--

(Guglielmone *et al.*, 2010)

### 2.3.3. Ciclo biológico

*Amblyomma* puede alimentarse de distintos huéspedes, en las fases de larva y ninfa tiene tropismo por mamíferos pequeños y jóvenes (Labruna *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 1998). *Amblyomma mixtum* puede alimentarse de diferentes especies de mamíferos y aves, sin embargo, se ha observado en el noreste mexicano que todas las fases evolutivas se pueden alimentar del bovino, aunque se ha encontrado también parasitando equinos, perros y frecuentemente al venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Almazán *et al.*, 2016).

*Amblyomma mixtum* es un ectoparásito de tres huéspedes, primero la larva sube al primer hospedador, se alimenta y completa su repleción en un periodo de 3 a 5 días, se desprenden y caen al suelo. Después, las larvas repletas mudan en el suelo al siguiente estadio, el de ninfa, esto en un periodo de 21 a 30 días. Posteriormente, la ninfa sube a un segundo huésped y se alimenta hasta repletarse, este proceso dura de 3 a 6 días. La ninfa repleta se suelta del huésped y cae al suelo, realiza su muda entre 20 y 28 días. Las garrapatas adultas suben al tercer hospedero, se alimentan y copulan, la repleción total de las hembras se lleva a cabo del día 7 al 12. Las hembras repletas se despegan del huésped, en el suelo, ovopositan en un lapso de 25 a 29 días. Los huevos incuban en el suelo entre 8 y 12 días. El ciclo finaliza con la eclosión de las larvas y su maduración. En condiciones propicias, con disponibilidad de huéspedes y temperatura y humedad adecuadas, el ciclo biológico completo puede durar y desarrollarse entre 133 y 193 días (Almazán *et al.*, 2016) (Figura 5).



#### 2.3.4. Importancia

Las garrapatas del género *Amblyomma* son ectoparásitos de todas las clases de vertebrados terrestres: anfibios, reptiles, aves y mamíferos (Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011). Muchos miembros de este género tienen importancia en medicina veterinaria y salud pública, sirven de vectores de microorganismos que causan enfermedades, como la fiebre manchada de las montañas rocosas (Cooley and Kohls, 1944; Estrada-Pena *et al.*, 2004), otras rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas (Estrada-Pena *et al.*, 2004), hidropericardio (Sonenshine and Michael, 2014) y tularemia enzoótica (Cooley and Kohls, 1944), en animales domésticos y silvestres, como también en el humano.

Las garrapatas pueden causar daño de manera directa e indirecta, la directa, en el caso de *Amblyomma*, es debido a las piezas bucales tan desarrolladas características del género, estas producen una herida profunda y sangrante en la piel la cual puede infectarse con facilidad debido a la colonización de bacterias o infestarse con larvas de mosca produciendo miasis, ocasionando daño considerable a la piel y a la salud del hospedero (Soulsby, 1992).

Los efectos directos causados en el huésped son relevantes, debido a su gran tamaño, una garrapata hembra en el estadio adulto puede ingerir de uno a tres mililitros de sangre, por lo que, si el número de estos parásitos es considerable, el volumen de pérdida sanguínea podría conducir a un cuadro de anemia hemorrágica severa (Quijada *et al.*, 2006).

#### 2.3.4.1. Distribución

En México, especímenes de este género han sido colectados de 30 de los 32 estados del territorio nacional, estando asociados principalmente a mamíferos, pero también afectando a reptiles, aves y anfibios.

<b>Cuadro 3. Registro de presencia de garrapatas del género <i>Amblyomma</i> en México por estado</b>		
Estado	Género y especie	Coordenadas*
Baja California	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L. **	
Baja California Sur	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
Campeche	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	19°00'00"N, 116°37'45"E. 18°37'00"N, 90°43'00"E. 19°19'00"N, 90°25'00"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. sabanerae</i>	
	<i>A. tuberculatum</i>	
Chiapas	<i>Amblyomma auricularium</i>	
	<i>A. cajennense</i> S. L.	16°02'00"N, 92°52'00"E.

		15°55'00"N, 92°43'00"E. 16°45'10"N, 93°07'00"E. 16°14'51"N, 93°41'2.4"E.
	<i>A. coelebs</i>	16°45'21.9"N, 91°00'32.1"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. longirostre</i>	
	<i>A. maculatum</i>	16°15'00"N, 92°08'00"E.
	<i>A. oblongoguttatum</i>	
	<i>A. pacae</i>	
	<i>A. ovale</i>	16°46'51.6"N, 90°56'56.52"E.
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. pecarium</i>	
	<i>A. rotundatum</i>	
	<i>A. sabanerae</i>	
Chihuahua	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. elaphense</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
Coahuila	<i>Amblyomma americanum</i>	29°03'00"N, 100°54'00"E.
	<i>A. cajennense</i> S. L.	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
	<i>A. triste</i>	
Colima	<i>Amblyomma. cajennense</i> S. L.	
	<i>A. imitator</i>	
C.D. de México	<i>A. cajennense</i> S. L.	
Edo. De México	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. scutatum</i>	
Guanajuato	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. coelebs</i>	
Guerrero	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	17°12'00"N, 100°26'00"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. scutatum</i>	
	<i>A. ovale</i>	
Hidalgo	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. imitator</i>	21°10'19"N, 98°36'23"E.

		21°10'00"N, 98°54'00"E.
	<i>A. maculatum</i>	
Jalisco	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	19°29'53.051"N, 105°02'39.695"E. 19°31'38.7"N, 105°04'19.62"E.
	<i>A. coelebs</i>	
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. rotundatum</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. parvum</i>	
Michoacán	<i>Amblyomma auricularium</i>	18°31'00"N, 102°21'00"E.
	<i>A. cajennense</i> S. L.	
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. rotundatum</i>	
Morelos	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. scutatum</i>	
Nayarit	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	21°32'23"N, 105°17'08"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
	<i>A. parvum</i>	
Nuevo León	<i>A. auricularium</i>	21°30'00"N, 104°54'00"E.
	<i>Amblyomma americanum</i>	
	<i>A. cajennense</i> S. L.	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
Oaxaca	<i>A. maculatum</i>	
	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	17°13'35"N, 95°03'04"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. inornatum</i>	17°02'53"N, 96°36'34"E.
	<i>A. oblongoguttatum</i>	
	<i>A. sabanerae</i>	
	<i>A. scutatum</i>	

	<i>A. parvum</i>	16°39'27"N, 95°00' 38"E.	
	<i>A. pecarium</i>		
Puebla	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	20°18'00"N, 95°03'04"E. 20°26'17"N, 97°40'43"E.	
	<i>A. imitator</i>		
	<i>A. inornatum</i>		
	<i>A. maculatum</i>		
	<i>A. ovale</i>	20°15'15"N, 97°53'41"E.	
Querétaro	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	20°42'00"N, 99°49'00"E.	
	<i>A. imitator</i>	21°12'15.6"N, 99°31'9.24"E.	
	<i>A. maculatum</i>		
Quintana Roo	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	18°11'33"N, 88°58'58"E.	
	<i>A. imitator</i>		
	<i>A. sabanerae</i>		
	<i>A. ovale</i>		
	<i>A. tuberculatum</i>		
San Luis Potosí	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	22°26'16"N, 101°03'07"E. 21°56'07"N, 98°50'11"E.	
	<i>A. imitator</i>	21°40'22"N, 98°51'37"E. 21°55'00"N, 98°48'00"E. 21°15'56"N, 98°47' 45"E.	
	<i>A. ovale</i>		
	<i>A. maculatum</i>		
Sinaloa	<i>Amblyomma auricularium</i>		
	<i>A. cajennense</i> S. L.		
	<i>A. imitator</i>		
	<i>A. inornatum</i>		
	<i>A. maculatum</i>		
	<i>A. oblongoguttatum</i>		
Sonora	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.		
	<i>A. inornatum</i>		
	<i>A. maculatum</i>		
	<i>A. triste</i>		
Tabasco	<i>Amblyomma auricularium</i>	17°32'56"N, 92°57'12"E.	
	<i>A. cajennense</i> S. L.	17°28'21"N, 91°25'36"E. 17°45'36"N, 92°35'51"E. 18°08'00"N, 93°01'00"E. 17°51'00"N, 93°23'00"E. 18°17'01"N, 93°12'39"E. 18°20'02"N, 93°17' 46"E.	
	<i>A. inornatum</i>		
	<i>A. maculatum</i>		

	<i>A. oblongoguttatum</i>	
	<i>A. ovale</i>	
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. pecarium</i>	
Tamaulipas	<i>Amblyomma americanum</i>	
	<i>A. auricularium</i>	
	<i>A. cajennense</i> S. L.	22°45'15"N, 98°35'31"E. 22°39'37"N, 97°55'34"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
	<i>A. ovale</i>	
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. triste</i>	
	<i>A. scutatum</i>	
Veracruz	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	18°08'60"N, 94°24'18"E. 17°54'36"N, 94°05'34"E. 18°26'58.92"N, 95°12'43.92"E. 18°27'00"N, 95°12'43"E.
	<i>A. calcaratum</i>	
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. longirostre</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
	<i>A. nodosum</i>	
	<i>A. ovale</i>	20°37'00"N, 97°37'00"W.
	<i>A. scutatum</i>	
Yucatán	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	21°08'33"N, 88°09'53"E. 21°11'35"N, 88°09'30"E. 21°11'27"N, 88°10'04"E.
	<i>A. dissimile</i>	
	<i>A. imitator</i>	
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. parvum</i>	
	<i>A. rotundatum</i>	
	<i>A. sabanerae</i>	
<i>A. tuberculatum</i>		
Zacatecas	<i>Amblyomma cajennense</i> S. L.	
	<i>A. imitator</i>	

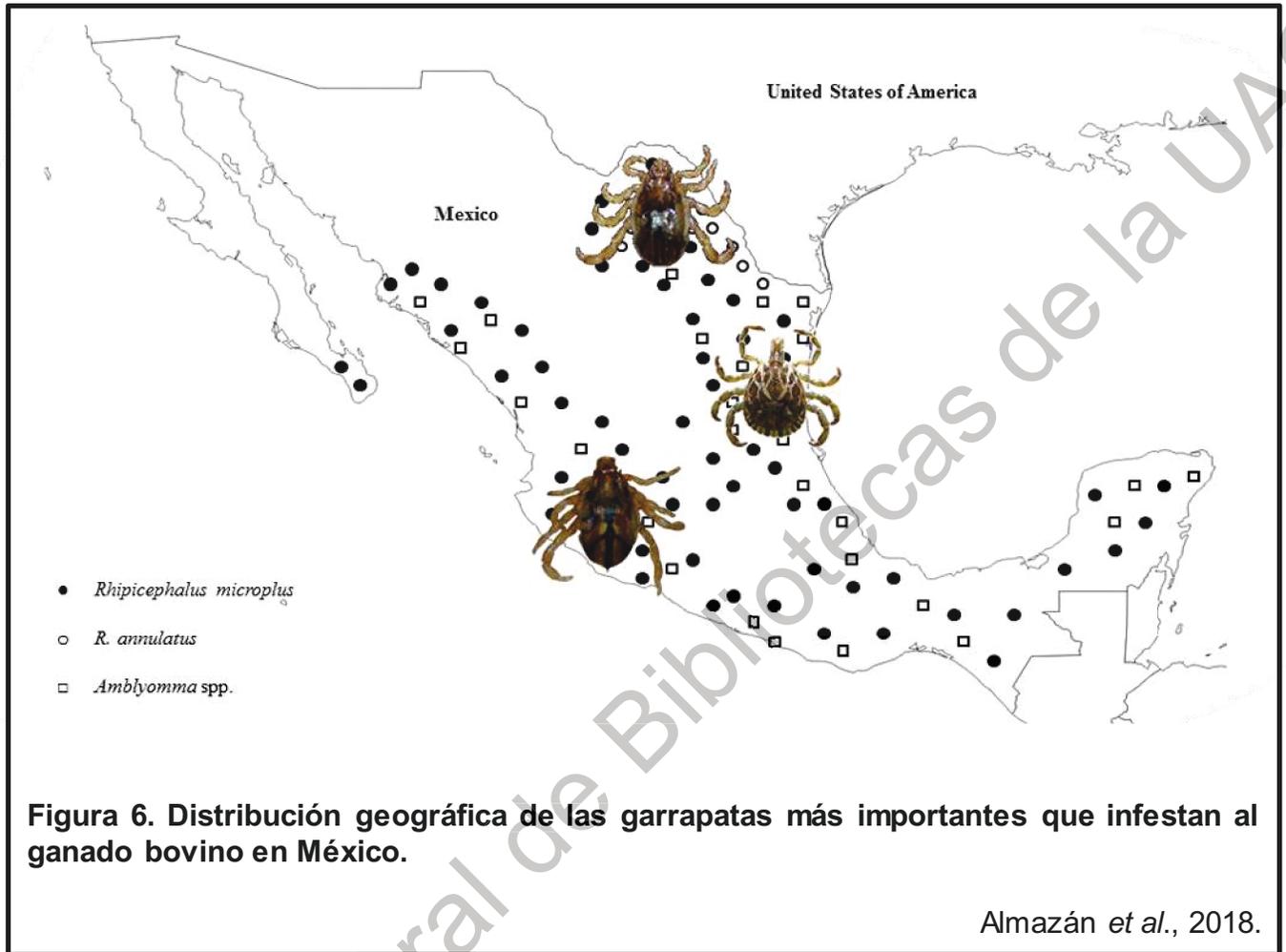
	<i>A. inornatum</i>	
	<i>A. maculatum</i>	
No descrito	<i>Amblyomma humerale</i> <i>A. multipunctum</i> <i>A. nodosum</i> <i>A. tigrum</i> <i>A. varium</i>	

(Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011)

\*Sólo en caso de que el dato exista

\*\* El complejo *Amblyomma cajennense Sensu Latu* está comprendido por seis especies: *A. cajennense sensu stricto*, *A. interandium*, *A. mixtum*, *A. patinoi*, *A. sculptum* y *A. tonelliae*, de las cuales en México encontramos sólo *A. mixtum* (Nava *et al.*, 2014)

La distribución de *A. mixtum* comprende desde el sur de Texas, a través de México y hasta Ecuador, aunque el trabajo de Rivera-Páez y sus colaboradores registran también poblaciones en Colombia (Nava *et al.*, 2014; Rivera-Páez *et al.*, 2016). En regiones cercanas al golfo de México donde hay grandes concentraciones de ganado y existen condiciones de alta temperatura y alta humedad durante todo el año es un son lugares adecuados como hábitat para poblaciones de *A. mixtum*, y las infestaciones pueden trascender a otras especies como caballos, perros y fauna silvestre como venados y pecarí, en el trabajo de Domínguez y colaboradores documenta la inusual infestación de *Trachemys scripta* (Testudines: Emydae) una tortuga semi acuática por parte de *A. mixtum* (Domínguez *et al.*, 2016), además, las personas que trabajan con ganado y otro personal que labora en actividades forestales y manejo de fauna silvestre se encuentran frecuentemente afectadas por *A. mixtum* (Estrada-Peña *et al.*, 2006b). (Figura 6.)



#### 2.3.4.2. Enfermedades transmitidas

Debido a su reciente separación como especie, no se tienen muchos datos acerca del papel de *Amblyomma mixtum* como vector, sin embargo, se ha demostrado que *A. cajennense* S. S. es un vector de *Rickettsia rickettsi*, agente causal de la fiebre manchada en Brasil (Labruna, 2009). También, se ha documentado la presencia de *R. rickettsi* en *A. imitator* en Nuevo León. (Oliveira *et al.*, 2010). Además, en forma experimental, *A. cajennense* puede transmitir la fiebre “Q” causada por *Rickettsia burnetti* y brucelosis, se ha demostrado que puede infectarse con el protozoario *Tripanosoma cruzi*, el género *Amblyomma* se ha

señalado también como un vector biológico competente del virus de la encefalitis equina venezolana (Bautista, 2006; Moissant de Roman *et al.*, 2002).

Previo a su restitución como especie, el complejo *A. cajennense* S. L. se señaló como vector mecánico de la anaplasmosis bovina (Rodríguez-Vivas and Domínguez-Alpizar, 1998). Por tanto, el comportamiento biológico de cambiar de huésped, del género *Amblyomma*, lo convierte en vectores potenciales de enfermedades entre animales y el hombre (Soulsby, 1992).

Castro y colaboradores detectaron por medio de métodos moleculares que adultos en la fase de búsqueda de la especie *Amblyomma mixtum* se encontraban infectados de *Candidatus "Rickettsia amblyommii"* en Panamá, sin embargo, esto aún requiere demostrar el papel que juega esta garrapata en la transmisión de este patógeno y en su papel como reservorio (Castro *et al.*, 2015).

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general:

Analizar el papel del ganado procedente del trópico del país en la diseminación de la garrapata y las enfermedades transmitidas por estas en el semidesierto queretano.

#### 3.2 Objetivos específicos:

- 1.-Cuantificar la frecuencia de animales infestados por garrapata.
- 2.-Determinar los géneros de garrapatas presentes.
- 3.-Determinar la resistencia de las garrapatas *Rhipicephalus* spp. a acaricidas.
- 4.-Determinar la posible presencia de garrapatas *Rhipicephalus* spp., babesiosis y anaplasmosis en animales nativos localizados en zonas aledañas a las unidades de producción pecuaria.

#### IV. MATERIAL Y MÉTODO

El trabajo se dividió en dos partes, la primera se realizó en dos Unidades de Producción Pecuaria (UPP) de bovinos de carne ubicadas en Ezequiel Montes. Se realizó el muestreo a todos los bovinos en la recepción que recibieron durante tres meses, se colectó el mayor número posible de garrapatas de cada individuo, se cuantificó el número de individuos que tenían garrapatas de cada lote, se analizó el género de garrapatas que encontramos en los individuos.

A los animales que presentaron decaimiento y mal estado en general se les extrajo sangre directamente de la vena coccígea, el procedimiento se realizó con tubos Vacutainer® con EDTA, con el objeto de realizar pruebas de microhematocrito y frotis sanguíneo. El frotis se fijó con alcohol metílico absoluto por dos minutos y fue teñido con Giemsa al 10% para su observación y diagnóstico a través de un microscopio óptico (Rodríguez *et al.*, 1994), con el fin de determinar el estado anémico y la presencia de *Anaplasma* y/o *Babesia* respectivamente.

Las garrapatas recolectadas se llevaron al laboratorio de la facultad. Se lavaron al chorro de agua directo, para retirar cualquier contaminante que tuvieran, después, se dejaron sumergidas en una solución de benzal al 10% durante diez minutos, posteriormente, se enjuagaron con agua para quitar cualquier residuo de benzal, se prosiguió a secar las garrapatas con toallas de papel, una vez secas se colocaron en cajas de Petri, en cada una de estas cajas se colocaron entre diez y quince garrapatas del mismo género, a estas cajas de petri se les etiquetó con los siguientes datos, fecha de la colecta, género de la garrapata, el lugar de donde se colectaron y nombre de la persona responsable de estas.

Las cajas petri se colocaron en una incubadora a una temperatura de entre 25 a 26 C° y una humedad relativa de 80%. Al día quince pos recolección las garrapatas acabaron de ovipositar y fueron retiradas de la caja de petri y sometidas al diagnóstico de hemolinfa, mediante el corte de un artejo de una pata para obtener la hemolinfa y se realizó un frotis. El frotis se fijó con alcohol metílico absoluto por dos minutos y fue teñido con Giemsa al 10% para su observación y diagnóstico a

través de un microscopio óptico (Rodríguez *et al.*, 1994). Los huevos que las garrapatas ovipositaron, se colocaron en viales, a cada vial se le colocó un gramo de huevos. Los viales se etiquetaron con la misma información que se puso en las cajas petri y se colocaron de nuevo en la incubadora. Después de 45 días pos recolección de las garrapatas el total las larvas eclosionaron de los huevos y su exoesqueleto se endureció.

En el laboratorio de microbiología de la FCN a las larvas se les realizó la prueba de resistencia contra el piretroide (Flumetrina) y lactonas macrocíclicas (Ivermectina), para determinar si eran resistentes (Anexo 1).

Algunas larvas fueron enviadas al Centro Nacional de Parasitología, en Cuernavaca, Morelos; para que se realizaran pruebas de resistencia para Lindano, Chlopiriphos, Coumaphos, Diazinon, Flumetrina, Deltrametrina, Cypermetrina, Fipronil y Amitraz.

La segunda parte del estudio se realizó en la comunidad de Urecho, Querétaro; zona aledaña a las UPP muestreadas, el ganado de esta zona es nativo de la región y pertenece a pequeños productores. Se realizó el muestreo durante dos meses, en el cual, se colectó el mayor número posible de garrapatas de cada individuo, se cuantificó el número de individuos con garrapata, se analizó el género de garrapatas que se encontraron en los individuos, se realizaron pruebas de resistencia como lo ya mencionado anteriormente.

Se introdujo un becerro de seis meses raza suizo americano, proveniente de una UPP tecnificada especializada en producción láctea, ubicada en el municipio del Marqués, para que pastara con los animales de uno de los pequeños productores muestreados de la comunidad de Urecho durante un periodo de dos meses, con el objetivo de ver si se le subían las larvas con el fin de comprobar que está establecido el ciclo de las garrapatas en la zona del semidesierto queretano.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

La frecuencia de animales infestados de garrapatas de las UPP Ezequiel Montes se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Porcentaje de animales infestados con al menos una garrapata a la recepción en UPP de Ezequiel Montes durante junio, julio y agosto del 2018.

	Unidad de transporte	Número de animales	Estado de procedencia	Número de animales con garrapata (%)
	1	58	Veracruz	52 (89.6)
	2	62	Veracruz	50 (80.6)
	3	60	Chiapas	51 (85.0)
	4	58	Veracruz	50 (86.2)
	5	62	Chiapas	47 (75.8)
Total	5	300		250 (83.4)

El total del ganado del que se obtuvo las garrapatas provenían de regiones tropicales del país, las condiciones climáticas donde estos animales se infestaron son las propicias para que se complete el ciclo de la garrapata y que exista una estabilidad enzoótica como lo mencionan (Mahoney and Ross., 1972, Siap-SAGARPA, 2016).

El principal género de garrapata que se encontró en este estudio fue *Rhipicephalus microplus*, como es conocido, esta garrapata se encuentra distribuida en todo el país con excepción de las altas mesetas del centro y norte del territorio (Estrada-Peña et al., 2006a; Siap-SAGARPA, 2016), en este territorio están contemplados los estados de donde provienen los bovinos. Rodríguez-Vivas *et al.*, (2013) mencionan que un bovino parasitado por garrapatas del género *Rhipicephalus* pierde peso en un cálculo de 0.26 kg/garrapata/año, en este estudio el 83% de los animales a la recepción estaban infestados con garrapatas de este

género, lo cual nos da una idea de las pérdidas millonarias a causa de esta garrapata.

Durante este trabajo se recuperaron también especímenes del género *Amblyomma*, este es considerado el segundo género de mayor importancia en bovinos en el trópico (Almazán *et al.* 2016). *A. mixtum* se encuentra en todos los estados que comprenden la franja del Golfo de México hasta la península de Yucatán, la región central del país y el Pacífico desde el estado de Nayarit hasta Chiapas (Senasica-SAGARPA,2012), Nava *et al.*, (2014) determinaron que *A. mixtum* es la especie de garrapata del género *Amblyomma* que parasita normalmente a los bovinos y equinos de las zonas tropicales de México, concordando con lo encontrado en este estudio. También, Aguilar-Domínguez *et al.*, (2019) ha descrito la presencia de la especie *A. mixtum* a todo lo largo del estado de Veracruz, siendo uno de los estados de origen de los animales que arribaron al sitio de muestreo.

A las garrapatas recolectadas se les realizó la prueba de resistencia a Flumetrina por el método de paquete de larvas resultando en el 100% de supervivencia. Para Ivermectina se realizó prueba de inmersión de larvas modificada, los resultados se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Resultados de la prueba de inmersión de larvas modificada para Ivermectina en garrapatas *Rhipicephalus* colectadas en UPP de Ezequiel Montes.

	Vivas/muertas	Vivas/muertas	Vivas/muertas	% de Muertas
Testigo	100/0	100/0	100/0	0
20 ppm	20/84	27/97	30/89	77.8
40 ppm	26/104	16/92	25/88	80.9

Algunas larvas fueron remitidas al CENAPA, para realizar pruebas de resistencia a distintos compuestos, los resultados se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Resultados de las pruebas de resistencia, realizados en el CENAPA para diferentes compuestos:

Familia	Compuesto	% de larvas muertas
TESTIGO	-	0
CLORADO	LINDANO	51.6
FOSFORADOS	CHLORPIRIPHOS	48.42
	COUMAPHOS	10.38
	DIAZINON	9.32
PIRETROIDES	FLUMETRINA	19.78
	DELTAMETRINA	33.33
	CYPERMETRINA	33.24
FENILPIRAZOLONAS	FIPRONIL	100
AMIDINAS	AMITRAZ	20.22

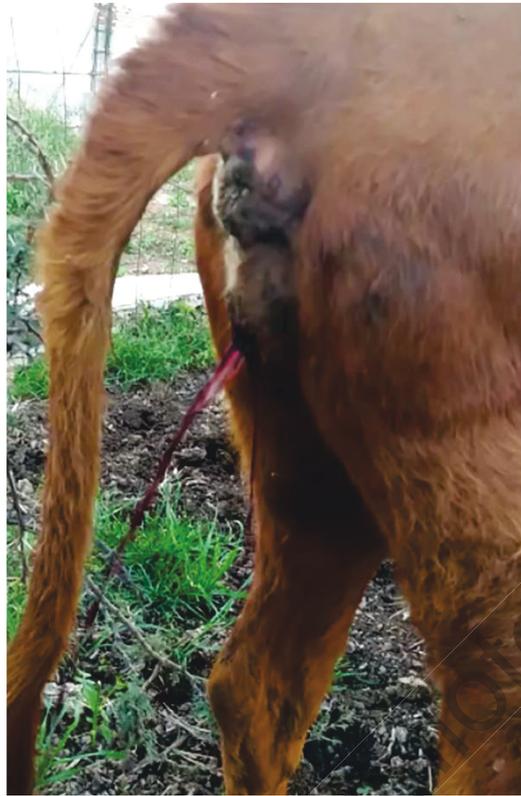
Esto coincide con el trabajo de Klafke et al., (2017) quienes encontraron resistencia múltiple; también concuerda con los trabajos realizados en México de resistencia a piretroides de Fragoso *et al.*, en 1995 y de Rodríguez-Vivas *et al.*, en el 2005, a organofosforados y organoclorados de Santamaría *et al.*, en 1999 y de Rodríguez-Vivas et al., en 2005, a amidinas de Soberanes *et al.*, en 2002, a permetrina, coumafós, amitraz y fipronil de Miller *et al.*, en 2013, a ivermectina de Perez-Cogollo *et al.*, en 2010. Al mismo tiempo, en este trabajo se presentó una total susceptibilidad al concepto fipronil, sin embargo, existen antecedentes de poblaciones resistentes a este compuesto (Miller *et al.*, 2013).

Se muestrearon 101 bovinos de 5 productores diferentes de la comunidad de Urecho, Querétaro, de los cuales el 100% tuvo, al menos, una garrapata. El único género encontrado fue *Rhipicephalus*, las garrapatas fueron remitidas al CENAPA para su identificación por medio de claves morfológicas, se determinó que la especie era *R. annulatus*. La distribución de *R. annulatus* es incierta, existen algunos trabajos que la localizan en el norte del país, aunque su identificación es complicada debido a su similitud con *R. microplus*, esto puede afectar su distribución real

(Almazan *et al.*, 2018). *R. annulatus* es considerada también una garrapata de importancia económica por ser vector biológico de *Anaplasma* y *Babesia* (Pérez de León *et al.*, 2014a). Esta garrapata tiene preferencia por lugares con temperaturas elevadas y con poca precipitación pluvial (Estrada-Peña *et al.*, 2006b), por lo tanto, tiene facilidad para establecerse en esta región. Los hallazgos de garrapatas en esta región no coinciden con lo que reporta el sistema nacional de vigilancia epidemiológica (SIVE), el cual, desde el año 2011 a la fecha no reporta ningún caso de ixodidosis en el estado de Querétaro.

Los resultados de los frotis sanguíneos de los animales en la recepción de las UPP de Ezequiel Montes resultaron negativos para *Babesia* y *Anaplasma*. No obstante, se encontró la presencia de quinetos de *Babesia* en la prueba de hemolinfa que se realizó a las garrapatas que se encontraban infestando a estos animales. Esto coincide con lo mencionado por Almazán y colaboradores (2018), quienes explican que, para mantener la estabilidad enzoótica es necesaria una cantidad de garrapatas infectadas con *Babesia* que asegure que todos los animales menores de 9 meses se expongan a dicha enfermedad, para después desarrollar una inmunidad específica que limita la parasitemia. Por otro lado, en las unidades de los pequeños productores del municipio de Urecho, las poblaciones de garrapatas se ven reducidas considerablemente de una temporada a otra, propiciando que algunos animales no se expongan a la infección por *Babesia* hasta después de los nueve meses de edad, generando una alta morbilidad con un alta mortalidad, situación previamente descrita por Almazán y colaboradores (2018) y Mahoney y Ross (1972).

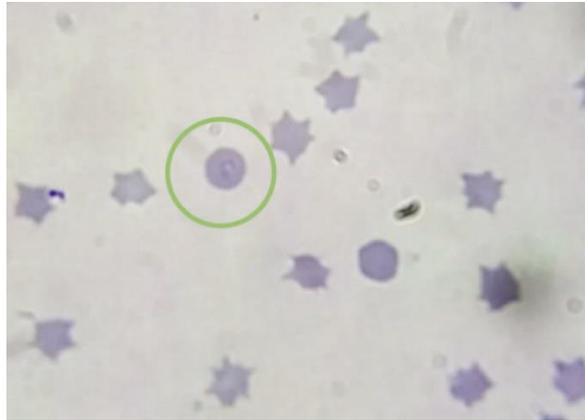
De los animales analizados, se diagnosticaron 4 casos de Babesiosis bovina y 2 de Anaplasmosis transmitida por *Rhipicephalus spp.* Debido a que no son enfermedades habituales en la zona, no fueron reconocidas por los productores ni los médicos veterinarios de la localidad, esto ocasiona pérdidas económicas considerables a los pequeños productores pues estas enfermedades resultan en una alta morbilidad y mortalidad (Mosqueda *et al.*, 2012; Rodríguez *et al.*, 2009).



Fotografía 1. Vaca nativa de los pequeños productores de Urecho con hemoglobinuria.



Fotografía 2. Deceso de la vaca con hemoglobinuria horas más tarde.



Fotografía 3. Trofozoito de *Babesia* en frotis sanguíneo de otra vaca nativa de los pequeños productores de la zona de Urecho con hemoglobinuria.



Fotografía 4. Hematocritos de dos vacas nativa de los pequeños productores en la zona de Urecho con hemoglobinuria .



Fotografía 5.



Fotografía 6.

Fotografía 5 y 6. Cuerpos de inclusión de *A. marginale* en frotis sanguíneo, en vacas nativas de los productores de Urecho.

Cuando se hizo el reporte a la SENASICA ellos argumentaron que el clima era auto limitante para que se estableciera el ciclo de las garrapatas en esta zona, por

esta razón se habló con los pequeños productores y uno de ellos accedió a introducir un animal procedente de una UPP sin presencia de garrapata, el becerro se introdujo en invierno el primero de diciembre del 2018 y se retiró el 30 de enero del 2019. Al retirar el becerro de 6 meses de edad, raza suizo americano, proveniente de la UPP ubicada en el municipio del Marqués especializada en la producción láctea, que fue introducido a pastar junto con los animales de los pequeños productores de la zona Urecho, se le retiraron 51 garrapatas repletas, 17 hembras no repletas, 23 machos y 8 ninfas de garrapata de las cuales se mandaron al CENAPA para su diagnóstico por medio de claves morfológicas *Rhipicephalus annulatus*. Lo que nos indica que el invierno no tuvo las condiciones climáticas para limitar la reproducción de la garrapata así que podemos decir empíricamente que la garrapata se está estableciéndose en la zona del semidesierto queretano, lo que concuerda con lo reportado con Estrada-Peña (2006) que nos dice que esta garrapata tiene preferencia por lugares con temperaturas altas y con poca precipitación pluvial.

## VI. CONCLUSIONES.

Este trabajo hace constar que la movilización de ganado infestado con garrapatas es llevada sin regulación o restricción de zonas endémicas hacia el centro del país, favoreciendo su diseminación, ya que, de los animales involucrados en este estudio, más del 80% de los animales que ingresaron a Querétaro provenientes de Veracruz y Chiapas estaban infestados de garrapatas.

El 83% de los animales analizados durante este estudio en el periodo de recepción estaban infestados de por lo menos una garrapata.

Los géneros recuperados fueron *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, son considerados los dos más importantes para la ganadería, por su importancia en la economía y por su papel como vectores de enfermedades para animales y para el hombre.

Las garrapatas del género *Rhipicephalus* recuperadas a lo largo de este trabajo presentaron resistencia múltiple a los acaricidas, esto presenta un problema para el control de dichas poblaciones.

Se encontró la presencia de garrapatas en las zonas aledañas, los casos clínicos de Babesiosis y Anaplasmosis en el ganado nativo del semidesierto queretano nos dice que no hay una estabilidad enzoótica.

Este es el primer reporte que se realiza en el estado de Querétaro sobre el establecimiento de *Rhipicephalus annulatus*, Anaplasmosis y Babesiosis en el semidesierto.

## VII. REVISIÓN DE LITERATURA

- Aguilar, G., and Rodríguez-Vivas R. I. 2003. Effect of moxidectin against natural infestation of the cattle tick *Boophilus microplus* (acarina: Ixodidae) in the mexican tropics. *Vet Parasitol* 111: 211 - 216.
- Alegría-López, M. A., Rodríguez-Vivas, R. I., Torres-Acosta, J. F., Ojeda-Chi, M. M., and Rosado-Aguilar, J. A. 2015. Use of ivermectin as endoparasiticide in tropical cattle herds generates resistance in gastrointestinal nematodes and the tick *Rhipicephalus microplus* (acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 52: 214 - 221.
- Almazan, C., Aguilar, T. G., Rodrigues, S., Mosqueda, J., and Perez de Leon, A. 2018. Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle healt and production. *Front Biosc* 23: 1535 - 1551.
- Almazán, C., Torres-Torres, A., Torres-Rodríguez, L., Soberanes-Céspedes, N., and M. Ortiz-Estrada. 2016. Aspectos biológicos de *Amblyomma mixtum* (koch, 1844) en el noreste de México. *Que hacer Científico en Chiapas* 11: 10 - 19.
- Alonso-Diaz, M. A., Fernandez-Salas, A., Martinez-Ibanez, F., and Osorio-Miranda, J. 2013. *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) tick populations susceptible or resistant to acaricides in the mexican tropics. *Vet Parasitol* 197: 326-331.
- Angerami, R. N., Camara, M., Pacola, M. R., Rezende, R. C., Duarte, R. M., Nascimento, E. M., S. Colombo, F. C. Santos, R. M. Leite, G. Katz, and L. J. Silva. 2012. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis* 3: 346 - 348.
- Aubry, P., and Geale, D. W. 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transbound Emerg Dis* 58: 1 - 30.
- Battilani, M., De Arcangeli, S., Balboni, A., and Dondi, F. 2017. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. *Infect Genet Evol* 22: 195 - 211.
- Bautista, C. 2006. *Etología veterinaria esencial*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.
- Beati, L., Nava, S., Burkman, E. J., Barros-Battesti, D. M., Labruna, M. B., Guglielmo, A. A., Caceres, A. G., Guzman-Cornejo, C. M., Leon, R., Durden, L. A., and . Faccini, J. L. 2013. *Amblyomma cajennense* (fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the cayenne tick: Phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evol Biol* 13: 267.
- Black, B., Hollingworth, R., Ahammadsahib, K., Kukel, C., and Donovan, S. 1994. Insecticidal action and mitochondrial uncoupling activity of ac-303,630 and related alogenated pyroles. *Pestic Biochem Physiol* 50: 115 - 128
- Bock, R., Jackson, L., de Vos, A., and Jorgensen, W. 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology* 129: 247 - 269.
- Bock, R. E., de vos, A. J., Kingston, T. G., and Carter, P. D. 2003. Assessment of a low virulence australian isolate of *Anaplasma marginale* for pathogenicity, immunogenicity and transmissibility by *Boophilus microplus*. *Vet Parasitol* 118: 121 - 131.

- Bowman, D. D. 2011. *Georgis, parasitología para veterinarios*. 9 ed. Elsevier, Barcelona, España.
- Brayton, K. A., Lau, A. O., Herdon, D. R., Hannik, L., Kappmeyer, L. S., Berens, S. J., Bidwell, S. L., Brown, W. C., Crabtree, J., Fadrosch, D., Feldblum, T., Forberger, H. A., Haas, B. J., Howell, J. M., Khouri, H., Koo, H., Mann, D. J., Norimine, J., Paulsen, I. T., Radune, D., Ren, Q., Smith, R. K., Suarez, C. E., White, O., Wortman, J. R., Knowles, D. P., McElwain, T. F., and Nene V. M. 2007. Genome sequence of *Babesia bovis* and comparative analysis of apicomplexan hemoprotozoa. *PLoS Pathog* 3: 1401 - 1413.
- Callow, L. L. 1979. Some aspects of the epidemiology and control of bovine babesiosis in Australia. *J S Afr Vet Assoc* 50: 353 - 356.
- Carreón, D., Pérez, J. M. de la lastra, Almazán, C., Canales, M., Ruiz-Fons, F., Boadella, M., Moreno-Cid, J. A., Villar, M., Gortazar, C., Reglero, M., Villarreal, R., and de la Fuente J. 2012. Vaccination with bm86, subolesin and akirin protective antigens for the control of tick infestations in white tailed deer and red deer. *Vaccine* 5: 273- 279.
- Castro, D.A. M., García, S. G. G., Dzul-Rosado, K., Aguilar, A., Castillo, J., Gabster, A., Trejos, D., Zavala-Castro, J., and Bermúdez, C. S. E. 2015. Questing *Amblyomma mixtum* and *Haemaphysalis juxtakochi* (Acari: Ixodidae) infected with candidate "Rickettsia amblyommii" From natural environmental in Panama canal basin, Panama. *Trop Med Health* 43: 217 - 222.
- Coetzee, J. F., Apley, M. D. and Kocan K. M. 2006. Comparison of the efficacy of enrofloxacin, imidocarb, and oxytetracyclin for clearance of persistence *Anaplasma marginale* infections in cattle. *Vet Ther* 7: 347 - 760.
- Cooley, R. A., and Kohls, G. M. 1944. The genus *Amblyomma* (ixodidae) in the United States. *The Journal of Parasitology* 30: 77- 111.
- Chaisi, M. E., Baxter, J. R., Hove, P., Choopa, C. N., Oosthuizen, M. C., Brayton, K. A., Khumalo, Z. T., Mutshembele, A. M., Mtshali, M. S., and Collins, N. E. 2017. Comparison of three nucleic acid-based test for detecting *Anaplasma marginale* and *Anaplasma centrale* in cattle. *J Vet Res* 23: 1 - 9.
- de Lemos, E. R., Machado, R. D., Pires, F. D., Machado, S. L., da Costa, L. M., and Coura, J. R. 1997. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 477 - 481.
- Domínguez, A. L., Hernández, A., Estrada, E., Correa, N., Cleghorn, J., and Bermúdez, C. S. E. 2016. Inusual parasitismo de *Amblyomma mixtum* (ixodida: Ixodidae) en *Trachemys scripta* (Testudines: Emydidae) en Panamá. *Revista Ibérica de Aracnología* 28: 137 - 139.
- Estrada-Pena, A., Guglielmone, A. A., and Mangold, A. J. 2004. The distribution and ecological 'preferences' of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Ann Trop Med Parasitol* 98: 283-292.
- Estrada-Peña, A., Bouattour, J. L., Camicas, A., Guglielmone, A., Horak, I. G., Jongejan, F., Latif, A., Pegram, R. G., and Walker, A. R. 2006a. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Exp Appl Acarol* 38: 219- 235.

- Estrada-Peña, A., García, Z., and Sánchez, H. F. 2006b. The distribution and ecological preferences of *Boophilus microplus* (acari: Ixodidae) in Mexico. *Exp Appl Acarol* 38: 307- 316.
- FAO. 1987. Control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten, manual pático de campo. Food and Agriculture Organization.
- Florin-Christensen, M., Suarez, C. E., Rodriguez, A. E., Flores, D. A., and Schnittger, L. 2014. Vaccines against bovine babesiosis: Where we are now and possible roads ahead. *Parasitology*: 1 - 30.
- Fragoso, S. H., Soberanes, N., and Ortíz, A. 1995. Epidemiología de la resistencia a ixodicidas piretroides en garrapatas *B. microplus* en la República Mexicana. In: III Seminario Internacional de Parasitología Animal. Resistencia y control de garrapatas y moscas de importancia veterinaria, Acapulco, Guerrero, México.
- Friedhoff, K. T., and Buscher, G. 1976. Rediscovery of koch's "Strahlenorper" Of *Babesia bigemina*. *Z Parasitenkd* 50: 345 - 347.
- Ge, N. L., Kocan, K. M., Blouin, E. F., and Morphy, G. L. 1996. Developmental studies of *Anaplasma marginale* (rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) infected as adult using nonradioactive in situ hybridization. *J Med Entomol* 33: 911 - 920.
- George, J. E. 1989. The cattle fever tick eradication program in the USA: History, achievements, problems and implications for other countries. In: F. Food and Agriculture Organization of the United Nations (ed.), Rome.
- Graf, J. F., Gogolewski, R., Leach-Bing, N., Sabatini, G. A., Molento, M. B., Bordin, E. L., and Arantes, G. J. 2004. Tick control: An industry point of view. *Parasitology* 129: S427 - S442.
- Grisi, L., Leite, R. C., Martins, J. R., Barros, A. T., Andreotti, R., Cancado, P. H., León, A. A., Pereira, J. B., and Villela, H. S. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 23: 150 - 156.
- Guerrero, F., Pérez de León, A., Rodríguez-Vivas, R. I., Jonsson, N., Miller, R. and Andreotti, R. 2014. Acarice research and development, resistance and resistance monitoring. In: D. E. Sonenshine and Roe, R. M. (eds.) *Biology of ticks* No. 2. Oxford University Press, New York.
- Guglielmone, A. A., Mangold, A. J., Szabó, M. P. J., Martins, J. R. S., and Estrada-Peña, A. 2006. Diversidade e importância de carrapatos em sanidade animal. In: D. M. Barros-Battesti, M. Arzua and G. H. Bechara (eds.) *Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação das espécies*. p 115 - 138. Vox/ICTTD-3/Butantan, Sao Paulo, Brasil.
- Guglielmone, A. A., and Nava, S. 2006. Las garrapatas argentinas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) distribución y hospedadores. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 35: 133 - 153.
- Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Shao, R., and Barker, S. C. 2010. The argasidae, ixodidae and nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. *Zootaxa* 2528: 1 - 28.

- Guzmán-Cornejo, C., Robbins, R. G., Guglielmone, A. A., Montiel-Parra, G., and Pérez, T. M. 2011. The *Amblyomma* (Acari: Ixodida: Ixodidae) of Mexico: Identification keys, distribution and host. *Zootaxa* 2998: 16- 38.
- Horobin, R. W., and Walter, K. J. 1987. Understanding romanowsky staining. The romanowsky-giemsa effect in blood smears. *Histochemistry* 86: 331 - 336.
- Jasiorowski, A. H. 1990. Opening statement for the fao expert consultation on revision of strategies for the control of tick and tick borne disease. *Parasitology* 32: 133 - 143.
- Klafke, G., Webster, A., Dall Angol, B., Preadel, E., Silva, J., de la Canal, L. H., Becker, M., Osório, M. F., Mansson, M., Barreto, M., Scheffer, R., Souza, U. A., V. B. Corassini, J. Dos Santos, J. Reck, and Martins, J. R. 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul State, southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis* 8: 73 -80.
- Kocan, K. M., de la Fuente, J., Blouin, E. F., Coetzee, J. F., and Ewing, S. A. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol* 167: 95 - 107.
- Kreier, J. P., and Ristic, M. 1963. Morphologic characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the orego strain of *Anaplasma marginale*. *Am J Vet Res* 24: 676 - 687.
- Kuttler, K. L., Goff, W. L., Gipson, C. A., and Blackburn, B. O. 1988. Serologic response of *Babesia equi* infected horses as measured by complement-fixation and indirect fluorescent antibody test. *Vet Parasitol* 26: 199 - 205.
- Labruna, M. B. 2009. Ecology of rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci* 1166: 156 - 166.
- Labruna, M. B., Amaku, M., Metzner, J. A., Pinter, A., and Ferreira, F. 2003. Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (acari: Ixodidae) in southeast Brazil. *Journal of Medical Entomology* 40: 170 - 178.
- Labruna, M. B., Camargo, L. M., Schumaker, T. T., and Camargo, E. P. 2001. Parasitism of domestic swine (*Sus scrofa*) by *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) on a farm at monte negro, western amazon, Brazil. *J Med Entomol* 39: 241- 243.
- Linthicum, K. J., Logan, T. M., Bailey, C. L., Gordon, S. W., Peters, C. J., Monath, T. P., Osorio, J., Francly, D. B., McLean, R. G., Leduc, J. W. 1991. Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection in and transmission by the tick *Amblyomma cajennense* (arachnida: Ixodidae). *J Med Entomol* 28: 405-409.
- Lopes, C. M., Leite, R. C., Labruna, M. B., de Oliveira, P. R., Borges, L. M., Rodrigues, Z. B., de Carvalho, H. A., de Freitas, C. M., and Vieira, C. R. Junior. 1998. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 347 - 351.
- Macmillan, H., Norimine, J., Brayton, K. A., Palmer, G. H., and Brown, W. C. 2008. Physical linkage of naturally complexed bacterial outer membrane proteins enhances immunogenicity. *Infect Immun* 76: 1223 - 1229.
- Mahoney, D. F., Kerr, J. D., Goodger, B. V., and Wright, I. G. 1979. The immune response of cattle to *Babesia bovis* (syn. Argentina). Studies on the nature and specificity of protection. *Int J Parasitol* 9: 297 - 306.
- Mahoney, D. F., and Ross, D. R. 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Aust Vet J* 48: 292 - 298.

- Martínez-Ibáñez, F., Fragoso, S. H., Bladeras-Lemus, F., Herrera-Patiño, C., González-González, E., and Ortíz-Najera. 2006. Identificación taxonómica de garrapatas en muestras colectadas de ganado bovino procedentes del estado de Tamaulipas durante los años 2003, 2004 y 2005. *Entomología Mexicana* 1: 9 - 83.
- Mathison, B. A., and Pritt, B. S. 2014. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clin Microbiol Rev* 27: 48.
- Melhorn, H., and Schein, E. 1984. The piroplasms. Life cycle and sexual stages. *Adv Parasitol* 23: 37- 103.
- Miller, R. J., C. Almazan, M. Estrada, R. Davey, J. George, and A. Prerez. 2013. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol* 19: 97- 101.
- Moissant de Roman, E., Klobe, R., and Manzanilla, J. 2002. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) en los estados de Aragua y Cojeda, Venezuela]. *Científica* 12: 94- 96.
- Mosqueda, J., Olvera-Ramirez, A., Aguilar-Tipacamu, G., and Canto, G. J. 2012. Current advances in detection and treatment of babesiosis *Curr Med Chem* 19: 1504 - 1518.
- Munderloh, U. G., Herron, M. J., Palmer, A. T., Kurtti, T. J., Nelson, R. D., and Goodman, J. L. 2004. Infection of endothelial cell lines with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum*. *Vet Microbiol* 101: 53 - 64.
- Nava, S., Beati, L., Labruna, M. B., Caceres, A. G., Mangold, A. J., and Guglielmone, A. A. 2014. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. Sp., *Amblyomma interandinum* n. Sp. And *Amblyomma patinoi* n. Sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum*, and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). *Ticks Tick Borne Dis* 5: 252 - 276.
- OIE. 2016. Bovine anaplasmosis Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. Rome, Italy.
- Oliveira, K. A., Pinter, A., Medina-Sánchez, A., Boppana, V. D., Wikel, S. K., and Saito, T. B. 2010. *Amblyomma imitator* ticks as vectors of *Rickettsia Rickettsi*, Mexico. *Emergent Infectious Diseases* 16: 1282 - 1284.
- Peel, D. S., Mathews, K. H., and Johnson, R. J. 2011. Trade, the expanding mexican beef industry, and feedlot and stoker cattle production in Mexico USDA-Economic Research Service. USDA-Economic Research Service.
- Perez-Cogollo, L., Rodríguez-Vivas, R. I., Ramirez, G. T., and Miller, R. J. 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol* 168: 165 - 169.
- Pérez de León, A. A., Rodríguez-Vivas, R. I., Guerrero, F. D., García, V. Z., Temeyer, K. B., Domínguez, G. D. I., Soberanes-Céspedes, N., Miller, R. J., and Rosario-Cruz, R. 2013. Resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los acaricidas: Impacto en la bioseguridad agropecuaria y comercio de ganado bovino entre México y los Estados Unidos de América. In: *Proceedings of III simposio internacional de resistencia a los pesticidas en artrópodos, Ixtapa, Zih., México*

- Pérez de León, A. A., Teel, P. D., Li, A., Ponnusamy, L., and Roe, R. M. 2014a. Advancing integrated tick management to mitigate burden of tick-borne diseases. *Outlooks Pest Manag* 25: 382 - 389.
- Pérez de León, A. A., Vannier, E., Almazan, C., and Krause, P. J. 2014b. Tick-borne protozoa. In: Sonenshine, D. E. and Roe, R. M. (eds.) *Biology of ticks* No. 2. Oxford University Press, N.Y.
- Pound, J. M., George, J. E., Kammlah, D. M., Lohmeyer, K. H., and Davey, R. B. 2010. Evidence for role of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*: Cervidae) in epizootiology of cattle ticks and southern cattle ticks (*Ixodes*: Ixodidae) in reinfestations along the Texas/Mexico border in south Texas: A review and update. *J Econ Entomol* 103: 211- 218.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., and Klein, D. A. 2003. *Microbiología*. 4 ed. McGraw-Hill, Madrid.
- Quijada, T., Jiménez, M., Marchán, B., and Araque, C. 2006. Population behavior of ticks *Amblyomma cajennense* (acarina: Ixodidae) according season and farm management ticks shower baths on dual purpose cattle at las Yeguas Lara State, Venezuela. *Veterinaria Topical* 29: 8 - 22.
- Quiroz-Castañeda, R. E., Amaro-Estrada, I., and Rodríguez-Camarillo, S. D. 2005. *Anaplasma marginale*: Diversity, virulence, and vaccine landscape through a genomics approach. *Biomed Res Int* 9032085.
- Quiroz, R. H. 1990. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. 4 ed. Limusa, México, D.F.
- Riek, R. F. 1964. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust J Agric Res* 15: 802 - 821.
- Rivera-Páez, F., Labruna, M. B., Martins, T. F., Rodrigues, S. B., and Camargo Mathias, M. I. 2016. *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): First record confirmation in Colombia using morphological and molecular analyses. *Ticks Tick Borne Dis* 7: 842 - 848.
- Robinson, T. P., Wint, G. R., Conchedda, G., Van Boeckel, T. P., Ercoli, V., Palamara, E., Cinardi, G., D'Aiotti, L., Hay, S. I., and Gilbert, M. 2014. Mapping the global distribution of livestock. *PLoS One* 29, 9.
- Rodríguez-Vivas, R. I., M. A. Alonso-Díaz, R.-A. F., and G. Aguilar-Tipacamú. 2005. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodídeos en el sureste de México folleto técnico no. 1. In: Conacyt-Sagarpa-2002-C01-1754 (ed.), México.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Apanaskevich, D. A., Ojeda-Chi, M. M., Trinidad-Martínez, I., Reyes-Novelo, E., Esteve-Gassent, M. D., and Pérez de León, A. A. 2016. Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. *Vet Parasitol* 15: 106- 113.
- Rodríguez-Vivas, R. I., and Domínguez-Alpizar, J. L. 1998. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. *Revista Bio* 9: 26 - 37.
- Rodríguez-Vivas, R. I., M. M. Ojeda-Chi, J. A. Rosario-Aguilar, I. C. Trinidad-Martínez, J. F. Torres-Acosta, V. Ticante-Pérez, J. M. Castro-Marín, C. A. Tapia-Moo, and G. Vázquez-Gómez. 2013. Red deer (*Cervus elaphus*) as a host for the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in Yucatan, Mexico. *Exp Appl Acarol* 60: 543- 552.

- Rodríguez, C. S. D., García, O. M. A., Rojas, R. E. E., Canto, G. J., Preciado, D. J. F., Rosario-Cruz, R., Ramos, A. J. A., and Aboytes, T. R. 2008. *Anaplasma marginale* Yucatan (Mexico) strain. Assessment of low virulence and potencial use as a live vaccine. *Ann N Y Acad Sci* 1149: 98 - 102.
- Rodríguez, S. D., García-Ortíz, M. A., Jiménez-Ocampo, R. J., and Vega, M. C. A. 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect Genet Evol* 9: 1092- 1101.
- Rosario-Cruz, R., Almazan, C., Miller, R. J., Dominguez-Garcia, D. I., Hernandez-Ortiz, R., and de la Fuente, J. 2009. Genetic basis and impact of tick acaricide resistance. *Front Biosc* 14: 2657- 2665.
- Samish, M., Pipano, E., and Hadani, A. 1993. Intrastadial and interstadial transmission of *Anaplasma marginale* by *Boophilus annulatus* ticks in cattle. *Am J Vet Res* 54: 411 - 414.
- Santamaría, M., Soberanes, N., Ortíz, H., and Fragoso, S. H. 1999. Análisis de la situación actual mediante el monitoreo de susceptibilidad a ixodidas en *Boophilus microplus* de 1993 a 1999 y medidas preventivas para retardar la resistencia al amitraz en México. In: IV Seminario Internacional de Parasitología Animal. Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que transmiten, Puerto Vallarta, Jalisco, México.
- Scoles, G. A., Broce, A. B., Lysyk, T. J., and Palmer, G. H. 2005. Relative efficiency of biological transmission of *Anaplasma marginale* (rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) compared with mechanical transmission by *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *J Med Entomol* 42: 668 - 675.
- Senasica-SAGARPA. 2012. Acuerdo por el cual se establece la campaña nacional contra la garrapata *Boophilus* spp. In: CENAPA (ed.). Diario Oficial de la Federación, México, DF.
- Siap-SAGARPA. 2016. Inventario ganadero. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Soberanes, N., Santamaría, M., Fragoso, S. H., and García, Z. 2002. Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Tec Pecu Mex* 40: 81 - 92.
- Sojka, D., Franta, Z., Horn, M., and Caffrey, C. R. 2013. New insights into the machinery of blood digestion by ticks. *Trends Parasitol* 29: 276- 285.
- Solorio, J. L., and Rodríguez-Vivas, R. I. 1997. Epidemiología de la babesiosis bovina i. Componentes epidemiológicos. *Rev Biomed* 8: 37 - 47.
- Sonenshine, D. E., and Michael, R. R. 2014. *Biology of ticks*. 2 ed. Oxford University Press, New York, United States of America.
- Soulsby, E. J. L. 1992. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. 7a ed. Interamericana, México, DF.
- Stone, B. 1972. The genetics of resistance by ticks to acaricides. *Aust Vet J* 48: 345 - 350.
- Torioni de Echaide, S., Knowles, D. P., McGuire, T. C., Palmer, G. H., Suarez, C. E., and McElwain, T. F. 2001. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested pcr and a

- competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5. *J Clin Microbiol* 39: 1207.
- Weiss, B. L., and Kaufman, W. R. 2001. The relationship between 'critical weight' and 20-hydroxyecdysone in the female ixodid tick, *Amblyomma hebraeum*. *J Insect Physiol* 47: 1261-1267.
- Weiss, B. L., and Kaufman, W. R. 2004. Two feeding-induced proteins from the male gonad trigger engorgement of the female tick *Amblyomma hebraeum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 5874-5879.
- Weiss, B. L., Stepczynski, J. M., Wong, P., and Kaufman, W. R. 2002. Identification and characterization of genes differentially expressed in the testis/vas deferens of the fed male tick, *Amblyomma hebraeum*. *Insect Biochem Mol Biol* 32: 785-793.
- Woodham, C. B., González-Origel, A., López-León, A., and Guereña-Morales, R. 1983. Progress in the eradication of *Boophilus* ticks in Mexico 1960- 80. *World Animal Review* 48: 18 - 24.

## VIII. APÉNDICE

### Prueba de paquete de larvas

#### Fundamento

Esta prueba fue descrita por Stone y Haydock (1962) y posteriormente modificada por la FAO (1971), se usa ampliamente para la caracterización de cepas, detección y estudio de fenómenos de resistencia a los ixodicidas en garrapatas y se reconoce de manera internacional debido a su gran utilidad práctica. Esta prueba consiste en la exposición de larvas de garrapatas *Rhipicephalus* de 7 a 15 días de edad en papeles filtro impregnados con una dosis discriminante (DD) o distintas concentraciones de algún químico (Organofosforados y Piretroides), con el objeto de obtener porcentajes de mortalidad del orden de 0 a 100 (Santamaría y Soberanes, 2001).

#### Materiales

Para la realización de ésta prueba se requiere de los siguientes materiales:

- Ixodicidas (garrapaticidas) de las siguientes familias: Organofosforados (clorfenvinfos, clorpirifos coumafos, diazinon) y Piretroides sintéticos (cipermetrina, flumetrina, deltametrina, ciflutrina, cialotrina) en grado técnico.
- Papel filtro tipo Whatman del No. 1 con dimensiones de 7.5 cm de largo x 8.5 cm de ancho.
- Tricloroetileno (Tc) como diluyente (cancerígeno y volátil, se recomienda manejar con precaución).
- Aceite de oliva (AO) como fijador.
- Área ventilada o con campana de extracción.
- Larvas de garrapatas *Rhipicephalus* de 7-14 días de edad.
- Micropipetas y puntillas de 2-20  $\mu\text{l}$ , 20-200  $\mu\text{l}$  y 100-1000  $\mu\text{l}$ .

- Lápiz.
- Papel aluminio.
- Vasos de precipitado de 100 ml.
- Agarra papeles tipo Bulldog del No. 200.
- Jeringas de 1 ml.
- Guantes de látex.
- Respirador facial de media cara con cartuchos y filtros contra pesticidas.
- Pinceles del No. 4.

#### Procedimiento

Preparación de rectángulos de papel filtro. Para esta prueba se utilizan rectángulos de 8.5 cm de ancho por 7.5 cm de largo de papel filtro. Los rectángulos de papel filtro se doblan a la mitad a modo de que formen un sobre y con la ayuda de los agarra papeles se cierran los espacios laterales, quedando sólo el espacio superior para permitir el llenado con las larvas de *Rhipicephalus*; estos paquetes deben ser identificados con lápiz con el nombre del rancho, nombre del producto químico y el número de repetición.

Preparación de diluciones. Para la realización de esta prueba se utilizan las DD de cipermetrina (0.05%), flumetrina (0.01%), deltametrina (0.09%), coumafos (0.2%), clorpirifos (0.5%), clorfenvinfos (0.2%) y diazinon (0.8%), (FAO, 1984; Mendes et al., 2011) para detección de resistencia en Piretroides y Organofosforados, con tres repeticiones por cada dilución incluyendo tres controles por población de garrapata a evaluar. Como diluyente para todos los productos químicos se usa el Tc, y el AO se utiliza como fijador en una proporción de 2:1, respectivamente. Con estos solventes lo primero que debe hacerse es una solución madre derivada de la sustancia grado técnico, es decir, diluirla a una concentración

menor (puede ser de 1-10%) con la cual podemos manejarla y preparar las DD o concentraciones más bajas de cada ixodicida. Posterior a la preparación de la solución madre se prepara una solución control. Ejemplo: si se quiere diagnosticar resistencia a un solo ixodicida, se requiere preparar al menos 6 ml de Tc y AO (tomando en cuenta que son tres sobres para controles y tres para tratados), para esto se toman 4 ml del Tc y 2 ml del AO para obtener la proporción 2:1 de la solución control. En el vaso de precipitado de la solución control se recomienda verter primero el AO y considerar 1 ml (solución control) por papelito debido a la evaporación del Tc. Con base en el número de ixodicidas o concentraciones que se quieran probar será el volumen a considerar de la solución control. Posteriormente se preparan las DD de acuerdo al (los) ixodicida (s) que se vaya (n) a evaluar. Todas las diluciones que sean preparadas en los vasos de precipitado deben ser tapadas con papel aluminio para evitar la evaporación rápida.

#### Prueba de inmersión de larvas modificada (ivermectina)

##### Fundamento

Esta prueba fue descrita por Shaw (1966) y modificada por Klafke et al.,(2006). Consiste en la inmersión en viales eppendorf (1.5 ml) de larvas de 14 a 21 días de edad en diluciones de ivermectina (grado técnico), durante un período de 10 minutos, posteriormente se retiran y se colocan en sobres de papel filtro, incubándose a 27 +2oC con humedad ambiental del 80-90%. La lectura de los resultados se realiza 24 h posterior al tratamiento. Esta prueba fue diseñada para obtener porcentajes de mortalidad a diferentes diluciones y con ello poder determinar el grado de susceptibilidad o resistencia al analizar los resultados con la metodología Probit y obtener los IR con base en las CL50 y CL99 de la cepa evaluada con respecto a la cepa de referencia.

##### Materiales

Para la realización de ésta prueba se requiere de los siguientes materiales:

- Ivermectina grado técnico 100% (Sigma-Aldrich, USA®).

- Triton X-100.
- Etanol puro.
- Papel filtro poro fino con dimensiones de 7.5 cm de largo x 8.5 cm de ancho para los sobres.
- 12 tubos de ensayo de 15 ml con tapa.
- Gradilla.
- Vortex.
- Micropipetas y puntillas de 2-20  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l y 100-1000  $\mu$ l.
- 12 tubos eppendorf de 1.5 ml.
- Larvas de garrapatas *Rhipicephalus* de 14-21 días de edad.
- Agua destilada o purificada.
- Agarra papeles tipo Bulldog del No. 200.
- Lápiz y plumones.
- Pinceles del No. 4.

#### Procedimiento

Preparación de rectángulos de papel filtro. Se preparan de la misma manera como se menciona en la prueba de inmersión de larvas.

Preparación de diluciones. Se preparan las siguientes diluciones: (i) 5 ml de una solución al 2% de Tritón X-100 en etanol absoluto (ET-TX2%).

Ejemplo: 0.1 ml de Tritón X-100 en 4.9 ml de etanol absoluto (conservar máximo una semana a 4°C), (ii) en un vial de 1.5 ml, se prepara 1 ml de solución al 1% de IMM en etanol absoluto (conservar máximo una semana a 4°C). En caso de ser necesario, hacer corrección por el grado de pureza de la IMM liofilizada. Ejemplo: para 100% de pureza, si se pesaran 0.0100 g de IMM, éstos se deben disolver en

1.0 ml de etanol-100%, (iii) En un vaso de precipitado preparar 100 ml de una solución al 1% de ET-TX2% en agua destilada. Ejemplo: disolver 1 ml de Et-TX2% (paso 1) en 99 ml de agua destilada (conservar máximo una semana a 4°C). Esta solución se usará como diluyente para la IVM previamente diluida en etanol, (iv) en un tubo de ensayo (15 ml), preparar 10 ml de la dosis máxima, la cual es IVM al 0.01% (o 100 ppm).

Ejemplo: Agregar 0.1 ml de la solución previa de IVM (paso 2) a 9.9 ml del diluyente obtenido en el paso 3, (v) realizar diluciones seriadas al 30% a partir de la dosis máxima (0.01%) obtenida en el paso 4 hasta 0.00028%. Ejemplo: primero agregue en 11 tubos de ensayo 3 ml de diluyente (paso 3). Las diluciones se hacen tomando 7 ml de un tubo, los cuales se agregan al tubo inmediatamente posterior, se homogeniza (con el vortex), y se sacan otros 7 ml que pasarán al siguiente tubo y así sucesivamente, de tal manera que en cada tubo deben quedar un remanente de 3 ml (Figura 12.19). El diluyente se usará para los controles, (vi) con una micropipeta, transferir 0.750 ml de cada solución a los viales de 1.5 ml.

Inmersión de larvas. En cada vial, con la ayuda de un pincel, se pondrán unas 500 larvas aproximadamente para cada concentración, comenzando desde los controles hasta la concentración máxima. Se dejan las larvas por 10 minutos teniendo la precaución que permanezcan sumergidas para evitar el escape de las larvas.

Llenado de paquetes. Después de los 10 minutos se elimina parte del líquido con cuidado de no dejar caer las larvas y se transfiere, con un pincel del No. 4, aproximadamente 100 larvas a los sobres formados con papel filtro y agarra papeles tipo Bulldog del No. 200. Se incuban las larvas por 24 h a 27 +2°C y 80-90% de humedad relativa en una incubadora.

Lectura de resultados. Las larvas vivas y muertas deben ser contadas a las 24 h. solo aquellas larvas capaces de caminar se considerarán vivas. Aquellas larvas que solo mueven las patas pero no se desplazan se consideran muertas. Con

estos datos se obtendrán las mortalidades de acuerdo a las fórmulas mencionadas anteriormente.

#### Interpretación de resultados

Para la interpretación de resultados con respecto a la IM se requiere obtener los índices de resistencia al 50 y 99% de las garrapatas de cada rancho. Para ello se utiliza una cepa de referencia susceptible a este antihelmíntico. Sin embargo, hasta ahora a nivel nacional no contamos con una cepa de referencia, por lo cual se utilizan los datos de CL50 y CL99 de la cepa Deutch (USDA, Cattle Fever Tick Research Laboratory, TX, USA) (Pérez- Cogollo et al., 2010; Fernández-Salas et al., 2012). Se consideran resistentes las poblaciones de garrapatas con CL50 y CL99 mayores que aquellas de la cepa susceptible de referencia. La diferencia será considerada estadísticamente significativa cuando el límite inferior de los intervalos de confianza del 95% (IC95%) de la población bajo estudio sea mayor que el límite superior de los IC95% de la cepa susceptible de referencia, es decir que sus IC95% no se traslapen. Para la determinación de susceptibilidad y resistencia de *Rhipicephalus* se utiliza la clasificación de Castro-Janer et al. (2011).

El  $IR_{50} \leq 1$ : susceptible;  $IR_{50} > 1$  a  $< 2$  resistencia incipiente;  $IR_{50} > 2$  resistente.