

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**ESTADO DE LA RESISTENCIA A IVERMECTINA EN *Rhipicephalus microplus* Y FACTORES ASOCIADOS EN EL NORESTE DE MÉXICO**

**PRESENTA**

**SAMANTHA ABIGAIL MORENO LINARES**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**OCTUBRE 2023**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“Estado de la resistencia a ivermectina en *Rhipicephalus microplus* y factores asociados en el noreste de México”.**

**POR**

**L.B.G. SAMANTHA ABIGAIL MORENO LINARES**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIA ANIMAL**

**GENERAL ESCOBEDO, N.L., 20 DE OCTUBRE DE 2023.**

**“Estado de la resistencia a ivermectina en *Rhipicephalus microplus* y factores asociados en el noreste de México”.**

Aprobación de tesis por el comité particular de:

*Samantha Abigail Moreno Linares*

**COMITÉ DE TESIS**



---

Dr. José Pablo Villarreal Villarreal.  
Presidente.



---

Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño.  
Secretario.



---

Dra. Heidi Giselle Rodríguez Ramírez.  
Vocal.

**"Estado de la resistencia a ivermectina en *Rhipicephalus microplus* y factores asociados en el noreste de México"**

Aprobación de tesis por el comité particular de:

*Samantha Abigail Moreno Linares.*



---

Dr. José Pablo Villarreal Villarreal.  
Director.



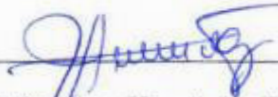
---

M.C. Romario García Ponce.  
Codirector externo.



---

Dra. Heidi Giselle Rodríguez Ramírez.  
Codirectora interna.



---

Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño.  
Codirector interno.



---

Dr. Uziel Castillo Velázquez.  
Subdirector de Posgrado e Investigación.

## **AGRADECIMIENTOS**

De corazón, deseo expresar todo mi agradecimiento a las siguientes instituciones y personas que me ayudaron en la realización del presente trabajo:

Primeramente, al CONACYT y al PAICYT, gracias por el recurso económico para mi manutención y el desarrollo proyecto. También al Posgrado Conjunto Agronomía- Veterinaria y a todos los docentes que contribuyeron con mi enseñanza.

A mi asesor principal: el Dr. Pablo, por apoyarme y estar pendiente del desarrollo de la investigación y a Nelly, por ayudarnos en las cuestiones prácticas. Al Dr. Jaime, por su disposición y apertura; a la Dra. Heidi por todo el apoyo, ayuda y orientación. También, al M.C. Romario García Ponce, por capacitarme en el desarrollo del trabajo y brindarme poblaciones de garrapata.

A los integrantes de los Laboratorios de Genética y el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, a mis compañeros de servicio social y otros tesistas.

Especialmente a mi familia y amigos: Alexis y Rafael. En fin, gracias a todas las personas que me acompañaron a lo largo del camino.

## DEDICATORIA

A todos los que han estado a mi lado para apoyarme, fortalecerme y formarme como la persona que soy. Primeramente, a mis padres: José y Doris, por amarme, cuidarme, respetar mis decisiones y creer en mí. Al amor de mi vida, por ser mi compañera de retos y aventuras, por motivarme a tomar este riesgo, gracias por estar a mi lado. Son mi motor y mi luz.

A mi hermana Jackeline y a mis sobrinos Mauricio, Santiago y Ethan, por estar presentes, amarme, hacerme reír y disfrutar de la vida con sus ocurrencias. A mis tíos y mis primos más cercanos que siempre me han apoyado y creído en mí. A mi nueva familia política gracias por aceptarme y quererme.

Principalmente, dedico este trabajo a mi ángel del cielo, mi hermano Víctor, sé que estás orgulloso de mí, gracias por todas las enseñanzas y amor que me diste, siempre serás mi ángel guardián y mi amuleto hacia el éxito, contigo a mi lado, nunca me siento sola, te amo y te extraño.

*- Definirse es limitarse.*

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	2
2.1.Generalidades de las garrapatas.....	2
2.2. <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	2
2.2.1. Taxonomía.....	3
2.2.2. Morfología.....	3
2.2.3. Ciclo biológico .....	5
2.2.4. Efectos en la ganadería .....	7
2.2.5. Distribución geográfica y prevalencia en México.....	7
2.3. Ixodicidas .....	9
2.3.1. Resistencia a ixodicidas.....	10
2.3.2. Factores de riesgo asociados a resistencia.....	12
2.4. Lactonas macrocíclicas (LM).....	12
2.4.1. Ivermectina.....	13
2.4.1.1. Mecanismo de acción .....	13
2.4.1.2. Farmacocinética.....	14
2.4.1.3. Formas farmacéuticas y vías de administración .....	14
2.4.1.4. Metabolismo y excreción .....	14
2.4.1.5. Toxicidad.....	15
2.4.1.6. Resistencia en <i>R. microplus</i> .....	15
2.4.1.7 Prueba para detectar resistencia a IVM (Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM).....	16
<b>3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	17
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	18

<b>5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	18
<b>5.1. OBJETIVO GENERAL</b> .....	18
<b>5.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	18
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	19
6.1. Lugar de procesamiento de muestras.....	19
6.2. Área de estudio y tiempo de muestreo.....	19
<b>6.3. METODOLOGÍA</b> .....	20
6.3.1. Tamaño de muestra. ....	20
6.3.2. Colecta de garrapatas. ....	20
6.3.3. Identificación de especímenes.....	21
6.3.4. Preparación y establecimiento de las poblaciones de estudio.....	21
6.3.5. Preparación de soluciones .....	22
6.3.6. Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM .....	23
6.3.7. Análisis PROBIT (análisis dosis-respuesta) .....	23
6.3.8. Cuestionario epidemiológico.....	24
<b>7. RESULTADOS</b> .....	26
7.1. Lugar de colecta de las poblaciones.....	26
7.2. Análisis PROBIT y razón de resistencia por ranchos muestreados .....	27
7.3. Factores de riesgo asociados a poblaciones resistentes .....	30
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	33
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	43
<b>10. PERSPECTIVA</b> .....	44
<b>11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología general de <i>R. microplus</i> en su fase adulta bajo microscopio electrónico, en la parte superior se observa al macho y en la parte inferior la hembra, de vista dorsal y ventral. Tomado y modificado de Nava et al., 2019.....	4
<b>Figura 2.</b> Ciclo biológico de <i>R. microplus</i> , tomado de Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022.....	5
<b>Figura 3.</b> Zonas de fijación de <i>R. microplus</i> , tomado de Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022.....	6
<b>Figura 4.</b> Distribución geográfica de la garrapata <i>R. microplus</i> en México (SENASICA, 2015). .....	7
<b>Figura 5.</b> Situación actual de la campaña para el control de <i>R. microplus</i> en México (SENASICA, 2023). .....	8
<b>Figura 6.</b> Ubicación geográfica de los estados pertenecientes a la región noreste de México, donde se colectaron las poblaciones de <i>R. microplus</i> . .....	19
<b>Figura 7.</b> Colecta de <i>R. microplus</i> en las zonas corporales del bovino con mayor infestación. ....	20
<b>Figura 8.</b> Identificación taxonómica de <i>R. microplus</i> . A) Morfología dorsoventral de hembra ingurgitada perteneciente a la especie. B) Observación morfológica para identificación de especímenes utilizando un estereoscopio. ....	21
<b>Figura 9.</b> Grupo de 10 teleóginas, pegadas de manera dorsoventral.....	22
<b>Figura 10.</b> Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM. A) Soluciones seriadas de IVM al 30 %. B) Realización de la PIL por triplicado.....	23

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de <i>R. microplus</i> (Paikade, 2019).....	3
<b>Tabla 2.</b> Análisis recientes de resistencia a IVM en <i>R. microplus</i> realizados en Sudamérica.....	16
<b>Tabla 3.</b> Variables utilizadas en el cuestionario epidemiológico para determinar los posibles factores de riesgo asociados a poblaciones resistentes. ....	24
<b>Tabla 4.</b> Localización geográfica de cada población de <i>R. microplus</i> colectada en la región noreste de México. ....	26
<b>Tabla 5.</b> Análisis de dosis-respuesta a IVM en poblaciones de <i>R. microplus</i> , concentración letal al 50 % y 99 % y razón de resistencia 50 y 99 (RR <sub>50</sub> y RR <sub>99</sub> ).....	27
<b>Tabla 6.</b> Estado de la resistencia y/o susceptibilidad de las 20 poblaciones de <i>R. microplus</i> , pertenecientes al noreste de México expresado en porcentajes. ....	28
<b>Tabla 7.</b> Análisis de frecuencias de las variables independientes de exposición como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia a IVM por <i>R. microplus</i> .....	31
<b>Tabla 8.</b> Análisis de regresión logística binomial en variables significativas como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia de <i>R. microplus</i> a la IVM.....	32

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Estado de la resistencia y/o susceptibilidad de las poblaciones de <i>R. microplus</i> , por estado de la región noreste de México expresado en porcentajes.....	29
--	----

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

**μm:** micrómetro

**n:** tamaño muestral

**%:** Símbolo de porcentaje

**° C:** Grados centígrados

**° N:** Grados norte

**° S:** Grados sur

**±:** Símbolo de más menos

**>:** Símbolo mayor que

**<:** Símbolo menor que

**≥:** Símbolo mayor igual que

**≤:** Símbolo menor igual que

**AChE:** Acetilcolinesterasa

**Am:** Amidina

**Cl<sup>-</sup>:** Ion cloruro

**CL<sub>50</sub>:** Concentración letal 50 %

**CL<sub>99</sub>:** Concentración letal 99 %

**cm:** Centímetro

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono

**DDT:** diclorodifeniltricloroetano

**E.E. UU.:** Estados Unidos de América

**ET-TX2 %:** Etanol- Tritón X-100 2 %

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

**F.M.V.Z:** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**GABA:** Ácido aminobutírico

**GlyR:** Receptor de glicina

**H:** horas

**IVM:** Ivermectina

**IVM-LA:** Ivermectina de larga acción

**kDa:** Kilodaltones  
**km<sup>2</sup>:** Kilómetros cuadrados  
**kg:** Kilogramo  
**LC 95 %:** Límite de confianza 95 %  
**LM:** Lactonas macrocíclicas  
**LMI:** Laboratorio Multidisciplinario de Investigación  
**mg/kg:** Miligramos por kilogramo  
**ml:** Mililitros  
**mm:** Milímetros  
**nAChR:** Receptor de acetilcolina nicotínico  $\alpha 7$   
**ng/L:** Nanogramos por litro  
**N.L.:** Nuevo León  
**OP:** Organofosforados  
**OR:** *Odd ratio* o razón de momios  
**p:** valor de p  
**PIL:** Prueba de Inmersión de Larvas  
**ppm:** Partes por millón  
**PROBIT:** Análisis probit (probabilidad + unidad)  
**PS:** Piretroides sintéticos  
**PT:** Post- tratamiento  
**R:** Resistente o resistencia  
***R. microplus:*** *Rhipicephalus microplus*  
**RC:** Reguladores del crecimiento  
**RI:** Resistencia incipiente  
**RR:** Razón de resistencia  
**RR<sub>50</sub>:** Razón de resistencia 50  
**RR<sub>99</sub>:** Razón de resistencia 99  
**S:** Susceptible  
**S.E:** Desviación estándar  
**SENASICA:** Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria  
**S.L.P:** San Luis Potosí

**SNC:** Sistema Nervioso Central

**Spp.:** Especie

**Tamps:** Tamaulipas

**TBDs:** Del inglés, enfermedades transmitidas por garrapatas

**TM:** Dominio Transmembrana

**TX:** Texas

**U.A.N.L:** Universidad Autónoma de Nuevo León

**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, *en inglés*

**Ver:** Veracruz

**XXI:** Veintiuno.

## RESUMEN

*Rhipicephalus microplus*, es la especie parasitaria que más daño genera a la ganadería mexicana y mundial debido a las pérdidas directas e indirectas que origina. Su distribución se comprende de regiones tropicales y subtropicales principalmente, desde el paralelo 32° N al paralelo 40° S. El 65.96 % de México se encuentra comprendido por regiones en control y zonas libres naturales. El principal método para el manejo y control de la garrapata es el uso de acaricidas químicos o ixodicidas como: organofosforados (OP), amidinas (Am), piretroides sintéticos (PS), reguladores del crecimiento (RC), fenilpirazolonas y lactonas macrocíclicas (LM). El incremento de la multirresistencia y la resistencia cruzada es una gran dificultad que enfrenta la ganadería. En la actualidad, son pocos los estudios que se tienen sobre la resistencia a LM en México, siendo escasos en el noreste del país. Debido a esto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el estado de la resistencia a ivermectina (IVM) en *R. microplus* en el noreste de México, además de determinar los factores de riesgo asociados. Para determinar el tamaño muestral, se aplicó un modelo simple al azar, en donde se determinó una  $n=20$ , se colectaron de 20-30 hembras ingurgitadas pertenecientes a la especie por cada rancho del estudio y fueron incubadas en el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación de la F.M.V.Z para su oviposición y eclosión de las larvas. Una vez obtenidas larvas infestantes, se realizó la Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM. Los datos de mortalidad se sometieron a un análisis PROBIT en donde se estimaron las concentraciones letales (CL) del 50 % y 99 % con sus respectivos límites de confianza del 95 % (LC95%). Además, un cuestionario epidemiológico fue aplicado a los propietarios de los ranchos estudiados, con el fin de determinar los factores de riesgo asociados a la resistencia a IVM. Mediante el programa Epi Info V.7.2., se aplicó un análisis multivariado y tablas de contingencia de 2 x 2 para las variables de exposición con un intervalo de confianza del 95 %. La prueba de Exacto de Fisher fue utilizada para para estimar la significancia de cada asociación entre variables y aquellas con una  $p \leq 0.05$  se tomaron en cuenta para el modelo de regresión logística binomial.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos de gran importancia mundial, dado al daño que generan al ser vectores de organismos patógenos y al alimentarse. *Rhipicephalus microplus*, es la especie de mayor relevancia en la ganadería bovina, transmite hemoparásitos de los géneros *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp., aunado a esto, originan pérdidas económicas a nivel productivo de más de 573 millones de dólares en México (Alonso-Díaz et al., 2006; Rodríguez-Vivas et al., 2017a).

Dicha especie se encuentra dispersa por las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas de todos los continentes a excepción de Europa, comprendiendo desde el paralelo 32° N al paralelo 40° S (Estrada-Peña et al., 2006). La distribución geográfica de *R. microplus* en el país mexicano, está registrada por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), quien declara que el 30.60 % se encuentra libre de la garrapata, el 3.44 % está en erradicación y el 65.96 % se encuentra comprendido por zonas libres naturales y zonas en control (SENASICA, 2023).

Desde hace décadas se utilizan acaricidas o ixodicidas para el control de la especie *R. microplus*, tales como: los compuestos organofosforados, amidinas, piretroides sintéticos, reguladores del crecimiento, fenilpirazolonas y LM (Rodríguez-Vivas et al., 2022). En los últimos años, se ha detectado el incremento en la resistencia a estos compuestos, debido a factores como son: el uso indiscriminado, continuo y al factor operacional, lo que conlleva a factores de la especie para eludir a los ixodicidas. En México en el 2010, se detectaron por primera vez poblaciones de *R. microplus* resistentes a la IVM. En la actualidad son pocos los estudios que se tienen sobre la resistencia a LM en México, siendo escasos en el noreste del país.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Generalidades de las garrapatas.

Las garrapatas se dividen en tres familias principales de la clase Aracnida: Ixodidae o garrapatas duras, Argasidae o garrapatas blandas y Nuetalliellidae, esta última con características intermedias de ambas familias principales. Son de naturaleza hematófaga, es decir, consumen sangre de su hospedero para su alimentación y manutención de huevos (Rodríguez-Vivas, 2010), actúan como vectores de virus, bacterias y parásitos a humanos y animales, conocidas como enfermedades transmitidas por garrapatas (*TBDs*, en inglés) (Madison et al., 2020).

Mundialmente, se conocen 758 especies pertenecientes a la familia Ixodidae distribuidas en 17 géneros, de las cuales en México se encuentran 68 especies pertenecientes a cinco géneros (Pérez et al., 2014; Guglielmone et al., 2021). Dentro de esta, se encuentra el género *Rhipicephalus* spp., y la especie *microplus*, es considerada el principal ectoparásito que atañe contra las especies bovinas de importancia alrededor del mundo.

Factores antropogénicos como: el cambio de hábitat, los cambios climáticos, la movilización de animales, entre otros, desempeñan un gran rol en la aparición y propagación de las garrapatas y sus patógenos (Beugnet & Marie, 2009).

### 2.2. *Rhipicephalus microplus*.

*R. microplus* (anteriormente *Boophilus microplus*) (Barker & Murrell, 2004), pertenece a la familia Ixodidae y es conocida como la “garrapata del ganado” o “garrapata común del bovino”. Es un ectoparásito ligado a bovinos con una extensa distribución geográfica en regiones tropicales, subtropicales y semiáridas de todo el planeta, desde el paralelo 32° N al paralelo 40° S (Rodríguez-Vivas et al., 2022), aumentando su hábitat en años recientes.

Dicha especie es responsable de producir grandes pérdidas económicas debido a su impacto en la mortalidad, morbilidad y reducción de los niveles productivos, en los animales afectados. Además, causa un deterioro en la salud del animal y transmite patógenos como son: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*, con alto

impacto en la ganadería nacional (Rodríguez-Vivas et al., 2018; Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).

### 2.2.1. Taxonomía.

En la Tabla 1 se enlista la taxonomía de la especie *R. microplus*.

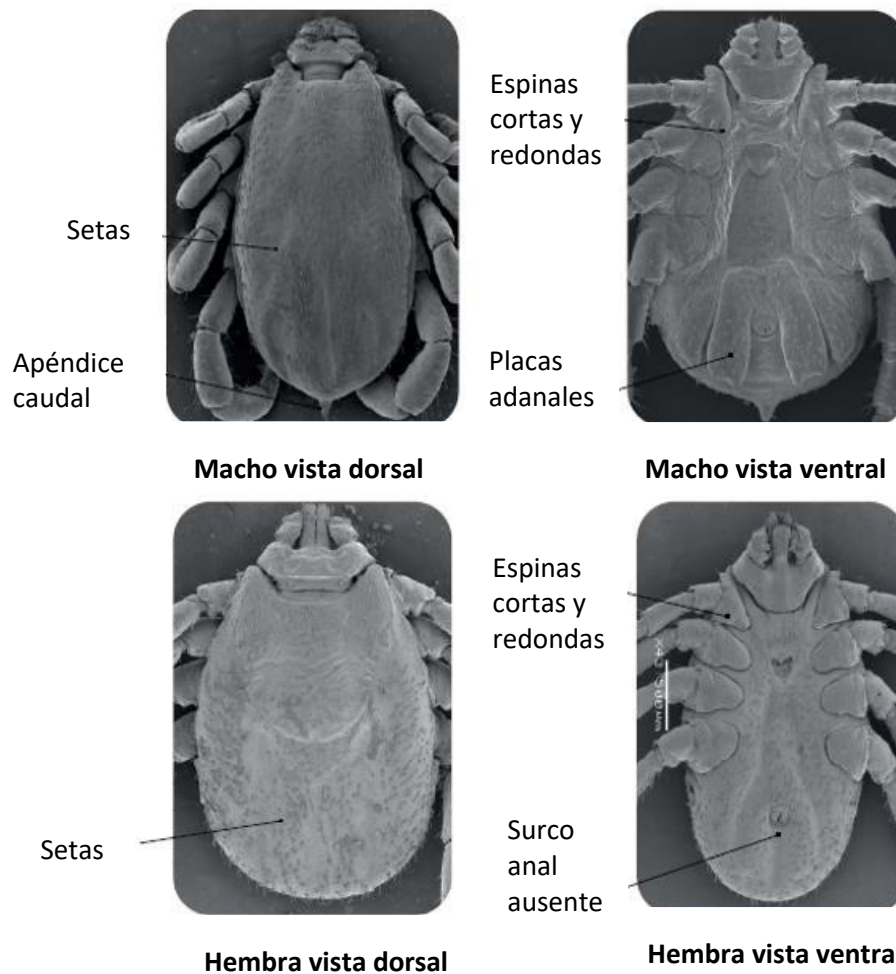
**Tabla 1.** Taxonomía de *R. microplus* (Paikade, 2019).

<b>Reino</b>	Animalia
<b>Filo</b>	Arthropoda
<b>Clase</b>	Aracnida
<b>Subclase</b>	Acari
<b>Orden</b>	Ixodida
<b>Familia</b>	Ixodidae
<b>Género</b>	<i>Rhipicephalus</i>
<b>Subgénero</b>	<i>Boophilus</i>
<b>Especie</b>	<i>microplus</i>

### 2.2.2. Morfología.

*R. microplus*, al igual que otras especies pertenecientes a la familia Ixodidae, presenta un escudo dorsal parcial en las hembras y completo en los machos. Presenta dimorfismo sexual, en donde el macho mide entre 1,400-1,650  $\mu\text{m}$  de largo x 900-1,200  $\mu\text{m}$  de ancho, mientras que en hembras las medidas van entre 1,800-2,000  $\mu\text{m}$  de largo x 1,200-1,300  $\mu\text{m}$  de ancho, en especímenes no alimentados. Los adultos poseen ocho patas (cuatro pares), mientras que las larvas seis patas (tres pares), además de hirsutas en el cuerpo (Roy et al., 2018).

En el gnatosoma, el hipostomio es más largo que los palpos y presenta quelíceros con 4 a 5 filas de dientes a cada lado, sobresaliendo hacia adelante, peritremas circulares, capitulum hexagonal, los espiráculos respiratorios son circulares y se presentan posterior a la coxa IV. Los machos tienen dos placas adanales largas que terminan en el apéndice caudal (Figura 1), el surco anal está ausente o es indistinto, no cuenta con festones ni ornamentación (Nava et al., 2019; CFSPH, 2022).



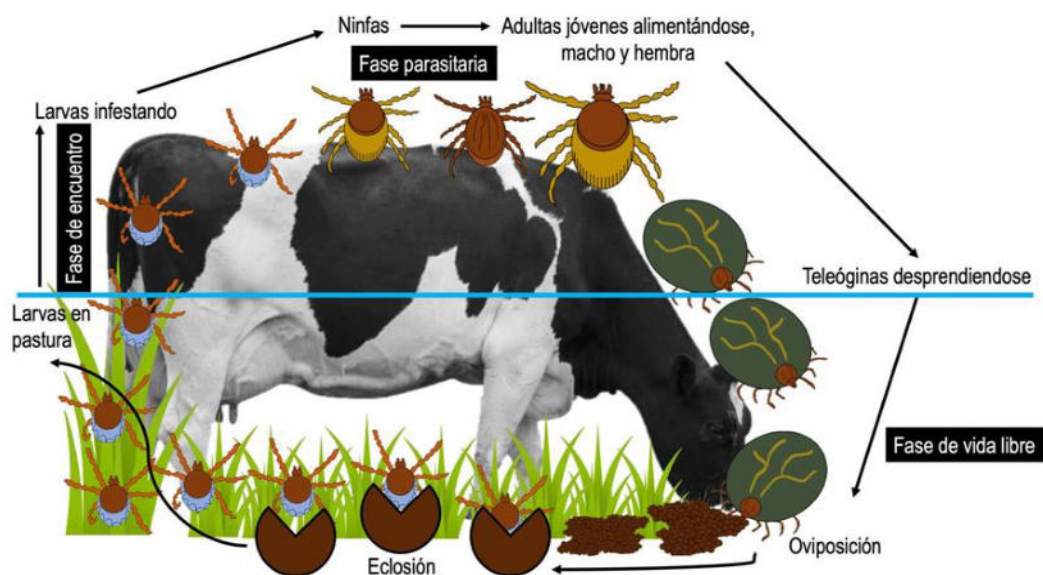
**Figura 1.** Morfología general de *R. microplus* en su fase adulta bajo microscopio electrónico, en la parte superior se observa al macho y en la parte inferior la hembra, de vista dorsal y ventral. Tomado y modificado de Nava et al., 2019.

### 2.2.3. Ciclo biológico.

El ciclo es monoxénico, es decir, completa su vida en un solo hospedero y se compone por tres estadios: larva, ninfa y adulto. A su vez, este ciclo se comprende de dos fases: la fase de vida libre y la fase parasitaria, ambas presentadas en la figura 2.

**a) Fase de vida libre o no parasitaria:** Comienza cuando la hembra ingurgitada de sangre (teleógina) cae del bovino hacia el suelo para buscar un lugar húmedo y fresco para ovopositar sus huevos, que tarda entre 2 a 39 días. Cada postura de huevos se calcula en alrededor de 2,500- 3,500 huevos en un periodo de 4 a 44 días (SENASA, 2020).

Una vez que los huevos han sido incubados (14 a 146 días), eclosionan y salen las larvas, que a su vez migran a la vegetación mediante el geotropismo negativo en busca de un hospedero. En el primer par de patas poseen glándulas sensoriales (órgano de Haller) y con ayuda de los palpos detectan gases como el CO<sub>2</sub>, el ácido láctico y el amoniac, se anclan a la piel apoyadas en su par de patas posteriores. Esta fase dura de 35-90 días, dependiendo de condiciones como la humedad y la temperatura (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016; Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).

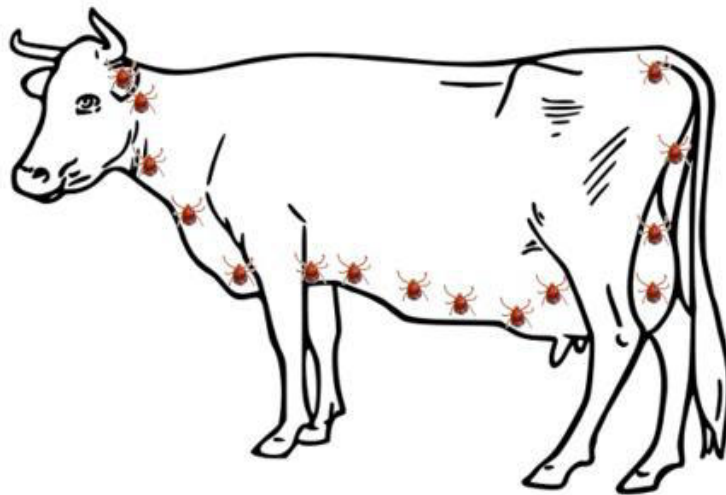


**Figura 2.** Ciclo biológico de *R. microplus*, tomado de Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022.

**b) Fase parasitaria:** Inicia cuando la larva ha infestado el bovino y comienza a alimentarse de suero durante 7 a 10 días, ya que corta la piel con ayuda de los quelíceros y entierran el hipostomio. Posteriormente, muda a ninfa que comienza a consumir sangre y se alimenta de entre 5 a 12 días preparándose para su siguiente muda. La ninfa una vez alimentada, muda a la fase adulta, donde se diferencia su dimorfismo sexual y ocurre la copulación aproximadamente en el día 17.

La hembra continúa ingurgitándose hasta el día 23 para mantener a sus huevos (Rodríguez-Vivas, 2005) y llega a ingerir entre 1-3 ml de sangre después de la segunda ingurgitación, horas antes de la caída, también inyecta 0.5 ml de saliva, principal herramienta para evadir la respuesta inmunológica del huésped y transmitir patógenos (Daffner, 2023).

Las zonas más comunes de fijación de *R. microplus* son por lo general lugares frescos donde no impactan los rayos del Sol y piel fina: la base de la cola, el perineo, el área interna de los muslos, las ubres o testículos, el abdomen, la barbilla, axilas y pecho; el pabellón auricular y el cuello con menor frecuencia (Figura 3) (Pereira et al., 2008; Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).



**Figura 3.** Zonas de fijación de *R. microplus*, tomado de Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022.

#### 2.2.4. Efectos sobre la ganadería.

Los efectos negativos tanto directos como indirectos que *R. microplus* genera en el ganado, están relacionados con las pérdidas ligadas a la mortalidad, trastornos reproductivos, reducción de la producción, transmisión de patógenos y costos elevados (Rodríguez-Vivas, 2011).

La pérdida de peso de un animal infectado es de aproximadamente 0.26 kg garrapata/año, con una reducción de consumo de alimento al día de 4.37 kg. Todo esto, ocasiona pérdidas económicas de más de 573 millones de dólares al año (Rodríguez-Vivas et al., 2017a).

#### 2.2.5. Distribución geográfica y prevalencia en México.

En México, *R. microplus* abarca 1,043,772 km<sup>2</sup> que representan el 53 % del país. Se distribuye en regiones templadas, tropicales y semiáridas (SENASICA, 2015) (figura 4), las cuales cuentan con el clima y el microclima adecuado como: temperatura (28-30° C), fotoperiodo y humedad (80-90 %), mismas que posibilitan su supervivencia y desarrollo, induciendo cambios en las poblaciones y en su comportamiento. Además, la gran disponibilidad de hospederos y las malas prácticas operacionales influyen en la distribución y prevalencia (Quiroz-Romero et al., 2011; Pfäffle et al., 2013).



**Figura 4.** Distribución geográfica de la garrapata *R. microplus* en México (SENASICA, 2015).

Actualmente, el acuerdo de la Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus spp.*, (figura 5) se encuentra vigente, dado a que las condiciones agroecológicas del país no permiten la erradicación permanente de la garrapata, solo su control en términos de la NOM-019-ZOO-1994 (SENASICA, 2020).

La prevalencia de *R. microplus* en México está registrada por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), donde 599,367.84 km<sup>2</sup> del país se encuentra libre del ectoparásito (30.60 %) y se conforma por los estados de Aguascalientes, Sonora, Chihuahua, Tlaxcala, Baja California, y el Norte de Baja California Sur (SENASICA, 2023).

El 3.44 %, es decir, 67,472.76 km<sup>2</sup>, comprendido por el municipio de Los Cabos, el sur de Baja California Sur, el norte de Sinaloa y los municipios del desierto en Coahuila se encuentra en fase de erradicación (SENASICA, 2023). En el resto del país, se encuentran 1,292,407.02 km<sup>2</sup>, que incluyen regiones en control, erradicación y zonas naturales libres, representando el 65.96 % de México (figura 5).



**Figura 5.** Situación actual de la campaña para el control de *R. microplus* en México (SENASICA, 2023).

### 2.3. Ixodicidas.

El método principal utilizado en el control de la especie *R. microplus* es la utilización de ixodicidas sintéticos. En el pasado, para el control de este ectoparásito se usaban compuestos derivados del arsénico del cual se tiene registro de manipulación en ganado desde 1893, su uso duró aproximadamente 40 años hasta que se encontró resistencia y debido a los residuos que dejaban en carne y a la toxicidad se prohibió su uso (Desmond et al., 2021).

En 1946, Julius Hyman descubrió dos organoclorados a los cuales llamó Dieldrín y Aldrín, estos actuaban en la inhibición de la conducción del sodio causando un retraso en la repolarización de las células nerviosas (Quiroz-Romero et al., 2011).

En 1953, aparecen los organofosforados, que actúan inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa, una enzima que degrada la acetilcolina en el SNC. La acumulación de acetilcolina en las terminales nerviosas provoca una hiperestimulación de los receptores nicotínicos y muscarínicos, lo que conlleva a la parálisis e incluso a la muerte del insecto (Marrero et al., 2017).

A mediados de los años 70 surgen las amidinas, las cuales actúan al interferir en la fosforilación oxidativa, directamente hacia el receptor de la octopamina e inhibe la enzima monoaminoxidasa afectando la transmisión en las fibras nerviosas y el metabolismo de las catecolaminas; provoca hiperexcitabilidad, parálisis y la muerte (Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).

Puesto que los compuestos utilizados resultaban ineficientes dado a la resistencia que presentaban, en 1977 surgen los piretroides sintéticos (PS), cuyo mecanismo de acción se basa en la apertura de los canales de sodio de las neuronas y los músculos de los insectos, causando la hiperpolarización. Además, algunos piretroides sintéticos inhiben la actividad de la ATPasa. Entre los piretroides sintéticos más utilizados se encuentran la cipermetrina, deltametrina, flumetrina, permetrina y cialotrina debido a su eficacia y baja toxicidad para los mamíferos (Cycoń & Piotrowska-Seget, 2016; Marques et al., 2022).



En 1981 aparecen las lactonas macrocíclicas (LM), las cuales provienen de la fermentación producida por *Streptomyces avermitili*, presentan un mecanismo de acción, el cual actúa sobre los canales de cloruro dependiente del glutamato, generando un estado de parálisis flácida que conduce a la muerte (Ashour, 2019).

Años después en 1994, las fenilpirazolonas se empezaron a comercializar para el tratamiento de ectoparásitos como pulgas y garrapatas, estos tienen un mecanismo de acción en la biosíntesis de las porfirinas y el bloqueo del neurotransmisor GABA por medio de los canales de cloruro que dependen de glutamato (GluCl), el fipronil es el principal representante de esta familia (Cid et al., 2016).

Más recientemente, surge una nueva familia de compuestos que regulan el crecimiento y/o el desarrollo de insectos (IGRs) y artrópodos. Estos, a diferencia de sus antecesores, actúan en las etapas intermedias de la metamorfosis de la garrapata y cumplen su función al interferir en el metabolismo de la quitina y regular o inhibir hormonas involucradas en el crecimiento (Córtes-Vecino, 2018). Por lo general no tienen efecto contra los adultos, pero pueden interferir en la reproducción, la muda y la eclosión de los huevos (NPIC, 2020). Algunos ejemplos de los fármacos incluidos en esta clase son; las benzoilfenilureas, que incluye al; diflubenzuron, flufenoxuron, triflumuron y fluazuron (Correia, 2003), este último fue el primero en ser registrado y el más utilizado contra *R. microplus*.

Cabe destacar que en México son seis las familias aprobadas para su uso y comercialización en la ganadería bovina del país: organofosforados, amidinas, piretroides sintéticos, fenilpirazolonas, inhibidores del desarrollo y lactonas macrocíclicas.

### **2.3.1. Resistencia a ixodicidas.**

La resistencia por parte de *R. microplus* hacia los ixodicidas utilizados para su control, representa cada vez problemas más serios, principalmente económicos, ya que los costos que se generan con el uso continuo de diferentes fármacos que no surten efecto alguno, afecta de manera significativa a los ganaderos.

Dicho esto, la resistencia es definida como un aumento en la frecuencia de los individuos de una población que son menos susceptibles a soportar dosis de fármacos que anteriormente eran letales (FAO, 2012; SENASICA, 2020).

La resistencia a los ixodicidas se divide en dos tipos: resistencia conductual y resistencia fisiológica. En la primera de estas, se incluye a la resistencia del comportamiento y en la segunda, se incluye la resistencia a la penetración, resistencia metabólica y la insensibilidad del sitio de acción. Ambas coexisten en las infestaciones por garrapatas e insectos (Dang et al., 2017).

Los mecanismos de resistencia conductual y fisiológica son los siguientes:

- A) **Resistencia del comportamiento:** Es cuando el insecto no entra en contacto con el ixodicida dado a que modifica su conducta para evitarlo mediante un comportamiento de escape o bien se reduce la exposición al ixodicida (Dang et al., 2017).
- B) **Resistencia de la penetración:** Se presenta cuando existe una modificación de alguna característica morfológica del insecto, por ejemplo, del exoesqueleto o de la cutícula para retardar la penetración del ixodicida (Lilly et al., 2016).
- C) **Resistencia metabólica:** Es el mecanismo de detoxificación del ixodicida que modifica las rutas metabólicas de la especie. Los tipos más importantes y mayormente estudiados de resistencia metabólica involucran oxidasas multifuncionales, glutatión-S-transferasa, carboxilesterasas y esterasas, las cuales pueden degradar a los fármacos (Liu, 2015; Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).
- D) **Insensibilidad del sitio de acción:** Es la mutación genética del sitio de acción de los ixodicidas que disminuyen su sensibilidad química, es decir, el ixodicida no se une con sus receptores (Alonso-Díaz & Fernández-Salas, 2022).

Se han encontrado mutaciones genéticas en diferentes sitios de acción tales como: modificaciones en el locus del gen de los canales de sodio del ácido aminobutírico (GABA), AChEs, VGSC y del receptor de octopamina, los cuales, generalmente se encuentran asociados con el SNC. Los insectos resistentes continúan con la función neurológica normal aun estando en contacto con el fármaco (Dang et al., 2017).

Diversos autores encontraron un desarrollo exponencial en relación con la aparición de especímenes resistentes a los ixodicidas y la creación de estos, aumentando de manera acelerada y en periodos de tiempo más cortos (Alonso-Díaz et al., 2006). Debido a la presión de selección, prácticas erróneas de manejo, uso excesivo de productos y otros factores, el control químico se ha vuelto ineficaz apareciendo poblaciones resistentes, generándose un gran problema dado a que la escasez de ixodicidas cada vez es mayor (Yaima-Yate & Díaz-Rivera, 2022).

### **2.3.2. Factores de riesgo asociados a resistencia.**

Se ha catalogado al factor operacional como un factor extrínseco de la resistencia hacia los ixodicidas por parte de *R. microplus*, ya que se ha demostrado que la aplicación de cuatro o más veces por año del ixodicida predispone a desarrollar poblaciones resistentes (Fernández-Salas et al., 2012). Factores como: la biología del parásito, el sistema inmunológico del animal afectado, las propiedades farmacocinéticas y dinámicas del fármaco, frecuencia de baños, la rotación del producto, el número de animales por hato, los métodos de aplicación, entre otros, se encuentran relacionados al desarrollo de poblaciones resistentes (Benavides, 1995). Una adecuada dosificación es esencial para un uso eficaz de la IVM; así como, implementar estrategias de manejo integral de los ixodicidas, realizar exámenes fecales y pruebas de resistencia, utilizar los ixodicidas solo como parte de un programa de control con métodos sostenibles como rotación de pastos, evitar el sobrepastoreo, uso de controles biológicos y nuevos acaricidas de origen natural son pasos fundamentales para retrasar la aparición de poblaciones resistentes (FDA, 2022).

### **2.4. Lactonas macrocíclicas (LM).**

Las Lactonas Macrocíclicas (LM) son fármacos antiparasitarios utilizados en la salud humana y animal, se dividen en dos familias: avermectinas y milbemicinas. Su estructura química se compone por una lactona pentacíclica de 16 miembros, unida a un benzofurano en los carbonos y a un anillo espiroquetal. Poseen un alto peso molecular desde los 600 kDa (milbemicinas) hasta 800 kDa (avermectinas). Ambas familias de LM comparten propiedades fisicoquímicas y presentan pequeñas diferencias a nivel estructural que son determinantes en la farmacocinética y repercuten en la eficacia y la

persistencia antiparasitaria (Lifschitz, 2002). Presentan una alta liposolubilidad, lo que confiere una alta distribución y afinidad por el tejido adiposo, al ser aplicadas persisten en sangre, grasa y piel por un tiempo de hasta 56 días, exponiendo a poblaciones de garrapatas a concentraciones subletales que se asocian con poblaciones resistentes (Rodríguez-Vivas, 2010).

#### **2.4.1. Ivermectina.**

La ivermectina (IVM) pertenece a la familia de las avermectinas y es un fármaco de espectro amplio de modo que se utiliza contra endo y ectoparásitos (endectocida) a dosis muy bajas (Laing et al., 2017). Es un derivado natural de la avermectina B1, gracias a su gran disponibilidad en el mercado, diversas concentraciones, dosis y presentaciones, es uno de los fármacos más utilizados en la ganadería mexicana, es altamente hidrofóbico y se une a las subunidades de los dominios transmembrana (TM) de los receptores Cys-loop, como el canal de GluCl (Shan-Chen & Kubo, Y, 2018).

##### **2.4.1.1. Mecanismo de acción.**

La IVM es afín a los canales de GluCl, mismos que se expresan de manera predominante en los sistemas motores y sensoriales de los artrópodos y nemátodos. Dicha unión, provoca un aumento en la conductancia de los iones de cloruro causando la hiperpolarización celular y una menor formación de los potenciales de acción.

Afecta a las neuronas motoras, las interneuronas, los nervios laterales y sublaterales, así como a las células musculares faríngeas; conduce a una parálisis locomotora, inhibiendo el bombeo faríngeo que interfiere en la alimentación y produce finalmente la muerte del insecto (Ashour, 2019). Se sabe también, que, actúa como un agonista del ácido gamma-aminobutírico (GABA), lo que interrumpe la transmisión neurosináptica en el SNC (Taylor, 2001; Lifschitz, 2002) y con menor sensibilidad al receptor de glicina (GlyR) y al receptor de acetilcolina nicotínico  $\alpha 7$  (nAChR) (Chen & Kubo, 2018).

#### **2.4.1.2. Farmacocinética.**

La IVM tiene larga persistencia en la carne y el tejido adiposo: tarda siete días en liberarse, 39 días en absorberse y la concentración máxima plasmática se alcanza a los cuatro días en promedio, con 42.8 ng/ml (Carrasco et al., 1997). La farmacocinética depende de variables como: la formulación, el volumen de administración, la vía de administración, la(s) especie(s) blanco, entre otras variaciones (Adams, 2001). En dos productos de IVM de larga acción (IVM-LA) al 3.15 % aprobados para su comercialización, el tiempo en el que se alcanzó la concentración máxima plasmática fue a los 13.4 y 15.0 días después del tratamiento, con 65.4 ng/ml y 41.1 ng/ml respectivamente (Cuore et al., 2016).

#### **2.4.1.3. Formas farmacéuticas y vías de administración.**

Las presentaciones autorizadas en México, para su comercialización son: la solución oral, la tópica e inyectable, siendo esta última la más utilizada en el país. Para la vía inyectable la dosis al 1 % es de 200 µg/kg, mientras que, para la vía oral, la dosis es el doble. En la actualidad, también se encuentra aprobada IVM- LA al 3.15 % y al 4 %, la primera de estas se aplica a una dosis de 630 µg/kg y la segunda hasta 800 µg/kg. Para la formulación tópica *pour on* la dosis es de 500 µg/kg (Scheffczyk et al., 2016; Pérez-Cogollo et al., 2017).

#### **2.4.1.4. Metabolismo y excreción.**

La IVM es metabolizada por la isoenzima 3A4 del citocromo P450 (CYP), convirtiéndola en al menos 10 metabolitos hidroxilados y desmetilados. En bovinos y ovinos, los principales metabolitos hidroxilados son el 24- hidroximetil dihidroavermectina B<sub>1a</sub> y 3-o-desmetil-dihidroavermectina B<sub>1a</sub> (Lifschitz, 2002). La IVM y sus metabolitos secundarios se excretan por medio de las heces aproximadamente en 12 días y solo pequeñas cantidades (< 1%) se excretan en la orina y en la leche (Rodríguez-Vivas, 2010). La eliminación mediante las heces depende únicamente de la concentración de IVM en el cuerpo y se alcanzan concentraciones máximas plasmáticas entre los tres y seis días postratamiento (PT), la disminución ocurre a los 30 días.

La semivida plasmática de la IVM oscila entre 9.8 y 14.3 horas y tres días para los metabolitos (González-Canga et al., 2008; Pérez-Cogollo et al., 2017).

#### **2.4.1.5. Toxicidad.**

En una sobredosificación, los signos clínicos se presentan como: ataxia, hipermetría e hiperestesia, temblores, hipersalivación, midriasis y en casos graves, parálisis y muerte (Bihkane et al., 2017). La gravedad de la toxicidad varía según la vía de administración, la especie, la edad, el peso, entre otros parámetros, influyendo o no en la recuperación posterior. Generalmente las crías jóvenes son más sensibles a una sobredosis, teniendo un peor pronóstico (Pankaj et al., 2018). Las intoxicaciones se tratan con terapia de apoyo como: antiinflamatorios, suplementos, líquidos y un seguimiento posterior, teniendo un pronóstico favorable a las 36 horas postintoxicación sin secuelas a largo plazo. La IVM tiene un margen de seguridad de 10 veces en rumiantes, de modo que una administración superior a esta provoca la aparición de los primeros síntomas de toxicidad (Bihkane et al., 2017).

#### **2.4.1.6. Resistencia en *R. microplus*.**

Dado a la alta liposolubilidad de la IVM y a su persistencia en grasa de hasta 45 días, *R. microplus* se expone a concentraciones mayores del fármaco, en periodos de tiempo prolongados, lo cual genera poblaciones resistentes.

En México, son escasos los estudios de resistencia a LM en *R. microplus*. Los primeros estudios fueron realizados por Pérez-Cogollo et al., 2010ab. En el primero, fueron analizadas 3 poblaciones pertenecientes al estado de Yucatán, mismas que mostraron resistencia a IVM; meses después se analizaron 30 poblaciones, en donde 28 de ellas, mostraron algún grado de resistencia al fármaco. Por otro lado, dos años después, en el estado de Veracruz se examinaron 53 poblaciones en donde cerca de dos tercios de estas, mostraron algún grado de resistencia (Fernández-Salas et al., 2012a). En el 2021, Rodríguez-Vivas et al., realizaron un análisis de multiresistencia al amitraz, flumetrina, coumaphos e IVM en 54 ranchos ganaderos de México, en donde el 90.7 % de las poblaciones analizadas mostraron un grado de resistencia y el 68.5 %, mostró resistencia a IVM. Así también, se determinaron los factores de riesgo asociados.

En el periodo de 2018-2020, se realizaron 1,596 estudios de resistencia a ixodícidas, y se observó una disminución significativa en estos: 2018 (1,227 análisis de resistencia), 2019 (250 análisis de resistencia) y 2020 (119 análisis de resistencia). Además, los estudios realizados en el noreste de México fueron pocos (SENASICA, 2020). Tanto en el mundo como en Sudamérica la resistencia a IVM en *R. microplus*, ha sido estudiada (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis recientes de resistencia a IVM en *R. microplus* realizados en Sudamérica.

País	Poblaciones analizadas	R (%)	RI (%)	S (%)	Autores
Uruguay	10	50	-	50	(Castro-Janer et al., 2011)
Colombia	3	100	-	-	(Villar et al., 2016)
Argentina	10	40	10	50	(Torrents et al., 2020)
Brasil	10	40	-	60	(Valsoni et al., 2021)

R, resistentes; RI, resistencia incipiente; S, susceptible.

#### **2.4.1.7. Prueba para detectar resistencia a IVM (Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM).**

Fue descrita por Shaw (1966) y modificada por Klafke et al., (2006). Consiste en la inmersión de larvas de la especie *R. microplus* por un periodo de tiempo determinado en diluciones de IVM. En esta, se evalúa la mortalidad de las larvas, para poder determinar mediante un análisis Probit, la CL<sub>50</sub> y CL<sub>99</sub> de cada población analizada, contra la CL<sub>50</sub> y CL<sub>99</sub> de una cepa susceptible a IVM (Torres-Acosta, 2015).

### 3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la distribución y prevalencia que tiene *R. microplus* en el territorio nacional, con el 65.96 % en fase de control y a los efectos directos e indirectos que genera en el ganado bovino, con pérdidas económicas que llegan a más de 573 millones de dólares por año a nivel nacional (Rodríguez-Vivas et al., 2017a). Así como al creciente surgimiento de la multirresistencia a diferentes principios activos, relacionado al uso de estos como único método para su control, de manera errónea, sin un conocimiento de la biología y prevalencia de la garrapata, aunado a una falta de la detección de resistencia. Se ha venido implementado para su control, el uso de las LM, sin embargo, ha surgido el desarrollo de resistencia a nivel mundial. En México son escasos los estudios, siendo en su mayoría en el sureste, a pesar de que su uso comenzó a principios del siglo XXI, por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el estado de la resistencia a IVM en *R. microplus* en el noreste de México, así como determinar los posibles factores de riesgo asociados.



#### **4. HIPÓTESIS**

Poblaciones de la garrapata *R. microplus* presentan resistencia a la ivermectina en el noreste de México.

#### **5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

##### **5.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el estado de la resistencia a ivermectina en poblaciones de *R. microplus* en el noreste de México y determinar factores de riesgo asociados a esta.

##### **5.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar mediante un análisis de dosis-respuesta (PROBIT), las concentraciones letales (CL) del 50 % y 99 %.
2. Determinar la razón de resistencia y/o susceptibilidad de las poblaciones de *R. microplus*.
3. Identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de poblaciones resistentes a la ivermectina.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Lugar de procesamiento de muestras.

La presente investigación fue desarrollada en el laboratorio de Bacteriología y en el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación (LMI) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (F.M.V.Z.) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (U.A.N.L).

### 6.2. Área de estudio y tiempo de muestreo.

Durante los meses de septiembre de 2021 a octubre de 2022, se colectaron 20 poblaciones de garrapatas pertenecientes a la especie *R. microplus*, ubicadas en ranchos ganaderos de distintos municipios, localizados en la región noreste de México, comprendida por los estados de Nuevo León (N.L.), Tamaulipas (Tamps.), San Luis Potosí (S.L.P.) y el norte de Veracruz (Ver.) (Figura 6), para determinar el estado de resistencia a IVM.



**Figura 6.** Ubicación geográfica de los estados pertenecientes a la región noreste de México, donde se colectaron las poblaciones de *R. microplus*.

## 6.3. METODOLOGÍA

### 6.3.1. Tamaño de muestra.

Se colectaron poblaciones de *R. microplus* provenientes de ranchos ganaderos ubicados en la región noreste de México con antecedentes de aplicación de LM. Para determinar el tamaño de muestra, se aplicó un modelo simple al azar, utilizando el programa Epi Info V.7.2., basado en los datos (SIAP-SADER, 2021), donde se determinó una  $n=20$ . A su vez los ranchos se distribuyeron de la siguiente manera: siete de Veracruz, cinco de Nuevo León, cuatro de San Luis Potosí y cuatro de Tamaulipas.

### 6.3.2. Colecta de garrapatas.

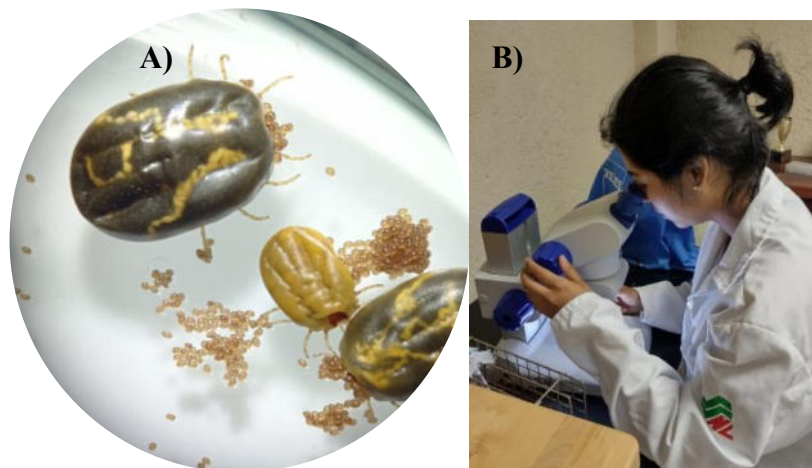
Se tomaron de forma manual hembras ingurgitadas (teleóginas) ubicadas en las zonas corporales del bovino con mayor infestación (Figura 7), durante las primeras horas por la mañana. Las teleóginas fueron colocadas en contenedores de plástico con agujeros en la tapa (20-30 garrapatas por contenedor por rancho), teniendo un algodón húmedo en el fondo y transportadas en una caja térmica a 4° C (FAO, 2004), con la finalidad de conservar la humedad e impedir la ovoposición. Finalmente, las garrapatas fueron llevadas al Laboratorio de Bacteriología.



**Figura 7.** Colecta de *R. microplus* en las zonas corporales del bovino con mayor infestación.

### 6.3.3. Identificación de especímenes.

Una vez en el laboratorio, las teleóginas fueron extraídas de los contenedores de plástico, limpiadas con agua destilada y secadas con toallas de papel secante. Para realizar la identificación taxonómica (figura 8) se aplicó un análisis observacional morfológico, con el uso de claves dicotómicas (Dantas-Torres, 2019) y un estereoscopio de la marca Carl Zeiss™ Stemi™ DV4 (Alemania) en el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación.



**Figura 8.** Identificación taxonómica de *R. microplus*. A) Morfología dorsoventral de hembra ingurgitada perteneciente a la especie. B) Observación morfológica para identificación de especímenes utilizando un estereoscopio.

### 6.3.4. Preparación y establecimiento de la población de estudio.

Una vez identificadas las teleóginas de la especie *R. microplus*, se colocaron en cajas Petri (100 x 15 mm) grupos de 10 teleóginas pegadas con cinta doble cara de manera dorsoventral (Figura 9) y se incubaron en una incubadora BOD-250 de la marca ECOSHEL, a temperatura de  $27^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$  y una humedad relativa de entre el 80 y 90 %, con el fin de establecerse y ovopositar sus huevos.



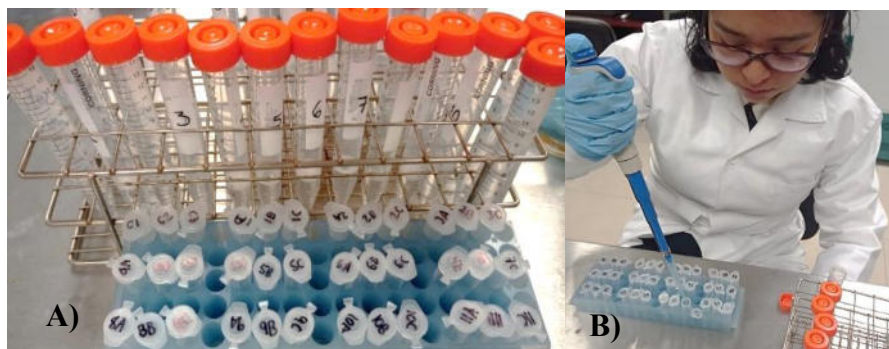
**Figura 9.** Grupo de 10 teleóginas, pegadas de manera dorsoventral.

Transcurridos 14 días (tiempo estimado para la ovoposición), se colectaron los huevos y fueron transferidos a tubos de 10 ml, con las condiciones de temperatura y humedad anteriormente descritas. Eclosionados los huevos, se esperó entre siete a 14 días para la maduración de las larvas, una vez que se observó la característica del geotropismo negativo, se continuó con la realización de la prueba de inmersión de larvas (FAO, 2004; Fernández-Salas et al., 2012a).

#### **6.3.5. Preparación de soluciones.**

Se prepararon las siguientes soluciones: (1) 5 ml del 2 % de Tritón X-100 (Sigma-Aldrich, USA) en etanol 100 % (ET-TX2 %), (2) una solución al 1 % de IVM 100 % (Sigma-Aldrich, USA) con 1 ml de etanol al 100 %, (3) 100 ml de una solución al 1 % de ET-TX2 % en agua destilada (diluyente), (4) una solución de 10 ml de la dosis máxima de IVM al 0.01 % (100 ppm) con el diluyente obtenido en el paso tres (Figura 10A).

A partir de la dosis máxima de IVM (0.01 %) se prepararon 11 diluciones en serie al 30 % con la finalidad de obtener concentraciones más bajas de esta: 0.01 %, 0.007 %, 0.0049 %, 0.00343 %, 0.0024 %, 0.00168 %, 0.00117 %, 0.00082 %, 0.00057 %, 0.0004 % y 0.00028 %. Para el grupo control, se utilizó solo el diluyente.



**Figura 10.** Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM. A) Soluciones seriadas de IVM al 30 %. B) Realización de la PIL por triplicado.

### 6.3.6. Prueba de Inmersión de Larvas modificada para IVM.

La prueba de inmersión de larvas toma en cuenta la tasa de mortalidad y es utilizada con frecuencia para detectar resistencia a las Am y LM en poblaciones de campo en las que no se conocen las frecuencias alelos resistentes (Rodríguez-Vivas et al., 2018). En tubos Eppendorf de 2 ml se añadió la cantidad de 500  $\mu$ l de cada dilución y un conjunto de entre 100-150 larvas, la inmersión se llevó a cabo de manera que las larvas permanecieran sumergidas durante 10 minutos, realizándose por triplicado (Figura 10). Posteriormente, las larvas se transfirieron a un papel filtro Whatman de 7.5 x 8.5 cm doblado y sellado con clips bulldog de 16 mm para formar un paquete, los paquetes se incubaron durante 24 horas a  $27^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$  y una humedad relativa entre el 80 y 90 %. La mortalidad se determinó a través del conteo de las larvas vivas, definidas como aquellas con capacidad de locomoción, contra el número inicial total de larvas por paquete (Fernández-Salas et al., 2012a; Torres-Acosta et al., 2015).

### 6.3.7. Análisis PROBIT (análisis dosis-respuesta).

La mortalidad de las larvas fue medida utilizando un análisis de dosis-respuesta PROBIT, y las concentraciones letales (CL) del 50 % y 99 % con sus respectivos límites de confianza del 95 % (LC 95 %) fueron obtenidas utilizando el software SPSS V.27. Se probó la hipótesis de normalidad e igualdad de la varianza con una prueba de chi-cuadrada ( $p \leq 0.05$ ). La razón de resistencia (RR) de cada una de las 20 poblaciones analizadas se obtuvo a partir de los datos de la cepa de referencia Deutch (USDA, Cattle Fever Tick Research Laboratory, Edinburg, TX, EE. UU.), obtenidos estos valores se determinó el

estado de susceptibilidad y/o resistencia siguiendo la clasificación de Castro-Janer et al., 2011:  $RR_{50} \leq 1$ : susceptible;  $RR_{50} > 1 < 2$  resistencia incipiente y  $RR_{50} \geq 2$  resistente, además se añadió una nueva clasificación:  $RR_{50} > 10$  altamente resistente.

### 6.3.8. Cuestionario epidemiológico.

Un cuestionario epidemiológico fue aplicado a cada uno de los propietarios o encargados de los ranchos ganaderos estudiados con la finalidad de determinar las prácticas en el uso y/o manejo de LM, así como del control de *R. microplus*. La información incluida en el cuestionario se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Variables utilizadas en el cuestionario epidemiológico para determinar los posibles factores de riesgo asociados a poblaciones resistentes.

Variable	Categoría	Descripción
Información general	Clave, ubicación, contacto.	Datos generales.
Producción	Propósito, sistema, instalación, número de cabezas, proximidad.	Datos acerca de la producción y manejo de esta.
Razas	Tipo de razas y número.	Si son razas puras o criollas.
Presencia de garrapata	Hay garrapata, estaciones del año con garrapata.	Presencia de garrapata es por estaciones o siempre.
Lactonas macrocíclicas	LM usada, parásito (s), frecuencia de tratamientos, prevención, formulación, aplicación de acuerdo al peso.	Uso y manejo de LM.
Rotación de ixodicidas	Ixodicidas usados.	Tipo de ixodicidas aplicados.
Asistencia veterinaria y rotación de pastaje	Se presentan y se llevan a cabo, con regularidad o de urgencia.	Se llevan a cabo y frecuencias.

Para analizar los posibles factores de riesgo asociados a poblaciones resistentes, se consideró al grupo con resistencia incipiente como susceptible. Se realizó un análisis descriptivo para calcular las frecuencias de las variables encontradas y se llevó a cabo un análisis multivariado utilizando tablas de contingencia 2 x 2 para evaluar la interacción entre las variables de exposición, con un límite de confianza del 95 % utilizando el software Epi Info V.7.2. Se utilizó la prueba de Exacto de Fisher para determinar el nivel de significancia de cada asociación y se incluyeron en el modelo de regresión logística binomial aquellas asociaciones con un valor de  $p \leq 0.20$ . Se consideró un valor de  $\leq 0.05$  como estadísticamente significativo en el análisis de regresión binomial (Pérez-Cogollo et al., 2010ab; Fernández-Salas et al., 2012a).



## 7. RESULTADOS

### 7.1. Lugar de colecta de las poblaciones.

Los datos de colecta de las poblaciones de *R. microplus* pertenecientes a la región noreste de México se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Localización geográfica de cada población de *R. microplus* colectada en la región noreste de México.

<b>Población</b>	<b>Localización</b>	<b>Coordenadas geográficas</b>
<b>ETHM</b>	Tantoyuquita, Tamps.	22°31'05.5"N 98°31'26.5"W
<b>JCG4</b>	Ciudad del Maíz, S.L.P.	22°25'01.6"N 99°35'20.7"W
<b>JAM5</b>	Tantoyuca, Ver.	21°12'38.7"N 98°08'33.5"W
<b>DALC</b>	Cadereyta, N.L.	25°33'43.4"N 99°49'11.4"W
<b>RAMT</b>	Soto la Marina, Tamps.	23°48'30.3"N 98°08'24.9"W
<b>JNSE</b>	Santa Engracia, Tamps.	24°04'05.5"N 99°14'07.7"W
<b>JVML</b>	Los Ramones, N.L.	25°42'24.6"N 99°37'27.9"W
<b>SNTM</b>	General Bravo, N.L.	25°50'17.0"N 99°15'56.4"W
<b>VMA1</b>	General Terán, N.L.	25°10'06.4"N 99°32'55.3"W
<b>PRVA</b>	Aramberri, N.L.	24°06'19.8"N 99°55'20.1"W
<b>MRNA</b>	Hidalgo, Tamps.	24°04'41.0"N 99°14'28.8"W
<b>ANGS</b>	Tantoyuca, Ver.	21°23'42.1"N 98°08'32.3"W
<b>LEX15</b>	Tantoyuca, Ver.	21°18'06.0"N 98°15'42.4"W
<b>ESHP</b>	Tantoyuca, Ver.	21°19'42.7"N 98°20'44.0"W
<b>JHE2</b>	Tantoyuca, Ver.	21°24'05.1"N 98°11'15.5"W
<b>JPN1</b>	Tantoyuca, Ver.	21°17'15.3"N 98°15'57.3"W
<b>VIHM</b>	Tantoyuca, Ver.	21°27'41.4"N 98°18'30.5"W
<b>KML1</b>	Ciudad Valles, S.L.P.	22°01'19.9"N 99°04'23.5"W
<b>EBEV</b>	Casas Viejas, S.L.P.	22°11'22.2"N 99°05'53.2"W
<b>ISALI</b>	El naranjo, S.L.P.	22°30'58.1"N 99°21'05.0"W

## 7.2. Análisis PROBIT y razón de resistencia por ranchos muestreados.

Utilizando la tasa de mortalidad y la metodología PROBIT, fue calculada la Concentración Letal (CL50 y CL99) y la Razón de Resistencia (RR<sub>50</sub> y RR<sub>99</sub>) (Tabla 5), además, del estado de la resistencia y/o susceptibilidad a IVM correspondientes a las 20 poblaciones muestreadas en la región noreste (Tabla 6). Como se observa en ambas tablas, la población VMA1 fue susceptible a la IVM (RR<sub>50</sub>= 0.73; RR<sub>99</sub>= 3.94) y las poblaciones JCG4, JAM5 y JNSE, mostraron una resistencia incipiente (RR<sub>50</sub> del 1.20. 1.55 y 1.61 respectivamente). Por otro lado, las 16 poblaciones restantes, mostraron resistencia a IVM (RR<sub>50</sub>= 2.07- 11.14; RR<sub>99</sub>= 3.03- 47.93) y de estas, las poblaciones JVML y LEX15 fueron altamente resistente al ixodicida (RR<sub>50</sub>= 6.98; RR<sub>99</sub>= 11.11; RR<sub>50</sub>= 11.14; RR<sub>99</sub>= 47.93).

**Tabla 5.** Análisis de dosis-respuesta a IVM en poblaciones de *R. microplus*, concentración letal al 50 % y 99 % y razón de resistencia 50 y 99 (RR<sub>50</sub> y RR<sub>99</sub>).

Población	Pendiente	CL <sub>50</sub>	LC 95 %	RR <sub>50</sub>	CL <sub>99</sub>	LC 95%	RR <sub>99</sub>
JCG4	4.77	0.00067	0.00028- 0.00123	1.20	0.00203	0.00114- 0.17975	1.20
ETHM	3.82	0.00154	0.00135- 0.00174	2.75	0.00626	0.00491- 0.00874	3.68
JAM5	3.10	0.00087	0.00074- 0.00102	1.55	0.00490	0.00362- 0.00758	2.88
DALC	3.46	0.00230	0.00200- 0.00264	4.11	0.01083	0.00820- 0.01616	6.37
RAMT	4.29	0.00148	0.00133- 0.00164	2.64	0.00515	0.00418- 0.00684	3.03
JNSE	2.82	0.00090	0.00072- 0.00110	1.61	0.00602	0.00410- 0.01090	3.54
JVML	3.40	0.00391	0.00313- 0.00513	6.98	0.01889	0.01173- 0.04563	11.11
SNTM	3.83	0.00226	0.00191- 0.00269	4.03	0.00913	0.00695- 0.01362	5.37
VMA1	1.91	0.00041	0.00027- 0.00053	0.73	0.00669	0.00403- 0.01585	3.94
PRVA	3.26	0.00206	0.00188- 0.00225	3.68	0.01067	0.00883- 0.01346	6.28
MRNA	3.62	0.00303	0.00265- 0.00346	5.40	0.01326	0.01014- 0.01927	7.80

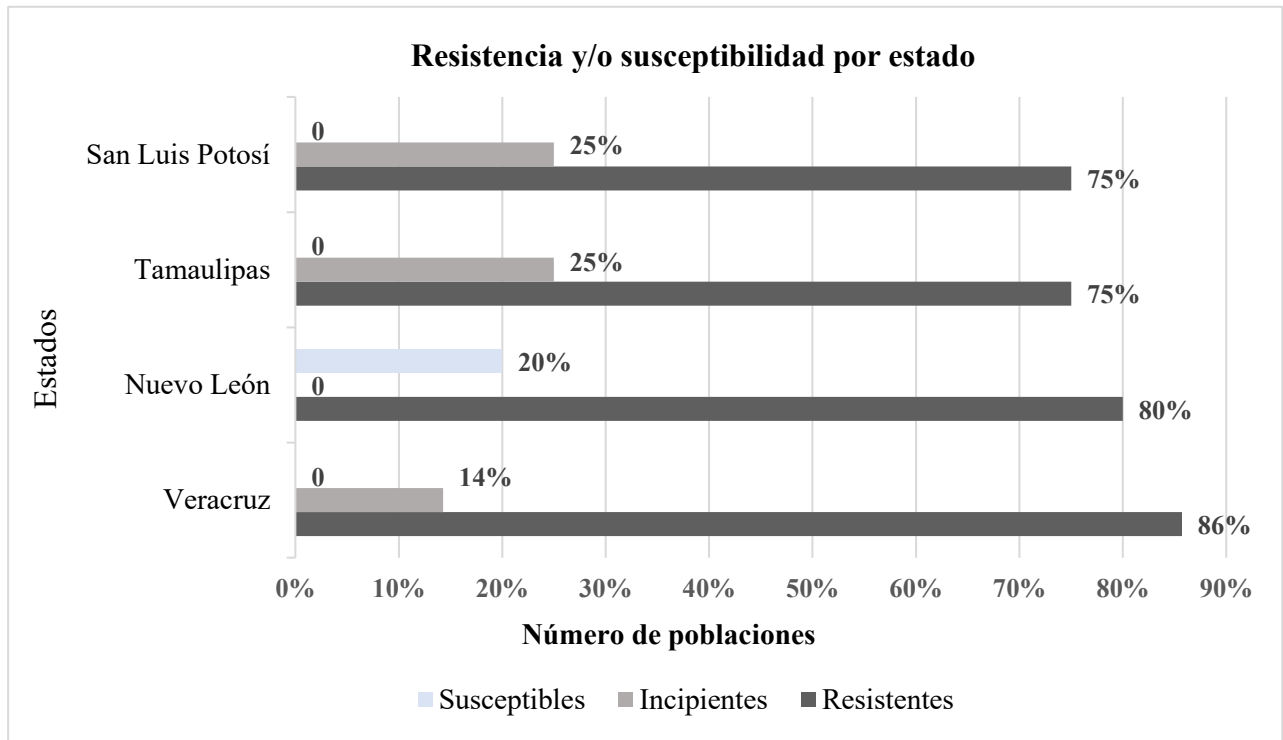
<b>ANGS</b>	3.32	0.00213	0.00202- 0.00224	3.80	0.01068	0.00948- 0.01220	6.28
<b>LEX15</b>	2.09	0.00624	0.00547- 0.00727	11.14	0.08148	0.05465- 0.13760	47.93
<b>ESHP</b>	3.32	0.00177	0.00163- 0.00192	3.16	0.00889	0.00741- 0.01110	5.23
<b>JHE2</b>	2.70	0.00156	0.00138- 0.00174	2.78	0.01136	0.0088- 0.01572	6.68
<b>JPN1</b>	2.38	0.00225	0.00198- 0.00256	4.02	0.02138	0.01526- 0.03357	12.58
<b>VIHM</b>	3.10	0.00255	0.00222- 0.00293	4.56	0.01435	0.01036- 0.02122	8.44
<b>KML1</b>	2.53	0.00149	0.00134- 0.00166	2.66	0.01242	0.00947- 0.01750	7.31
<b>ISALI</b>	3.03	0.00116	0.00101- 0.00132	2.07	0.00679	0.00513- 0.00995	4.00
<b>EBEV</b>	2.87	0.00116	0.00095- 0.00139	2.07	0.00750	0.00522- 0.0129	4.41
<b>DEUTCH<sup>a</sup></b>	4.72	0.00056	0.00052- 0.00060	NA	0.0017	0.00150- 0.00210	NA

a Cepa de referencia susceptible de USDA, Cattle Fever Tick Research Laboratory, Edinburg, TX, USA.  
CL: concentración letal; IC: intervalo de confianza; RR: razón de resistencia (CL de la población estudiada entre la CL de la cepa de referencia susceptible); NA: no aplica.

El estado de la resistencia y/o susceptibilidad de cada población, se clasificó tal y como se observa en la Tabla 6, así como el porcentaje de poblaciones resistentes o susceptibles por entidad federativa (Gráfica 1).

**Tabla 6.** Estado de la resistencia y/o susceptibilidad de las 20 poblaciones de *R. microplus*, pertenecientes al noreste de México expresado en porcentajes.

<b>Razón de resistencia</b>	<b>Susceptible (S)</b>	<b>Incipiente (I)</b>	<b>Resistente (R)</b>	<b>Altamente resistente (HR)</b>
<b>Número de poblaciones</b>	1 (5 %)	3 (15 %)	14 (70 %)	2 (10 %)



**Gráfica 1.** Estado de la resistencia y/o susceptibilidad de las poblaciones de *R. microplus*, por estado de la región noreste de México expresado en porcentajes.

Separando las poblaciones analizadas por estado, se encontró que la resistencia a IVM supera al 70 % en cada uno de estos. En el estado de San Luis Potosí se tuvieron tres poblaciones resistentes (75 %) y una población presentó resistencia incipiente (25 %), en Tamaulipas obtuvimos valores similares a los encontrados en el estado de San Luis Potosí: 75 % resistentes, 25 % con resistencia incipiente. Por otro lado, en Nuevo León se encontró que el 80 % de las poblaciones presentan resistencia, mientras que una población (20 %) mostró susceptibilidad, resaltando que fue la única del presente estudio. Por último, el 86 % de las poblaciones analizadas en Veracruz, presentó resistencia, mientras que el 14 % mostró resistencia incipiente.

### **7.3. Factores de riesgo asociados a poblaciones resistentes.**

Se analizaron 14 variables independientes como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia a IVM (Tabla 7). Por un lado, el sistema de explotación principal es el agostadero, poco más de la mitad de los ranchos cuentan con instalaciones semitecnificadas y con razas criollas entre cebuínas y europeas. La densidad de animales por rancho es menor de 50 cabezas por hatos con una proximidad de menos de 5 km entre ranchos. La mitad de los ranchos muestreados presenta garrapata todo el año.

En cuanto al historial de manejo de ixodicidas y LM, se observó que todos los ranchos implementan la rotación de ixodicidas utilizando diversas familias de productos, como organofosforados, amidinas, piretroides sintéticos, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo. Además, todos los ranchos aplican IVM y/o otras LM, como doramectina, siendo la mitad de ellos utilizadas para el tratamiento de ectoparásitos. Más del 50 % de los ganaderos encuestados mencionaron utilizar formulaciones de IVM con concentraciones superiores al 1 %, aplicándolas más de 5 veces al año y ajustando la dosis según el peso del bovino. Además, la mayoría de los ranchos cuentan con asistencia veterinaria y llevan a cabo la rotación de pasturas (Tabla 7).

Las variables de exposición "frecuencia de tratamientos" ( $p= 0.026$ ) y "formulación administrada" ( $p= 0.1531$ ) mostraron una significancia estadística según la prueba del Exacto de Fisher (Tabla 7). Por lo tanto, ambas variables se incluyeron en el modelo de regresión logística binomial (Tabla 8), donde se obtuvieron estimaciones de regresión, intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %), odds ratio (OR), valores de  $p$  y error estándar del coeficiente de regresión. Se consideró un valor de  $p \leq 0.05$  como significativo, lo que indica una asociación estadística positiva entre las variables.

**Tabla 7.** Análisis de frecuencias de las variables independientes de exposición como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia a IVM por *R. microplus*.

Variable	Análisis	Frecuencia	P (Exacto de Fisher)
Sistema de explotación	Estabulado	6/20= 30 %	0.6573a
	Agostadero	14/20= 70 %	
Tipo de instalación	Semitecnificado	11/20= 55 %	0.6253a
	Familiar	9/20= 45 %	
Razas	Pura	2/20= 10 %	0.3684a
	Criollas	18/20= 90 %	
Densidad de animales (número de cabezas)	> 50	8/20= 40 %	0.5345a
	< 50	12/20= 60 %	
Proximidad a otro rancho	> 10 km	5/20= 25 %	0.2487a
	< 10 km	15/20= 75 %	
Temporada con garrapata	Estacionalidad	10/20= 50 %	0.7089a
	Todo el año	10/20= 50 %	
Parásito (s) blanco (s)	Ectoparásitos	10/20= 50 %	0.7089a
	Endo y ectoparásitos	10/20= 50 %	
Frecuencia de tratamientos (año)	1- 3	9/20= 45 %	<b>0.026b*</b>
	4- > 5	11/20= 55 %	
Aplicación de tratamientos	Prevención	7/20= 35 %	0.5607a
	Presencia	13/20= 65 %	
Formulación administrada	1	8/20= 40 %	<b>0.1531b*</b>
	3.15-4 %	12/20= 60 %	
Aplicación de acuerdo con el peso	Sí	17/20= 85 %	0.5087a
	No	3/20= 15 %	
Asistencia veterinaria	Sí	15/20= 75 %	0.2817a
	No	5/20= 25 %	
Rotación de ixodicidas	Sí	20/20= 100 %	0.4738a
	No	0/20	

Rotación de pastura	Sí	14/20= 70 %	0.3426a
	No	6/20= 30 %	

a: no significativo; b\*: estadísticamente significativo ( $p \leq 0.20$ ).

**Tabla 8.** Análisis de regresión logística binomial en variables significativas como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia de *R. microplus* a la IVM.

Variable	OR	IC 95 %	S.E. ( $\beta$ )	$p \leq 0.05$
Frecuencia de tratamientos	No definido	0.0	291.26	0.0134
Formulación administrada	6.59	0.5428	1.27	0.1101

OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; S.E. ( $\beta$ ), error estándar; p, valor de p.

## 8. DISCUSIÓN

El control químico de la garrapata en México y el mundo se ha vuelto ineficaz, dado a la aparición de poblaciones resistentes y multirresistentes a los ixodicidas (Fragoso et al., 1999; Pérez-Cogollo et al., 2010ab; Fernández-Salas et al., 2012ab; Lovis et al., 2013; Miller et al., 2013; Vudriko et al., 2016; Rodríguez-Hidalgo et al., 2017; Sagar et al., 2020; Rodríguez-Vivas et al., 2021). Desde su introducción, en la década de los 80, la IVM ha sido el producto de salud animal con mayor importancia a nivel mundial (Laing et al., 2017). Pocos son los estudios del estado de la resistencia a IVM en *R. microplus* en México; presentándose tres en el sureste y solamente uno en el noreste, este último con un número pequeño de poblaciones analizadas (Pérez-Cogollo et al., 2010ab; Fernández-Salas et al., 2012a; Rodríguez-Vivas et al., 2021). Lo anterior destaca la importancia de realizar estudios sobre la evaluación y diagnóstico de resistencia de este fármaco en el noreste del país.

Aplicando la PIL y siguiendo la metodología Probit, se determinaron las  $CL_{50}$  y  $CL_{99}$  de las poblaciones de estudio. En los resultados obtenidos (Tabla 5), se encontró diferencia significativa con la cepa de referencia Deutch, con una población susceptible (5 %) ( $RR_{50}= 0.73$ ), tres poblaciones con resistencia incipiente (15 %) ( $RR_{50}= 1.20-1.61$ ) y el resto (80 %) con resistencia ( $RR_{50}= 2.07-11.14$ ). Estos resultados coinciden con aquellos reportados por primera vez en México por Pérez-Cogollo et al., (2010a), en donde el 100 % de las poblaciones analizadas mostraron resistencia a la IVM con  $RR_{50}= 2.04-8.59$  y  $RR_{99}= 2.67-87.86$ , además, de un crecimiento exponencial en diferentes épocas de muestreo.

Walsh et al., (2022) mencionan que la resistencia está dada por factores bioquímicos/genéticos, factores operativos y factores ecológicos tales como rasgos intrínsecos y de interacción de las poblaciones con su entorno y medio ambiente. Además, el desarrollo de individuos resistentes es dependiente de la frecuencia de ocurrencia de estos y de la presión de selección (Alonso-Díaz et al., 2006; Pérez-Cogollo et al., 2010a; Aguilar et al., 2018).

Asimismo, en diferentes estudios de países latinoamericanos, se obtuvieron poblaciones resistentes de entre el 40 al 100 % de las poblaciones analizadas (Villar et., al 2016;



Torrents et al., 2020; Rodríguez-Vivas et al., 2021; Valsoni et al., 2021). Hardy et al., (2018), indican que la evolución de una especie interfiere en la predisposición al desarrollo de resistencia, es decir, algunos artrópodos se encuentran pre adaptados para metabolizar a los insecticidas.

La respuesta de las poblaciones al aumento de la dosis (pendiente) es un indicativo importante de la resistencia. Una pendiente baja  $\leq 2$  y una CL alta (superior a la cepa de referencia) es común en poblaciones resistentes, mientras que, una pendiente elevada  $\geq 2$  y CL baja es común en poblaciones susceptibles con respuesta heterogénea (Klafke et al., 2006; Robertson et al., 2007). En el presente estudio se encontraron poblaciones que respetan dicho anuncio: JCG4 (S.L.P.), JAM5 (Ver), JNSE (Tamps), VMA1 (N.L.) y la población JPN1 (Ver), mientras que, sorprendentemente tres poblaciones provenientes de Tamaulipas (ETHM, RAMT y MRNA), cuatro de Nuevo León (JVML, SNTM, PRVA y DALC), cinco de Veracruz (ANGS, LEX15, ESHP, VIH M y JHE2) y tres de San Luis Potosí (KML1, EBEV e ISALI), mostraron CL y pendientes altas. Villar et al., (2016), mencionan que no existen reportes a la fecha que determinen una cepa de *R. microplus* altamente resistente a la IVM, de acuerdo con estos enunciados, las poblaciones anteriormente descritas han sufrido una pérdida de la heterogeneidad y de los genes susceptibles, demostrando por primera vez en la presente investigación que los alelos resistentes se encuentran fijados en la población y presentan una respuesta homogénea de resistencia. Otros estudios, mencionan que la heterogeneidad de alelos resistentes llevaría a la pérdida de poblaciones susceptibles y a la aparición de poblaciones resistentes con alelos homogéneos (Domínguez-García et al., 2010; Pérez-Cogollo et al., 2010a; Esparza & Esparza, 2015).

De las poblaciones resistentes obtenidas en este estudio, dos se catalogaron como altamente resistentes ( $RR_{50}= 6.98$  y  $RR_{50}= 11.14$ ), similar a lo encontrado por Pérez-Cogollo et al., (2010b), en dónde se analizaron 30 poblaciones y tres de ellas mostraron los valores más altos de resistencia ( $RR_{50}= 6.84, 7.37$  y  $10.23$ ) y por Fernández-Salas et al., (2012a) con valores de  $RR_{50}= 5.89, 6.25$  y  $8.21$ . Aun así, son necesarios estudios moleculares para analizar todas las frecuencias de los alelos resistentes de las poblaciones.

Por otro lado, se analizaron las frecuencias en base a las respuestas obtenidas en el cuestionario epidemiológico (Tabla 7). Los municipios incluidos en el presente estudio se encuentran ubicados entre los paralelos 26° N a 21° N, compartiendo climas templados-cálidos subhúmedos, con humedades relativas entre el 65-79 %, temperaturas medias de 21° C y un promedio de evaporación del agua entre 1,200-1,400 mm. Estas condiciones son óptimas para el desarrollo, distribución y supervivencia de la garrapata, así como para el aumento de generaciones por año (Pereira et al., 2008; INEGI, 2020a; INEGI, 2020b; Pascual-Ramírez et al., 2020; Estrada-Peña et al., 2022; CONAGUA, 2023a; CONAGUA, 2023b). Algunos autores mencionan que la ubicación geográfica y el nicho abiótico, son factores que promueven el mayor desarrollo de las garrapatas (Furlong & de Souza, 2005; Estrada-Peña et al., 2006). Basándonos en estos argumentos, Castañeda-Arriola et al., (2021), demostraron que durante los meses de abril-julio, con temperaturas de entre 25.2 a 26.8° C y humedad relativa entre 85-86 %, se observó una mayor cantidad de infestaciones por garrapata, en comparación a los meses con temperaturas más bajas. Por otro lado, Rodríguez-Gallegos & Acosta-Rodríguez., (2011) encontraron una mayor cantidad de garrapatas por animal ( $155 \pm 10$ ) durante los meses de febrero y marzo con temperaturas de 22°C en promedio. Cabe destacar que la colecta de las poblaciones se realizó durante los meses de mayo a octubre, donde se pudo observar altas infestaciones.

En la presente investigación se encontró que el 100 % de los ranchos estudiados, se dedican a la producción de carne. Estos datos son consistentes con aquellos presentados por Rodríguez-Vivas et al., (2021) y Pérez-Cogollo et al., (2010b), quienes encontraron que entre el 74.1 % y el 80 % de los ranchos estudiados, se dedican exclusivamente a la producción de carne. Esta tendencia puede explicarse por varias razones: en primer lugar, en México, el ganado destinado a la producción de carne es hasta 13 veces mayor que el ganado destinado a la producción de leche (SIAP-SADER, 2021a). Asimismo, los estados incluidos en este estudio se caracterizan por ser grandes productores de ganado cárnico, a diferencia de los estados de Jalisco, Coahuila, Durango, Chihuahua y Guanajuato, que son los principales productores de ganado lechero en el país y en su mayoría, son zonas libres de *R. microplus* o se encuentran en proceso de serlo (SIAP-SADER, 2021b; SENASICA, 2023). Lo anterior explica por qué todos los ranchos estudiados se dedican a la producción de carne y respaldan los resultados previos encontrados por otros investigadores.

Con respecto al sistema de explotación, el 70 % utiliza un sistema extensivo o de agostadero, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Aguilar-Tipacamú et al., (2009), donde el 100 % de las unidades productoras emplean este tipo de sistema, y con Rodríguez-Vivas et al., (2021), donde el 92.60 % de los ganaderos encuestados utilizan un sistema semintensivo. Según Santos et al., (2009), cuando la carga ganadera no excede un bovino por hectárea, el sistema de cría extensiva es desfavorable para el desarrollo de las garrapatas, ya que reduce las posibilidades de infestación larval y limita la transmisión, considerándose esta como una medida de control. En contraparte, Rocha et al., (2011) mencionan que el ganado en un sistema semintensivo se expone en menor medida a las garrapatas que en los sistemas extensivos, ya que los animales se encuentran separados entre sí por corrales, lo que facilita el control de las garrapatas. Asimismo, Menin et al., (2019) observaron que, en el manejo extensivo, los productores realizan más tratamientos por año (4.91), mientras que en el sistema semintensivo el promedio de tratamientos es menor (3.66), además, los animales en agostadero tienen un mayor desafío al estar expuestos diariamente al 95 % de la población de *R. microplus*, que se encuentra presente en los pastizales.

Por otro lado, encontramos que el tipo de instalación predominante es la semitecnificada, representando el 55 %. De acuerdo con Daher et al., (2012), en este tipo de instalaciones se presenta una baja eficacia de los ixodicidas, ya que el número de aplicaciones al año aumenta al tener un mayor control en el proceso.

Con relación a la densidad de animales, el 60 % tiene < 50 animales, lo cual se debe a que son pequeños productores y el 90 % tiene cruza entre *Bos taurus* y *Bos indicus*. Cabe destacar que la dinámica poblacional y la prevalencia de *R. microplus*, están influenciadas por las razas bovinas utilizadas. Se ha demostrado que las razas cebuínas son más resistentes a las infestaciones en comparación con las razas europeas, debido a factores genéticos y comportamientos de repulsión (Tabor et al., 2017), como las papilas de la lengua que presentan una menor dispersión, lo que facilita la eliminación de las larvas de *R. microplus* de la piel, también, estas razas cuentan con pelajes más finos y menos densos, lo cual reduce la preferencia de las garrapatas hacia ellas y, por lo tanto, la infestación (Marufu et al., 2011; Veríssimo et al., 2015; Tabor et al., 2017).

A pesar de que la mayoría de las razas estudiadas son cebuínas criollas, conocidas por su resistencia a las garrapatas, se encontró un alto porcentaje de infestación, lo que se puede atribuir al hecho de que la mayoría de los animales del estudio tienen una condición corporal de dos a tres, según los criterios de evaluación de condición corporal. De acuerdo con Paucar et al., (2022), el ganado con un estado corporal delgado a moderado, poseen una mayor probabilidad de aumentar la carga de garrapatas debido a una baja nutrición, lo que conlleva a problemas metabólicos, endocrinos e inmunológicos en los animales (Hughes & Kelly, 2006; Abbas et al., 2014).

La mitad presenta infestaciones por garrapatas por estaciones, siendo más predominante durante la primavera y el verano, mientras que la otra mitad, reporta infestaciones de garrapatas durante todo el año. Varios autores han observado tasas más altas de infestación (hasta 188 garrapatas por animal) de *R. microplus* durante los meses de julio a septiembre, cuando la temperatura media y la humedad relativa son más altas (Ueno et al., 2012; Alí et al., 2019; Cruz-González et al., 2023). Esto se debe a que las variables climáticas modifican la epidemiología de las garrapatas, lo que resulta en un mayor número de generaciones por año. El aumento de la temperatura global y los cambios en las pautas de lluvia han contribuido a la adaptación de las garrapatas a estas condiciones, observando altas tasas de infestación durante los meses más cálidos, aunque también es posible encontrar infestaciones durante los meses más fríos, cuando se supone que el desarrollo de los huevos debería ser más lento y las bajas temperaturas podrían influir en una alta mortalidad de las larvas (Rocha et al., 2006; Andreotti et al., 2019; Cruz et al., 2020).

En cuanto a la aplicación de tratamientos con IVM, el 65 % menciona que lo hacen ante la presencia de garrapatas, sugiriendo que muchos de ellos aplican el fármaco sin un criterio adecuado o información técnica sobre su uso. Rocha et al., (2006) y Santos et al., (2009), respaldan esta observación, ya que los propietarios aplican ixodicidas al visualizar las etapas adultas de *R. microplus*, sin tomar en cuenta su biología y ecología, al no tener conocimiento sobre otras estrategias de control y del riesgo de desarrollo de resistencia.

Acerca de los parásitos contra los que se usa la IVM, la mitad de los ranchos la utiliza para tratar ectoparásitos, mientras que el restante, la utiliza debido a su acción endectocida, que actúa contra ectoparásitos y endoparásitos. En el estudio de Alegría et al., (2015), se observó que, en ranchos ganaderos del estado de Yucatán, existe una incidencia de resistencia a la IVM del 50% en poblaciones de *R. microplus* que no habían sido expuestas al fármaco, ya que solo se utiliza para el tratamiento de nemátodos gastrointestinales. Esto implica que el uso indiscriminado de la IVM y su acción endectocida, puede influir en la presión de selección y contribuir al desarrollo de resistencia en las poblaciones, especialmente cuando se utiliza para tratar otras clases de parásitos. Rodríguez-Vivas et al., (2014), mencionan que el uso de plaguicidas para controlar parásitos distintos de las garrapatas, puede afectar la incidencia de resistencia en estas y en las enfermedades transmitidas por ellas, ya que es común que, en los trópicos, la IVM se usa para el tratamiento de diversos parásitos como lo son: *R. microplus*, *Hematobia irritans*, *Dermatobia hominis*, *Cooperia punctata*, *Haemonchus placei*, *Trichostrongylus axei* y *Oesophagostomum radiatum*, que pueden llegar a afectar el ganado de manera simultánea (Oliveira et al., 2013).

Por otro lado, cuando se les preguntó a los ganaderos si aplican el producto de acuerdo con las indicaciones del fabricante, es decir, considerando el peso del animal, el 85 % mencionó hacerlo de esta manera. Sin embargo, se observó una tendencia a no pesar a los animales con una báscula antes de aplicar la IVM, sino que calcula un estimado del peso corporal del animal de manera observacional. Algunos autores (Canul-Ku et al., 2012; Alegría et al., 2015) mencionan que la estimación visual del peso de los animales es una práctica común entre ganaderos. Sin embargo, esto puede llevar a que no se aplique la dosis correcta de IVM, lo que expone a los animales al “efecto de cola” (subdosificación o sobredosificación), de manera que se afecta la eficacia del tratamiento y se contribuye al desarrollo de resistencia en los parásitos (Yazwinski et al., 2006). Además, preparaciones inadecuadas de ixodicidas, así como aplicaciones incorrectas conducen al desarrollo de resistencia (Betancur & Giraldo, 2019).

El 75 % de los ranchos cuenta con asistencia veterinaria, y de estos, el 73.3 % recibe atención de forma urgente, solo cuando existen muertes o hay una alta infestación de garrapatas, representando un problema en el plan de control, ya que muchos

productores se basan en la selección de un ixodicida solo por la recomendación de un vendedor o por ser el más económico en el mercado. El asesoramiento inadecuado sobre la selección y el uso correcto de los productos en la propiedad conduce a un manejo ineficiente de los parásitos (Santos et al., 2009; Souza & Carneiro, 2012). También, en algunas ocasiones se utilizan fármacos no autorizados en México, lo que puede resultar en una calidad deficiente o en una concentración del principio activo superior o inferior a lo recomendado (Alegria et al., 2015). Como mencionan Andreotti & Koller (2016), cada productor, con la ayuda de un veterinario, debe tomar decisiones informadas sobre la mejor estrategia de control de garrapatas en su área específica.

Todos llevan a cabo la rotación de ixodicidas entre compuestos de las familias de: amidinas, organofosforados, organoclorados, piretroides sintéticos, fenilpirazolonas y LM. Alonso-Díaz et al., (2006) mencionan, que en una misma población puede existir la presencia de multirresistencia o resistencia cruzada al usar ixodicidas con mecanismos de acción similares. Recientemente, este argumento fue comprobado por Valsoni et al., (2020), en donde encontraron multirresistencia de una población a tres fármacos y a una formulación. Asimismo, Vudriko et al., (2016) encontraron que en el 55.6 % de los ranchos analizados, la rotación de ixodicidas se llevó a cabo de manera errónea al usar los mismos productos, pero de diferentes marcas y al aumentar el tiempo de aplicación (10 exposiciones cada mes) hasta en un 8 %, generando un aumento en la resistencia. Esto se debe, a que estos principios activos presentan mecanismos de acción similares que actúan de manera sistemática en el SNC (Rodríguez-Vivas et al., 2018) y al usarlos indiscriminadamente su eficacia disminuye y el control de las infestaciones no mejora aumentando la resistencia (Furlong & de Souza, 2005).

La rotación de pasturas es un método importante en el manejo integrado para el control de las garrapatas. Pasturas libres de larvas o hembras ingurgitadas de *R. microplus* impiden el desarrollo del ciclo de vida de la especie y, por tanto, reducen las infestaciones (CFSPH, 2007; Rodríguez-Vivas et al., 2017b). Dicho esto, se determinó que en el 70 % de los ranchos, se lleva a cabo la rotación de pasturas, aun así, la frecuencia con la que se realiza no fue determinada. Es importante tener en cuenta que los tiempos de descanso entre rotaciones de pasturas son cruciales para el control efectivo de las garrapatas.

Según lo estipulado por Cruz-González et al., (2023), un tiempo de descanso de 45 días entre pasturas, es recomendado para evitar que las larvas se adhieran al huésped. Durante los tres a ocho días posteriores a la eclosión, las larvas son más viables y vigorosas (Cruz et al., 2020). Sin embargo, factores como el comportamiento animal, el pisoteo y la cobertura de los pastos, también influyen en el nivel de infestación y por ende en el posible desarrollo de resistencia. Condiciones desfavorables como la deshidratación, la disminución de sus reservas energéticas y la exposición a altas temperaturas y baja humedad causan la mortalidad de las larvas (Canevari, et al., 2016; Morel, et al., 2017).

De las 14 variables independientes como posibles factores de riesgo asociados a la resistencia a IVM (Tabla 7), dos mostraron tener significancia estadística ( $p \leq 0.20$ ): frecuencia de tratamientos ( $p= 0.026$ ) y formulación administrada ( $p = 0.1531$ ), mismas que fueron incluidas en el modelo de regresión logística binomial (Tabla 8).

De acuerdo con Rocha et al., (2011), los sistemas de manejo de animales, así como el número de tratamientos anuales, son considerados factores que influyen en la eficacia de los fármacos, desempeñando un papel importante en el desarrollo de la resistencia. En el 55 % de los ranchos, se aplica el tratamiento con IVM de 4 a más de 5 veces por año, similar a lo obtenido por Fernández-Salas et al., (2012a), donde ranchos ganaderos que aplican LM 4 o más de 5 veces al año, tienen hasta 13 veces más probabilidad de desarrollar resistencia. La IVM presenta un período de disminución de la concentración posterior a la aplicación, pero debido a su alta afinidad a la grasa y su persistencia en tejidos, no se elimina por completo, de modo que la exposición prolongada a dosis terapéuticas favorece a la aparición de organismos resistentes (Fernández-Salas et al., 2012b; Pérez-Cogollo et al., 2010ab). Dicho supuesto es conocido como “efecto de cola”; si existen organismos presentes durante dicho período la selección de organismos resistentes a IVM es posible (Yazwinski et al., 2006; Rodríguez-Vivas, 2010). *R. microplus* reacciona rápidamente a la presión de selección y a mayor concentración de ixodicidas (Burger et al., 2014), por tanto, la aplicación del químico debe realizarse con menor frecuencia en intervalos de 30 días con la intención de disminuir dicha presión, no solo para la garrapata, sino también para organismos no objetivo como helmintos (Andreotti & Koller, 2016; Davey et al., 2010).

De todos los ranchos analizados ninguno aplica vacunas como medida para el control de *R. microplus*, y actualmente se ha demostrado que un manejo integrado compuesto por ixodicidas y vacunas, reduce la frecuencia de aplicaciones de 14 a 2.8 por año (Rosario-Cruz et al., en 2021), de modo que, abordar dichas estrategias puede significar una reducción en las infestaciones y por ende en el desarrollo de poblaciones resistentes.

Aplicando la regresión logística binomial se pudo observar que para la variable frecuencia de tratamientos, se obtuvo una  $p \leq 0.0134$ , resultado que mostró ser significativo, sin embargo, con un OR no definido, debido a que en uno de los grupos de la tabla de contingencia de 2 x 2, hubo una casilla en la que no se presentó una población que fuese susceptible y que se aplicara la IVM 4 o más de 5 veces al año, lo que se tuvo que computar como un cero; ya que el OR es el cociente de dos relaciones (Domínguez-Lara, 2018). El hecho de incluir un cero dentro de la división genera un resultado incalculable. Se determinó que la administración del tratamiento de 4 o más de 5 veces al año puede ser un factor de riesgo, ya que, por una parte, las medidas de frecuencia calculadas resultaron en valores mayores a 1; el riesgo relativo obtenido fue de 1.8 y los OR se encuentran en un rango desde 1.27 hacia el infinito. Por lo cual, el aumento de la frecuencia en el grupo expuesto se puede considerar que es debido al efecto de la variable independiente. Según Valenzuela, (1993), un modo para solucionar el hecho de que el OR sea incalculable es aumentar proporcionalmente los valores de cada casilla, por lo que al realizarlo obtuvimos un valor de:  $OR = 11.14$  y  $p = 0.032$ ; si bien, no podemos tomar como confiable este resultado, nos deja abierta la posibilidad de que en estudios posteriores, incluyendo una mayor cantidad de explotaciones estudiadas, se pueda comprobar el aumento de los OR para las explotaciones que aplican tratamientos 4 o más de 5 veces al año.

En cuanto a la variable independiente formulación administrada, se observó que más de la mitad de los ganaderos utiliza formulaciones de IVM-LA del 3.15 % al 4 %, debido a falta de eficacia de la formulación al 1 %. Rodríguez-Vivas et al., (2014) mencionan que las formulaciones de IVM-LA tienen un mayor riesgo de generar poblaciones resistentes cuando se aplican con alta frecuencia en comparación con las formulaciones de acción corta al 1%. Esto se debe a diversos factores, como una concentración más alta del principio activo en las formulaciones de IVM-LA, una dosis



aplicada que es tres veces mayor (630  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), un período de retiro prolongado, una disminución de la inmunidad natural y una selección de parásitos resistentes más rápida (Yazwinski et al., 1994; Lifschitz et al., 2007; Davey et al., 2010). El análisis de regresión logística binomial demostró que para la variable formulación administrada, se obtuvo una  $p \leq 0.1101$  (OR= 6.59, IC 95 % = 0.5428 y S.E.= 1.27) mismo que resultó no ser significativo como posible factor de riesgo, pero con una asociación positiva.

## 9. CONCLUSIONES

Con base al muestreo realizado y a los resultados obtenidos demostramos que, en los estados de Veracruz, San Luis Potosí y Tamaulipas, no se encontraron poblaciones susceptibles a IVM y del 14 al 25 % de estas, presentan resistencia incipiente. Por otra parte, en el estado de Nuevo León, solo se encontró una población susceptible, rechazando la hipótesis nula, *R. microplus* es resistente a la IVM en el noreste de México con el 80 % de las poblaciones analizadas.

En la actualidad, la frecuencia de aplicaciones de 4 o más de 5 veces al año es el único factor de riesgo que pudiera estar asociado a la presencia de poblaciones resistentes.

Por último, es importante destacar que el uso incorrecto de ixodicidas y las prácticas erróneas en el manejo contribuyen al desarrollo de la resistencia. Por lo tanto, es crucial que los ganaderos sigan las indicaciones y dosis recomendadas por los fabricantes y contar con un veterinario responsable, una cultura del diagnóstico, así como las buenas prácticas de manejo integrado de plagas, para minimizar el riesgo de resistencia y mantener la eficacia de los tratamientos.

## 10. PERSPECTIVA

Es más que claro que la aplicación química contra *R. microplus*, ya no es suficiente para el control de la especie. Por lo cual, es necesario implementar nuevos métodos biológicos, químicos y operacionales para un manejo integrado de las infestaciones, debido a que las condiciones agroecológicas de la república mexicana no permiten la erradicación de la garrapata y las pérdidas continúan siendo significativas para la economía. Los resultados del presente estudio pueden contribuir a la aplicación de dichas estrategias de control, mismas que deben de ser más efectivas y sostenibles. Además, dilucidar por completo los mecanismos moleculares y/o mutaciones presentes en las poblaciones resistentes ayudará a la creación de dichas estrategias, evitando así la existencia de resistencia cruzada y multirresistencia.

Es necesario conocer la biología de la garrapata por parte del personal responsable, para así, disminuir la presión de selección a la que las poblaciones son expuestas. Además de saber acerca de la dinámica de las poblaciones en cada región, el estado de la resistencia a cada ixodicida, incorporar nuevos pastos, razas de ganado resistentes y otras tecnologías.

El uso de ixodicidas, tiene que ser regulado para su uso y comercialización, ya que la resistencia no solo genera un impacto a nivel productivo y salud del ganado, sino también en todo el medio ambiente, debido a la acumulación de residuos tóxicos en el suelo y el agua, así como a la exposición de los trabajadores rurales a sustancias químicas potencialmente peligrosas. Por lo tanto, es esencial adoptar un enfoque holístico y sostenible para el control de la garrapata, que considere no solo los aspectos biológicos y económicos, sino también los ambientales y de salud pública.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, R., Zaman M., Colwell, D., Gilleard J., Iqbal, Z. 2014. Acaricide Resistance in Cattle Ticks and Approaches to Its Management: The State of Play. *Vet. Parasitol.*, 203: 6-20. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.03.006

Adams, H. 2001. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 8th edition. Iowa: ED. Iowa State University Press.

Aguilar, G., Olvera, A., Carvajal, B., Mosqueda, J. 2018. SNPs and other polymorphisms associated with acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus*. *Front Biosci-Landmrk.*, 23: 65-82.

Aguilar-Tipacamú, G., Mendoza-Nazar, P., Ruiz-Sesma, B., Oliva-Llaven, M., Ibarra-Martínez, C., & Bautista-Trujillo, G. 2009. Resistencia al amitraz de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en unidades de producción del estado de Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas*, 1(7): 16-22.

Alegría-López, M., Rodríguez-Vivas, R., Torres-Acosta, J., Ojeda-Chi, M., Rosado-Aguilar, J. 2015. Use of Ivermectin as Endoparasiticide in Tropical Cattle Herds Generates Resistance in Gastrointestinal Nematodes and the Tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae), *Journal of Medical Entomology*, 52 (2): 214–221. DOI: <https://doi.org/10.1093/jme/tju025>

Alí, A., Alí-Khan, M., Zahid, H., Yaseen, P., Qayash-Khan, M., Nawab, J., Rehman, Z., Ateeq, M., Khan, S., Ibrahim, M. 2019. Seasonal Dynamics, Record of Ticks Infesting Humans, Wild and Domestic Animals and Molecular Phylogeny of *Rhipicephalus microplus* in Khyber Pakhtunkhwa Pakistan. *Physiol.*, 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00793>

Alonso-Díaz, M., & Fernández-Salas, A. 2022. *Rhipicephalus microplus*: biología, control y resistencia. CEIEGT

Alonso-Díaz, M., Rodríguez-Vivas, R., Fragoso-Sánchez, H., Rosario-Cruz, R. 2006. Ixodicide resistance of the *Boophilus microplus* tick to ixodicides. Arch. Med.Vet., 38 (2): 105- 114.

Andreotti, R., García, M., & Koller., W. 2019. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. Embrapa, Brasília

Andreotti, R., Koller, W., García, M. 2016. Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo. 1ª ed. Embrapa gado de corte. Brasília, DF.

Ashour, D. 2019. Ivermectin: From theory to clinical application. International Journal of Antimicrobial Agents. 54: 134–142.

Barker, S., & Murrell, A. 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. Parasitology, 129.

Benavides, E. 1995. Resistencia de artrópodos a pesticidas. Factores que favorecen su desarrollo y estrategias para combatirla. Memorias: Foro Regional del Magdalena Medio sobre “La situación actual de la garrapatas y moscas en la ganadería”: 64-77.

Betancur, J., & Giraldo, C. 2019. Economic and health impact of the ticks in production animals. IntechOpen, 1: 1-19. DOI: 10.5772/intechopen.81167

Beugnet, F., & Marie, J. 2009. Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. Vet. Parasitol., 163: 298- 305.

Bhikane, A., Jadhav, R., Anand, M. 2017. Successful Therapeutic Management of Ivermectin Toxicity in Deoni Calf. Journal of Dairy & Veterinary Sciences, 2. DOI: 10.19080/JDVS.2017.02.555594

Burger, T., Shao, R., Barker, S. 2014. Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species Rev Molecular Phylogenetics and Evolution, 76: 241-253. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.017>

Canevari, J., Mangold, A., Guglielmone, A., Nava, S. 2016. Population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in a subtropical subhumid region of Argentina for use in the design of control strategies. *Med. Vet. Entomol.*, 31: 6-14. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12199>

Canul-Ku, H., Rodríguez-Vivas, R., Torres-Acosta, J., Aguilar-Caballero, A., Pérez-Cogollo, L., Ojeda-Chi, M. 2012. Frequency of cattle herds with ivermectin resistant nematodes in the hot sub-humid tropics of Mexico. *Vet. Parasitol.*, 183: 292-298.

Carrasco, M., Espuny, A., Escudero, E., Cárceles, Y. 1997. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas. *Anales Vet. Murcia*, 13(14): 3-22.

Castañeda-Arriola, R., Álvarez-Martínez, O., Rojas-Martínez, C., Lira-Amaya, J., Ríos-Utrera, A., Martínez-Ibáñez, F. 2021. *Rhipicephalus microplus* infestation level and its association with climatological factors and weight gain in *Bos taurus* x *Bos indicus* cattle. *Rev Mex Cienc Pecu.*, 12(1): 273-285. DOI: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i1.5392>

Castro-Janer, E., Rifran, L., Gonzáles, P., Niell, C., Piaggio, J., Gil, A., Shumaker, T. 2011. Determination of the susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) to ivermectin and fipronil by Larval immersion Test (LIT) in Uruguay. *Vet. Parasitol.*, 178: 148-155.

Cid, Y., Ferreira, T., Magalhães, V., Correia, T., Scott, F. 2016. Injectable fipronil for cattle: Plasma disposition and efficacy against *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary Parasitology*, 220: 4-8.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Servicio Metrológico Nacional (SMN). 2023a. Mapas de climatología 1981-2010. Evaporación promedio. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/mapas-de-climatologia-1981-2010>

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Servicio Metrológico Nacional (SMN). 2023b. Resúmenes Mensuales de Temperaturas y Lluvia. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>

Correia, T. 2003. Eficácia do inibidor de crescimento de insetos Pyriproxyfen associado ao Piretróide D-phenotrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) em cães, gatos e no ambiente. Tese de mestrado em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária Seropédica-UFRRJ, Rio de Janeiro, 52.

Cortés-Vecino, J. 2018. Control integrado de garrapatas y su importancia en salud pública. *Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud*, 38:4. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4866>

Cruz, B., de Lima Mendes, A., Maciel, W., Barbosa dos Santos, I., Costa-Gomes, L., Felippelli, G., Pires-Teixeira, W., Lopes-Ferreira, L., Soares, V., Zanetti-Lopes, W., da Costa, A., Pereira de Oliveira, G. 2020. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation of its annual number of generations in a tropical region. *Parasitol, Res.*, 119: 2421–2430. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06758-5>

Cruz-González, G., Pinos-Rodríguez, J., Alonso-Díaz, M., Romero-Salas, D., Vicente-Martínez, J., Fernández-Salas, A., Jarillo-Rodríguez, J., Castillo-Gallegos, E. 2023. Rotational Grazing Modifies *Rhipicephalus microplus* Infestation in Cattle in the Humid Tropics. *Animals*, 13: 915. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13050915>

Cuore, U., Solari, M., Piaggio, J., Chelle, B., Di Rienzo, D., Machado, N., Politi, P., Trelles, A., Rampoldi, O. 2016. Biological and pharmacokinetic performance of two commercial formulations of ivermectin 3.15 % in bovines. *Veterinaria (Montev.)*, 52: (201).

Cycoń, M & Piotrowska- Seget, Z. 2016. Pyrethroid-Degrading Microorganisms and Their Potential for the Bioremediation of Contaminated Soils: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1463. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01463

Daffner, A. 2023. La garrapata de los vacunos. Características y control. *Revista Veterinaria Argentina*, 419.

Daher, D., Bertolucci, A., Lopes, E., Guimarães, A., Rocha, C. 2012. Fatores associados à resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) no sul de Minas Gerais. *Revista Verde*, 7 (1): 102-115.

Dang, K., Doggett, S., Singham, V., Chow-Yang Lee. 2017. Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (Hemiptera: Cimicidae). *Parasites & Vectors*, 10: 318.

Dantas-Torres, F., Fernandes-Martins, T., Muñoz-Leal, S., Castilho-Onofrio, V., Barros-Battesti, D. 2019. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 10: 101-126.

Davey, R., Mathews, J., Miller, J., Klavons, J. 2010. Therapeutic and persistent efficacy of a long-acting (LA) formulation of ivermectin against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and sera concentration through time in treated cattle. *Veterinary Parasitology*, 169 (1-2): 149-156. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.040>

Desmond, Agwunobi., Zhijun, Yu., Jingze, Liu. 2021. A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 173. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>

Domínguez-García, D., Rosario-Cruz, R., Almazán-García, C., Saltijeral-Oaxaca, J., De la Fuente, J. 2010. *Boophilus microplus*: biological and molecular aspects of acaricide resistance and their impact on animal health. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12: 181- 192.



Domínguez-Lara, S. El odds ratio y su interpretación como magnitud del efecto en investigación. *Educación médica*, 19(1): 65-66. DOI: 10.1016/j.edumed.2017.01.008

Esparza-Rentería, J. & Esparza-Sevilla, E. 2015. Susceptibility of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) to seven ixodicides in Nuevo Leon, Mexico. *Rev. Iberoamericanas de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*. ISSN 2007- 9990. 4 (8).

Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J., Guglielmone, A., Horak, I., Jongejan, F., Latif, A., Pegram, R., Walker, A. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Experimental and Applied Acarology*, 38 (02-03), 219-235.

Estrada-Peña, A., Rodríguez-Mallón, A., Bermúdez, S., de la Fuente, J., Domingos, A., Estrada-García, M., Labruna, M., Merino, O., Mosqueda, J., Nava, S., Leonart-Cruz, R., Szabó, M., Tarragona, E., Venzal, J. 2022. One Health Approach to Identify Research Needs on *Rhipicephalus microplus* Ticks in the Americas. *Pathogenes*, 11: 1180. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11101180>

Fernández-Salas A., Rodríguez-Vivas, R., Alonso-Díaz, M., Basurto-Camberos, H. 2012a. Ivermectin resistance status and factors associated in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) populations from Veracruz, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 190: 210-215. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.003>

Fernández-Salas A., Rodríguez-Vivas, R., Alonso-Díaz, M. 2012b. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 183: 338- 342. DOI:10.1016/j.vetpar.2011.07.028

Food and Agriculture Organization of United Nation (FAO). 2004. Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines, Animal production and health division. pp 25-77.

Food and Agriculture Organization of United Nation (FAO). 2012. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Disponible en: [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)

Food and Drug Administration (FDA). 2022. Antiparasitic Resistance. Disponible en: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/safety-health/resistencia-antiparasitaria>

Fragoso-Sánchez, H., Ortiz, M., De Labra, V., Ortiz, N., Rodríguez, M., Redondo, M., De La Fuente, J., Hernández, P. 1999. Evaluación de la vacuna contra la garrapata Bm86 (Gavac) para el control de *Boophilus microplus*. Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal. México: 47-50.

Furlong J. & de Souza, J. 2005. Carrapato: problemas e soluções. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. Brasil. ISBN: 85-85748-63-X

González- Canga, A., Sahagún- Prieto, A., Diez- Liébana, MJ., Fernández- Martínez, N., Sierra- Vega, M., García- Vieitez, J. 2008. The pharmacokinetics and interactions of ivermectin in humans- a mini-review, 10: 42- 6.

Guglielmone, A., Nava, S., Robbins, R. 2021. Neotropical Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae). Springer, Nature Switzerland, 486.

Hardy, N., Peterson, D., Ross, L., Rosenheim, J. 2018. Does a plant-eating insect's diet govern the evolution of insecticide resistance? Comparative tests of the pre-adaptation hypothesis. *Evolutionary Applications*, 11: 739-747.

Hughes, S., & Kelly, P. 2006. Interactions of malnutrition and immune impairment, with specific reference to immunity against parasites. *Parasite Immunol.*, 28: 577-588.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2020a. Cuéntame INEGI. Información por Entidad. Disponible en: <https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/default.aspx?tema=me>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2020b. México en cifras. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=19#collapse-Indicadores>

Klafke, G., Sabatini, G., Thais, A., Martins, J., Kemp, D., Miller, R., Schumaker, T. 2006. Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary parasitology*, 142 (3-4): 386-390.

Kumar-Patel, P., Kumari-Patel, S., Bhatt, S., Deepak, D., Prabhakar, A., Patel, B., Rabha, C., Dixit, S.K. 2018. Therapeutic Management of Ivermectin Toxicity in a Calf: A Case Report. *Int.J.Curr. Microbiol. App.Sci.*, 7 (4): 1964-1969. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.225>

Laing, R., Gillan, V., Devaney, E. 2017. Ivermectin - Old Drug, New Tricks? *Trends Parasitol*, 33 (6): 463- 472. DOI: 10.1016/j.pt.2017.02.004.

Lifschitz, A., Virkel, G., Ballent, M., Sallovitz, J., Imperiale, F., Pis, A., Lanusse, C. 2007. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: Absorption pattern and pharmacokinetic considerations. *Veterinary Parasitology*, 147 (3-4): 303-310. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.04.009>

Lifschitz, A., Virkel, G., Imperiale, A., C, Lanusse. 2002. Fármacos endectocidas: avermectinas y milbemicinas. En: Botana LM, Landoni F, Matin-Jimenez T (eds). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España, 545-558.

Lilly, D., Latham, S., Webb, C., Doggett, S. 2016. Engrosamiento de la cutícula en una cepa resistente a los piretroides de la chinche común, *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae).

Liu, N. 2015. Resistencia a insecticidas en mosquitos: impacto, mecanismos y direcciones de investigación. *Anu Rev Entomol.*, 60:537–59.

Lovis, L., Reggi, J., Berggoetz, M., Betschart, B., Sager, H., 2013. Determination of acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) populations of Argentina, South Africa, and Australia with the larval tarsal test. *J. Med. Entomol.*, 50 (2): 326-335.

Madison-Antenucci, S., Kramer, L., Gebhardt, L., Kauffman, E. 2020. Emerging tick-borne diseases. *Clin. Microbiol.*, 33.

Marques, L., Joviano-Santos, J., Souza, D., Santos-Miranda, A., Román-Campos, D. 2022. Cardiotoxicity of pyrethroids: molecular mechanisms and therapeutic options for acute and long-term toxicity. *Biochem Soc Trans.*, 50 (6): 1737–1751. DOI: <https://doi.org/10.1042/BST20220593>

Marrero, S., González, S., Guevara, H., Eblen, A. 2017. Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria. *Comunidad y Salud*, 15:1.

Marufu, M., Qokweni, L., Chimonyo, M., & Dzama, K. 2011. Relationships between tick counts and coat characteristics in Nguni and Bonsmara cattle reared on semiarid rangelands in South Africa. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2: 172-177. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2011.07.001

Menin, M., Xavier, C., Grigolo, M., Molosse, K., Weirich, M., Matzembacker, B., Collet, S., Prestes, A., & Camillo, G. 2019. Factors associated with the efficiency of acaricides on different populations of *Rhipicephalus microplus*. *Braz J Vet Res Anim Sci.*, 56 (3). DOI: <https://doi.org/issn.1678-4456.bjvras.2019.157595>

Miller, R., Almazán, C., Ortiz-Estrada, M., Davey, R., George, J., De León, A. 2013. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol.* 16:191(1-2):97-101. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.08.011.

Morel, N., Signorini, M., Mangold, A., Guglielmone, A., Nava, S. 2017. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in

*Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. *Prev. Vet. Med.*, 144: 179-183. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.06.006>

Nava, S., Mangold, A., Simonato, G., Puntin, E., Sproat, M. 2019. Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan a los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina. INTA, p. 19.

Oliveira, M., Alencar, M., Giglioti, R., Beraldoc, M., Aníbal, F., Correia, R., Boschini, L., Chagas, A., Bilhassi, T., Oliveira, H. 2013. Resistance of beef cattle of two genetic groups to ectoparasites and gastrointestinal nematodes in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 197: 168-175.

Paikade, S & Chavan, R. 2019. Taxonomy of parasitic ticks of genus *Rhipicephalus* (*Boophilus*) (Ixodida: Ixodidae) from Aurangabad district of Maharashtra India. *Indian Journal of Applied Research*, 9 (9).

Pascual-Ramírez, R., López-Quiroz, M., Chable-Pech, L., Loranca-Domínguez-Loranca, Y., Ledesma-Ledesma, J., Zavala-Fajardo, A., Martínez-Melarejo, A. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2020. Reporte del Clima en México.

Paucar, V., Pérez-Otáñez, X., Rodríguez-Hidalgo, R., Pérez, C., Cepeda-Bastidas, D., Grijalva, J., Enríquez, S., Arciniegas-Ortega, S., Vanwambeke, S., Ron-Garrido, L., & Saegerman, C. 2022. The Associated Decision and Management Factors on Cattle Tick Level of Infestation in Two Tropical Areas of Ecuador. *Pathogens*, 11,403. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11040403>

Pereira, M., Labruna, B., Szabó, Matias. P., Klafke, G. 2008. *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Biología, Controle e Resistência. *MedVet.*, 169.

Pérez-Cogollo, L., Rodríguez-Vivas, R., Ramírez-Cruz, G., Miller, R. 2010a. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 168:165-169.

Pérez-Cogollo, L., Rodríguez-Vivas, R., Ramírez-Cruz, G., Rosado- Aguilar, J. 2010b. Survey of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin at cattle farms

with history of macrocyclic lactones use in Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 172: 109- 113.

Pérez-Cogollo, L., Rodríguez-Vivas, R., Reyes-Novelo, E., Delfin-González, H. Muñoz-Rodríguez, D. 2017. Survival and Reproduction of *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae) exposed to ivermectin residues in cattle dung. *Bulletin of Entomological Research*, 107: 118-125.

Pérez, T., Guzmán-Cornejo, C., Montiel-Parra G., Paredes-León, R. Rivas, G. 2014. Biodiversidad de ácaros en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 399-407.

Pfäffle, M., Littwin, N., Muders, S., Petney, T. 2013. The ecology of tick-borne diseases. *International Journal for Parasitology*, 43 (12- 13), 1059-1077. DOI: [doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.009](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.009)

Polanco-Echeverry, D & Ríos-Osorio, L. 2016. Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, Mosquera (Colombia), 17(1): 81- 95.

Quiroz-Romero, H., Figueroa-Castillo, J., Ibarra-Velarde, F., López-Arellano, M. 2011. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Primera edición. Editorial Limusa. Capítulo 33, 477- 493.

Robertson, J., Savin, N., Savin, N., Preisler, H. 2007. *Bioassays with Arthropods*. 2da ed. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781420004045>

Rocha, C., Leite, R., Bruhn, F., Guimarães, A., Furlong, J. 2011. Perceptions of milk producers from Divinópolis, Minas Gerais, regarding *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* control. *Rev Bras Parasitol Vet.*, 20 (4): 295-302. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000400007>

Rocha, C., Oliveira, P., Leite, R., Cardoso, D., Calic, S., Furlong, J. 2006. Perception of dairy farmers from Passos County, MG, Brazil, concerning the tick *Boophilus microplus* (acari: ixodidae), 2001. *Cienc. Rural.*, 36 (4): 1235-1242

Rodríguez-Gallegos, C., & Acosta-Rodríguez, M. 2011. Genetic and environmental factors influencing the resistance of terminal cross calves to tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and horn fly *Haematobia irritans*. Trop Subtrop Agroecosys, 13:437-444.

Rodríguez-Hidalgo, R., Pérez-Otañez, X., Garces-Carrera, S., Vanwambeke, S., Madder, M., Benitez-Ortiz, W. 2017. The current status of resistance to alpha-cypermethrin, ivermectin and amitraz of the cattle tick (*Rhipicephalus microplus*) in Ecuador. PLoS One, 12 (4). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174652>

Rodríguez-Vivas, R. 2005. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en el sureste de México. CONACYT-SAGARPA 1: 9-11.

Rodríguez-Vivas, R., Arieta-Román, R., Pérez-Cogollo, L., Rosado-Aguilar, J., Ramírez-Cruz, G., Basto-Estrella, G. 2010. Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino. Archivos de medicina veterinaria. 42(3), 115-123.

Rodríguez-Vivas, R., Castillo-Chab, C., Rosado-Aguilar, J., Ojeda-Chi, M. 2014. Evaluation of the efficacy and persistence of moxidectin (10%) and ivermectin (3.15%) against natural infestation of gastrointestinal nematodes in cattle from the Mexican tropics. Arch. Med. Vet., 46(1). DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2014000100010>

Rodríguez-Vivas, R., Laerte, G., Pérez de León, A., Silva-Villela, H., Torres-Acosta, J., Fragoso-Sánchez, H., Romero-Salas, D., Rosario-Cruz, R., Saldierna, F., García-Carrasco, D. 2017a. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Rev Mex Cien Pec 2017;8(1):61-74.

Rodríguez-Vivas, R., Jonsson, N., Bhushan, C. 2017b. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. Parasitol Res., 117:3-29. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>

Rodríguez-Vivas, R., Jonsson, N., Bhushan, C. 2018. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol Res.*, 117 (1): 3- 29.

Rodríguez-Vivas, R., Ojeda-Chi, M., Pérez-Cogollo, L., Rosado-Aguilar, J. 2011. Epidemiología y control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México. Capítulo 33. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Editores: Quiroz RH, Figueroa CJA, López AME. AMPAVE, pp. 477-504.

Rodríguez-Vivas, R., Ramírez-España, E., Lozano-Blanco, I., Ojeda-Chi, M., Trinidad-Martínez, I., Torres-Islas, J., Bhushan, C. 2021. Monitoring the resistance *Rhipicephalus microplus* to amitraz, flumethrin, coumaphos, and ivermectin on cattle farms in Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*.

Rodríguez-Vivas, R., Rosado-Aguilar, J., Ojeda-Chi, M., Pérez-Cogollo, L., Trinidad-Martínez, I., Bolio-González, M. 2014. Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(3), 295-308.

Rosario-Cruz, R., Domínguez-García, D., López-Silva, S., Rosario-Domínguez, F. 2021. Integrated Management of the Cattle Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and the Acaricide Resistance Mitigation. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.100015

Roy, B., Estrada- Peña, A., Krucken, J., Rehman, A., Nijhof, A. 2018. Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. *Ticks and Tick- borne diseases*, 9 (5): 1069- 1079. doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.03.035.

Sagar, S., Saini, K., Sharma, A., Kumar, S., Kumar, R., Fular, A., Shakya, M., Upadhaya, D., Nagar, G., Shanmuganath, C., Samanta, S., Kumar, S., Ghosh, S. 2020. Acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus* collected from selected districts of Madhya Pradesh, Uttar Pradesh and Punjab states of India. *Trop. Anim. Health Prod.*, 52: 611-618.



Santos, T., Farias, N., Cunha- Filho, N., Pappen, F., Vaz- Junior, I. 2009. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, 29 (1): 65-70.

Scheffczyk, A., Floate, K., Blanckenhorn, W., Düring, R., Klockner, A., Lahr, J. 2016. Nontarget effects of ivermectin residues on earthworms and springtails dwelling beneath dung of treated cattle in four countries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 1959-1969.

SENASA. Coordinación Técnica de capacitación y desarrollo y carrera del personal. 2020. Garrapata: aspectos del parásito. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Secretaría de Agricultura. 2021a. Información sobre el número de animales que se crían en el país con fines de producción. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Secretaría de Agricultura. 2021b. Escenario mensual de productos agroalimentarios. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/escenarios-de-productos-agroalimentarios-266425>

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2015. Distribución y diversidad de garrapata *Boophilus* spp. Disponible en: [https://www.aphis.usda.gov/import\\_export/downloads/presentations/Boophilus-tick.pdf](https://www.aphis.usda.gov/import_export/downloads/presentations/Boophilus-tick.pdf)

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2020. Resistencia a los garrapaticidas. Disponible en: [https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/manejo-de-garrapaticidas-y-su-resistencia#:~:text=Es%20la%20habilidad%20de%20una,susceptible\)%20de%20la%20misma%20especie.](https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/manejo-de-garrapaticidas-y-su-resistencia#:~:text=Es%20la%20habilidad%20de%20una,susceptible)%20de%20la%20misma%20especie.)

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2023. Situación actual Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus* spp. Disponible en: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-garrapata-boophilus-spp>

Shan-Chen, I & Kubo, Y. 2018. Ivermectin and its target molecules: shared and unique modulation mechanisms of ion channels and receptors by ivermectin. *J Physiol.*, 596 (10): 1833- 1845. DOI: 10.1113/JP275236.

Shaw, R. 1966. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bulletin of Entomological Research*, 56 (3): 389-405.

Souza, A., & Carneiro, A. 2012. Economic viability of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) strategic control program adopted in dairy cattle. *Rev. Inst. Latic.*, 389 (67): 67-68.

Tabor, A., Ali, A., Rehman, G., Rocha-García, G., Fonseca- Zangirolamo, A., Malardo, T., Jonsson, N. 2017. Cattle Tick *Rhipicephalus microplus*-Host Interface: A Review of Resistant and Susceptible Host Responses. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 7. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00506>

Taylor, M. 2001. Recent developments in ectoparasiticides. *Vet J.*, 161: 253-268.

The Center for Food Security and Public Health (CFSPH). 2007. Garrapata del ganado del sur, garrapata del ganado bovino 1-3.

The Center for Food Security and Public Health (CFSPH). 2022. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *R. australis*. 1- 5.

Torrents, J., Sarli, M., Rossner, M., Toffaletti, J., Morel, N., Martínez, N., Webster, A., Mangold, A., Guglielmonre, A. 2020. Resistance of the Cattle Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin in Argentina. *Research in Veterinary Science*, 132: 332–337.

Torres-Acosta, F., Chan-Pérez, J., López-Arellano, M & Rosado-Aguilar, J., Soberanes, N., Orantes-Neri, S., Alonso-Díaz, M., Martínez-Ibañez, F., Miranda, J., Vargas-Magaña, J., Encalada-Mena, L. 2015. Capítulo: 12 Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. AMPAVE-CONASA, México D.F. 387-389.

Ueno, T., Mendes, E., Pomaro, S., Lima, C., Guilloux., A., Mendes, M. 2012. Sensitivity profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks of dairy cattle to acaricides in small farms in the northwestern São Paulo state, Brazil. Arq. Inst. Biol., 79 (2): 177-183.

Utech, K., Wharton, R., Kerr, J. 1978. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. Aust. J. Agric. Res., 29: 885-895. DOI: 10.1071/AR9780885

Valenzuela, C. 1993. 2 solutions for estimating odds ratios with zeros. Rev Med Chil., 121(12):1441-1444.

Valsoni, L., Green de Freitas, M., Lino- Borges, D., de Almeida, F. 2021. Status of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin, fipronil and fluazuron in Mato Grosso do Sul, Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, 30 (1). DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120201091>

Vargas-Magaña, J., Encalada-Mena, L. 2015. Capítulo: 12 Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. AMPAVE-CONASA: 387-389.

Veríssimo, C., D'Agostino, S., Pessoa, F., de Toledo, L., Miranda-Santos, I. 2015. Length and density of filiform tongue papillae: differences between tick-susceptible and resistant cattle may affect tick loads. Parasit. Vectors., 8: 594. DOI: 10.1186/s13071-015-1196-4

Villar, D., Puerta, J., López, A., Chaparro, J. 2016. Ivermectin resistance of three *Rhipicephalus microplus* populations. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 29: 51-57. DOI: 10.17533/udea.rccp.v29n1a06

Villarroel-Álvarez, M., Rodríguez-Vivas, R., Villegas-Anze, F., Fragoso-Sánchez, H., Ortiz-Nájera, A., Neri-Orantes, S. 2006. Prevalencia de lecherías con *Boophilus microplus* resistentes a piretroides y factores de riesgo asociados a su presencia en el Departamento de Santa Cruz, Bolivia. Téc Pecu Méx., 44(2): 155-167.

Vudriko, P., Okwee-Acai, J., Tayebwa, DS., Byaruhanga, J., Kakooza, S., Wampande, E., Omara, R., Bukeka- Muhindo, J., Tweyongyere, R., Okello, D., Takeshi, H., Naotoshi, T., Umemiya-Shirafuji, R., Xuan, X., Kanameda, M., Fujisaki, K., Hiroshi-Suzuki. 2016. Emergence of multi-acaricide resistant *Rhipicephalus* ticks and its implication on chemical tick control in Uganda. Parasites Vectors 9,4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1278-3>.

Walsh, T., Hecke, D., Wu, Y., Downes, S., Gordon, K., Oakeshott, J. 2022. Determinants of Insecticide Resistance Evolution: Comparative Analysis Among Heliiothines. Annual Review of Entomology, 67: 387-406. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-080421-071655>

Yaima-Yate, J & Díaz-Rivera, E. 2022. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Murrell & Barker, 2003 (Ixodida: Ixodidae) evaluación de la efectividad de acaricidas sobre sus poblaciones en el Tolima medio. Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. Univ., 26: DOI: <https://doi.org/10.17151/bccm.2022.26.1.2>

Yazwinski, T., Featherston, H., Tucker, C., Johnson, Z. 1994. Residual nematocidal effectiveness of ivermectin in Cattle. Am. J. Vet. Res., 55: 1416-1420.

Yazwinski, T., Williams, J.C., Smith, L.L., Tucker, C., Loyacano, A.F., Derosa, A., Peterson, P., Bruer, D.J., Delay, R.L. 2006. Dose determination of the persistent activity of moxidectin long-acting injectable formulations against various nematode species in cattle. Vet. Parasitol., 137: 273–285. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.019>