

Estado actual y estrategias de manejo en la resistencia al tratamiento químico en garrapatas del ganado bovino

Current status and management strategies in resistance to chemical treatment in cattle ticks

Omar Alexander Archila Barrera^{1,2}
Martin Orlando Pulido-Medellín¹
Mónica Alejandra Fernández-Jiménez¹
Diego José García-Corredor¹

Resumen

Las garrapatas del ganado bovino constituyen un obstáculo importante para la producción ganadera en áreas subtropicales, siendo el uso de acaricidas sintéticos el principal método de control, haciendo necesario el desarrollo de estrategias enfocadas a la preservación de su eficacia. Este documento resume el estado actual de la resistencia a acaricidas en diferentes partes del mundo y revisa sus modos de acción, el desarrollo de la resistencia y los factores asociados a este proceso, la diseminación de la resistencia, el manejo de cepas resistentes, las estrategias para prolongar el efecto de los acaricidas, el uso de vacunas, acaricidas sintéticos y botánicos, y la educación de los productores sobre las prácticas recomendadas para el control de garrapatas.

Palabras clave: Resistencia, acaricidas, garrapatas, bovinos.

Abstract

Bovine cattle ticks constitute a major obstacle to livestock production in subtropical areas, with the use of synthetic acaricides being the main method of control, making it necessary to develop strategies aimed at preserving their effectiveness. This paper summarizes the current state of resistance to acaricides in different parts of the world and reviews its modes of action, the development of resistance and the factors associated with this process, dissemination of resistance, management of resistant strains, strategies to prolong the effect of the acaricides, the use of vaccines, synthetic and botanical acaricides, and the producers education on the recommended practices for the control of ticks.

Keywords: Resistance, acaricides, ticks, bovine.

¹ Grupo de Investigación GIDIMEVETZ. Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

² Maestría en Ciencias Veterinarias. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. *
diegojose.garcia@uptc.edu.co

INTRODUCCIÓN

Rhipicephalus microplus, se considera la garrapata del ganado más importante en el mundo, causando grandes pérdidas económicas, pérdida de sangre, estrés general e irritación, disminución de la productividad, depresión de la función inmunológica, daño a las pieles y la transmisión de patógenos (Alim et al, 2012; Valente et al., 2014) como *Babesia bigemina*, *B. bovis* y *Anaplasma marginale* (González et al, 2013). El control de *R. microplus* depende principalmente de la profilaxis a través de quimioterapia con acaricidas (Mendes et al., 2013), los cuales son el principal y más económico mecanismo de control y erradicación de las poblaciones de garrapatas. Sin embargo, con el tiempo se ha generado resistencia a los acaricidas en muchas especies de garrapatas (Harris et al, 1988; Raynal et al, 2013), reduciendo así la capacidad de control que ofrecen, haciendo que el constante monitoreo de las garrapatas en búsqueda del desarrollo de resistencia sea cada vez más importante.

En la búsqueda por evitar el impacto sanitario y económico en las producciones ganaderas y crear mayor conciencia en los productores sobre la amenaza del proceso de resistencia, organizaciones encargadas de la sanidad animal, con patrocinios gubernamentales sobre todo por parte de estados industrializados, junto con la comunidad académica, han desarrollado con mayor frecuencia y en amplias regiones geográficas diversos estudios e informes del estado de la resistencia a los acaricidas (Chen et al., 2007; Rodríguez-Valle et al., 2012a; Molento et al., 2013, Sepulveda et al., 2017). En este artículo se analizan documentos claves que facilitan la comprensión de los aspectos relevantes de la resistencia, sentando las bases conceptuales que permitan establecer posibles mecanismos de control en las diferentes especies de garrapatas resistentes, con especial énfasis en *R. microplus*.

¿QUÉ ES LA RESISTENCIA?

La resistencia es reconocida como una falla en la capacidad para controlar un agente patógeno, pero la definición formal de resistencia se refiere a un cambio en la susceptibilidad de las especies objetivo de un medicamento (Sangster, 2001; Corley et al., 2013). La Organización Mundial de la Salud (1965) ha definido la resistencia como "la capacidad de un parásito para sobrevivir y/o multiplicarse a pesar de la administración y absorción de un fármaco en dosis igual o superior a los normalmente recomendados, pero dentro de los límites de tolerancia del sujeto". Esta ha sido la definición aceptada como base para hablar de la resistencia a los acaricidas.

TIPOS DE RESISTENCIA

Resistencia Adquirida

La resistencia adquirida se define como la "resistencia que resulta de disminuciones hereditarias de la sensibilidad a los fármacos a través del tiempo" (Meyer et al., 2012). Por ejemplo, la resistencia adquirida fue inducida en *Tetranychus Cinnabarinus* contra dos acaricidas después de 42 generaciones de selección con abamectina y 20 generaciones de selección con fenpropetrina, así en ensayos de laboratorio, especímenes de *T. cinnabarinus* desarrollaron una resistencia de 8,7 y 28,7 veces a abamectina y fenpropetrina respectivamente (Lin et al., 2009; Feng et al., 2011).

Existe una relación directa entre la concentración del fármaco y el grado de resistencia; una cepa controlada por una dosis de un fármaco puede mostrar resistencia cuando la concentración del mismo fármaco se modifica (Lees et al., 2013), esto puede permitir la selección inicial de mutantes resistentes a bajos niveles del medicamento (Lin et al., 2009; Faza et al., 2013) derivados de la continua exposición a un acaricida, donde se eliminan continuamente los miembros susceptibles de la población con un aumento exponencial de la proporción de resistentes, es decir, un proceso de selección para la resistencia.

Resistencia Cruzada

La resistencia cruzada es aquella que se presenta a diferentes acaricidas con un modo de acción similar. Se ha demostrado un patrón significativo de resistencia cruzada entre dos organofosforados (Coumaphos y Diazinon) y un carbamato (Carbaryl) en varias cepas de *R. microplus* (Madder et al., 2011; Pérez-González et al., 2014). Tanto los carbamatos como los organofosforados ejercen sus efectos tóxicos mediante la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), una enzima clave y fundamental para la función del sistema nervioso de los artrópodos (Jensen et al., 2011); la insensibilidad de la AChE se considera un mecanismo de resistencia contra carbamatos y organofosforados (Dawkar et al., 2013). La rotación de diferentes grupos de acaricidas que no tienen resistencia cruzada reduce la presión de resistencia a cualquier grupo de acaricidas.

Resistencia Múltiple

La resistencia múltiple es una resistencia a más de un medicamento, aunque tengan diferentes modos de acción. En México, Foil et al. (2004) han demostrado una significativa aparición de resistencia múltiple en *R. microplus* del sur del país a diferentes acaricidas incluyendo hidrocarburos clorados (DDT), piretroides, organofosforados y formamidinas (Amitraz). No es claro si esta resistencia se deba a sitios blanco de mutaciones comunes para los diferentes medicamentos, o si por el contrario pueda ser de origen metabólico (Bielza et al., 2007).

FACTORES INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO DE LA RESISTENCIA

Factores Genéticos

Los factores genéticos de los parásitos incluyen la dominancia de alelos de resistencia, el número de genes implicados, la frecuencia inicial de resistencia, la diversidad genética de la población, la aptitud relativa de organismos resistentes, la probabilidad de desequilibrio de ligamiento y la oportunidad para la recombinación genética. Sutherst y Comins (1979) describieron el génesis de la resistencia en tres pasos: el primero es el establecimiento del segundo paso que es el desarrollo de la resistencia y el tercero es la aparición de la resistencia; en muchos casos, esto sucede porque los genes responsables de la aparición de la resistencia ya estaban presentes en niveles muy bajos en la población de garrapatas antes de la introducción de un nuevo acaricida (Alonso-Díaz et al., 2013).

La frecuencia de los alelos resistentes aumenta con la presión de selección continua de los acaricidas (Rodríguez-Vivas et al., 2011); el tiempo necesario para que los alelos resistentes se establezcan en la población y el control de las garrapatas disminuya depende de muchos factores, entre los que se encuentran: frecuencia de la mutación original en la población antes del tratamiento, el modo de herencia del alelo resistente (Dominante, codominante o recesivo), la frecuencia del tratamiento con acaricidas, el gradiente de concentración del acaricida y la proporción de la población en refugios (es decir, la población de garrapatas no expuestas al acaricida) (Sangster, 2001; Bardosh et al., 2013).

Se conoce que la frecuencia de los genes resistentes inicialmente aumenta con lentitud, sin embargo en el momento en que disminuye la eficacia del tratamiento, la frecuencia de los genes resistentes es alta (Stutzer et al., 2013), así en la fase inicial, la frecuencia de individuos heterocigotos resistentes (un solo alelo que causa la mutación) y la tasa de crecimiento de la población con el alelo resistente son bajos; en los países emergentes la exposición prolongada a un fármaco aumenta la frecuencia de individuos resistentes heterocigotos dentro de la población.

Por último, está la presión de selección sostenida donde hay un número creciente de individuos homocigotos resistentes que en última instancia predominan en la población, donde la selección pudo implicar el desarrollo de un solo gen para la resistencia, pero en lugar de esto se seleccionan varios

genes, a menudo secuencialmente. Sin embargo, los factores genéticos son difíciles de manejar ya que no están bajo el control del ser humano (Chevillon et al., 2013).

Factores Operacionales

Los aspectos operacionales incluyen la naturaleza química del fármaco, la posibilidad de resistencia cruzada, la persistencia de fármacos, la cinética de recepción del fármaco y del huésped, los factores de administración de los medicamentos donde se encuentran el umbral de aplicación y selección, el periodo de vida del medicamento seleccionado, el modo de aplicación, la frecuencia del tratamiento, el número de tratamientos, el uso espacial de los tratamientos y el uso de las formas de control. Otro factor que contribuye a la presentación de resistencia a los acaricidas puede estar influenciado por la subdosificación, que también puede ser el resultado de la mala calidad del medicamento. (Shyma et al., 2012.; Rezende et al., 2013). Los parásitos pueden presentar resistencia al medicamento seleccionado si las poblaciones de parásitos están expuestas a concentraciones de fármacos.

Entre los factores operacionales, el más importante es el uso frecuente del mismo acaricida durante largos periodos de tiempo. Un estudio realizado en Queensland, Australia, mostró que cinco tratamientos por temporada es un factor de riesgo que contribuye a la presentación de resistencia (Jonsson et al., 2000) lo que sugiere que la alta frecuencia de tratamiento predispone a las garrapatas a presentar selección de resistencia; también es importante comprender que el grado de resistencia contra diferentes clases de acaricidas puede variar en diferentes países debido a cambios en la frecuencia de uso, por ejemplo, en garrapatas mexicanas se reportan cepas resistentes a piretroides (Céspedes et al., 2005; Mendes et al., 2007), pero en algunos casos *R. microplus* era resistente a piretroides pero susceptible a Coumaphos (Alonso-Díaz et al., 2013).

A diferencia de los factores genéticos, los factores operacionales pueden ser controlados por un adecuado manejo de los operadores, en particular, educando a los ganaderos sobre el uso racional de los acaricidas.

Factores Biológicos

Los factores biológicos se clasifican como bióticos o conductuales. Los factores bióticos incluyen el tiempo de generación, la descendencia por género y patrones de reproducción. Los aspectos conductuales son aquellos que afectan el flujo de genes y la posibilidad de selección (Abdullah et al., 2012), estos incluyen el aislamiento, la movilidad, la migración, la monofagia o polifagia (rango de huésped), supervivencia fortuita y los refugios.

Los aspectos biológicos están asociados principalmente a la relación huésped-parásito y también influyen en el mecanismo de selección para la resistencia. Por ejemplo, los parásitos que inducen una inmunidad efectiva en sus huéspedes, estarán sometidos a presiones de selección más débiles porque la inmunidad selecciona los parásitos independientemente del estado de resistencia, esto reduce la probabilidad de que sobrevivan parásitos resistentes y la patogenicidad del parásito dependerá de cuántos parásitos se requieren para afectar la producción, y por lo tanto, la frecuencia con que se administren los tratamientos. Ahora bien, se sabe que cuanto mayor sea la proporción de población en refugios, más lenta será la selección para la resistencia (Sangster, 2001; Abdullah et al., 2012).

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ACARICIDAS

Resistencia a los Organoclorados

Los organoclorados han sido utilizados como acaricidas desde 1946, fueron los primeros insecticidas sintéticos que se comercializaron y muchos de ellos se formularon para el control de las garrapatas en el ganado. Los organoclorados actúan sobre el axón nervioso de la garrapata interfiriendo con el

transporte de Na y K prolongando la apertura del canal de Na por inhibición de la Ca⁺⁺ ATP-asa provocando una descompensación en el parásito (Corley et al, 2012), causando hiperexcitación que provoca la muerte. Algunos investigadores han demostrado la unión de los organoclorados en el sitio de la picrotoxina en el que el t-butilbiciclofosforotionato (TBPS) también se une lo que puede llevar a procesos de resistencia cruzada; los mecanismos de resistencia han sido sugeridos como una mejora en el metabolismo y la reducción de la absorción del producto químico (Tanaka et al., 1984; Zheng et al., 2003).

Resistencia Contra los Organofosforados y Carbamatos

Los organofosforados (OP) fueron uno de los primeros grupos utilizados para controlar los arácnidos. Tanto los OP como los carbamatos ejercen sus efectos tóxicos en las garrapatas al inhibir la AChE, una enzima vital para la función del sistema nervioso (Faza et al, 2013). Cuando las garrapatas se envenenan con un inhibidor de la colinesterasa, la colinesterasa no está disponible para ayudar a descomponer la acetilcolina provocando que la neurona permanezca con su carga eléctrica activa, esto resulta en la estimulación excesiva del sistema nervioso causando la muerte del parásito.

El primer indicio de disminución en la sensibilidad de garrapatas a los OPs ocurrió a principios de los años 50. Desde entonces, estos parásitos han desarrollado resistencia a más de 30 OP y carbamatos en 40 países (Arivalagan et al., 2013) . La insensibilidad del sitio blanco de acción en las garrapatas parece ser el mecanismo más común que provoca la resistencia a OPs. En 1964, Smitsaert fue el primero en identificar la asociación de la insensibilidad a la AChE con la resistencia a organofosforados, desde entonces, la insensibilidad de la AChE ha sido considerada el mecanismo principal para la presencia de resistencia a este grupo farmacológico en todo el mundo (Lwande et al., 2012).

La resistencia de *R. microplus* a OPs como el coumaphos, el clorpirifos y el clorfenvinfos debido a la insensibilidad de la AChE se considera como el mecanismo de resistencia más importante en cepas de garrapatas mexicanas (Pérez-González et al, 2014). Los mecanismos moleculares de la resistencia a OPs son claros y han sido ampliamente revisados en insectos (Carvalho et al, 2013), hasta la fecha, mutaciones puntuales han sido identificadas como la causa de resistencia a OPs; tres secuencias modificadoras de AChE han sido reportadas en *R. Microplus* (Temeyer et al, 2004; Aizoun et al., 2013). Seis Mutaciones en BmAChE3 fueron identificados en *R. microplus* resistente a OPs (Temeyer et al., 2007), una sustitución de glutamina por arginina en la posición 86 en BmAChE3 fue la mutación más común (Feng et al, 2011; Corley et al, 2013). Temeyer et al (2007) observaron además, que la frecuencia de esta mutación fue mayor en cepas de garrapatas resistentes a OPs comparado con el de las cepas OPs susceptibles; sin embargo ninguna de las mutaciones fue suficiente para producir un fenotipo OP resistente porque fueron encontrados homocigotos susceptibles para las seis mutaciones.

Resistencia Contra Amidinas (Amitraz)

El Amitraz es una clase de amidina compuesta de triazapentadieno. Este ha sido un tratamiento eficaz contra las garrapatas del ganado bovino y ha sido utilizado por más de 30 años, pero con poblaciones resistentes reportadas (Chevillon et al., 2007; Mendes et al., 2013); el modo de acción del amitraz basa sus efectos tóxicos en el neuromodulador octopamina, además de ser un inhibidor de la monoaminooxidasa, enzima que participa en la síntesis de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina, que son los encargados de estimular la placa muscular y la placa nerviosa) causando parálisis (Gong et al, 2013). Corley et al (2013) encontraron dos sustituciones de nucleótidos en receptores de octopamina en las cepas resistentes de garrapatas que dan como resultado ácidos diferentes a los de cepas susceptibles. Se considera esto como la primera evidencia de la posibilidad

de un objetivo alterado como mecanismo de resistencia al amitraz, sin embargo el mecanismo exacto es aún desconocido (Pohl et al., 2012).

Resistencia Contra Piretrinas / Piretroides

Las piretrinas son compuestos de origen natural derivados de los miembros de la familia del crisantemo, los cuales tienen un efecto de eliminación rápida en arácnidos, pero son inestables en el medio ambiente y no pueden permanecer activos el tiempo suficiente para ejercer su efecto. Los piretroides son sintéticos, adaptaciones de las piretrinas, diseñados específicamente para ser estables y tener efectos prolongados. Tanto las piretrinas como los piretroides son potentes neurotoxinas que actúan sobre los canales iónicos de sodio y provocan la excitación nerviosa como resultado de cambios en la permeabilidad de iones de sodio y potasio en la membrana nerviosa (Weston et al., 2013).

La participación de esterasas (Baffi et al., 2007; Li et al., 2013), P450 (Chevillon et al., 2007) y glutatión S-Transferasas (Konus et al., 2013) en la resistencia a los piretroides ha sido demostrada en muchas especies de garrapatas. Miller et al. (1999) encontró dos poblaciones resistentes a piretroides, que además presentaban resistencia al DDT. Los sinergistas no aumentaron la susceptibilidad de estas poblaciones, sugiere que la biotransformación está implicada en el proceso. La resistencia mediada por el sitio objetivo fue confirmada por Frank et al. (2013), quienes descubrieron una mutación en el canal de iones Na⁺, la cual disminuye sustancialmente la sensibilidad a los piretroides. Esta mutación también se ha presentado en garrapatas de México, Australia y Brasil (Miller et al., 2013).

Resistencia Contra las Lactonas Macroclínicas

Las lactonas macroclínicas incluyen las avermectinas y milbemicinas, que son productos de fermentación de actinomicetos del género *Streptomyces*. Las avermectinas son producidas por el microorganismo *Streptomyces avermitilis*, que fue aislado en 1976 a partir de una muestra de suelo en Japón (Campbell et al., 1984). Las milbemicinas se describieron por primera vez en un cultivo de *Streptomyces hygroscopicus* y son estructuralmente similares a las avermectinas pero carecen del disacárido C13 (Takiguchi et al., 1980).

Las lactonas macroclínicas bloquean la transmisión eléctrica de la actividad nerviosa y de las células musculares, estimulando la liberación y unión de ácido gamma-aminobutírico (GABA) en las terminaciones nerviosas, esto provoca una afluencia de iones cloruro en las células, causando hiperpolarización y posterior parálisis de los sistemas neuromusculares (Martin et al., 2012; Morenos-Morales et al., 2015); las lactonas macroclínicas se han utilizado eficazmente en el control de *R. microplus* (Aguilar-Tipacamu y Rodríguez-Vivas, 2003; Lopes et al., 2013).

Debido al uso intensivo, la resistencia ha sido parcial en *R. microplus*, sin embargo el mecanismo exacto es todavía desconocido tanto en garrapatas como en ácaros parásitos; sin embargo, basado en el mecanismo de resistencia contra lactonas macroclínicas en nematodos, la resistencia en las garrapatas y los ácaros podría deberse a la insensibilidad del sitio diana del GABA o por canales de iones cloruro bloqueados (Lovic et al., 2013).

MANEJO DE LA RESISTENCIA

Uso Racional de Acaricidas

El conocimiento sobre el monitoreo, la rotación y el uso de la asociación de acaricidas puede ayudar a conservar la eficacia de los compuestos existentes.

Monitoreo Regular

La vigilancia puede convertirse en un elemento que disminuya el desarrollo de resistencia. Normalmente se sugiere la administración de acaricidas cada 3 semanas durante temporadas de alta infestación en zonas donde la resistencia es común (Sugimoto y Osakabe, 2013), pero la alta frecuencia de aplicación de un acaricida es un factor de riesgo para la aparición de cepas resistentes; por lo tanto se recomienda que los tratamientos con acaricidas no excedan de cinco por temporada (Jonsson et al., 2000; Thullner et al., 2007). Se sugiere que los casos de resistencia observados en campo sean confirmados en laboratorio y se asocien con los métodos de manejo aplicados, igualmente para reducir el desarrollo de resistencia, es ideal conocer la especie de garrapata presente y la presencia o ausencia de resistencia antes de la selección del principio activo a utilizar.

Rotación de Acaricidas

La rotación o alternancia de acaricidas que tienen diferentes modos de acción reduce la presión de selección; sin embargo, existen hasta ahora pocos trabajos de laboratorio sobre los beneficios o efectos de la rotación de acaricidas, en términos del desarrollo de una fuerte resistencia en poblaciones que previamente tenían un bajo nivel de esta. Thullner et al (2007) encontraron que en una cepa de *R. microplus* en una explotación donde sólo se había usado deltametrina presentaba un proceso de resistencia muy alto (factor de resistencia [FR] = 756) después de 11 generaciones, mientras que en una cepa donde se había rotado el mismo medicamento con coumaphos, el proceso de resistencia fue muy bajo (FR = 1,6) después de 10 generaciones; por el momento se requieren más investigaciones para evaluar los efectos beneficiosos de la rotación o alternancia de acaricidas de importancia veterinaria (Adakal et al., 2013).

Sin embargo, la rotación de acaricidas es costosa y no es fácil de practicar; no hay evidencia de qué tiempo debe esperarse o utilizarse entre los cambios de medicamentos, aunque la mayor parte de los médicos veterinarios sugieren que esto no debe ser menor de dos años (Maggi et al., 2011); mientras que otros afirman que retirar por un tiempo un medicamento sobre el cual hay indicios de resistencia puede devolverle la efectividad al fármaco en usos posteriores (Gharbi et al., 2013).

Uso de Combinaciones de Acaricidas

El uso de mezclas de acaricidas es un enfoque atractivo para retrasar la aparición de resistencia (Lovis et al., 2013), el cual se basa en la probabilidad de que un individuo no tendrá alelos resistentes a dos químicos con diferentes mecanismos de acción. Esta estrategia ha sido aplicada en Sudáfrica y los modelos de simulación realizados indican que es una estrategia que tiene buenos resultados. Asimismo, Fernández-Salas et al (2012) valoraron el efecto sinérgico del amitraz y la permetrina contra una cepa de *R. microplus* resistente a permetrina en México; la permetrina no causó alta mortalidad en la cepa resistente incluso a la concentración más alta, pero la adición de amitraz llevó a un aumento dramático en la mortalidad de larvas. En esta estrategia, los productos químicos que se combinen deben ser compatibles, utilizados durante el mismo periodo de tiempo y en las concentraciones recomendadas.

Vacunación

La vacunación puede mejorar el estado inmunitario de los animales y es considerada una herramienta importante para el control de las garrapatas. Existen vacunas contra garrapatas comercialmente disponibles y que están aprobadas para su uso fuera de Estados Unidos, entre las que se incluyen Gavac[®] (Heber Biotec, La Habana, Cuba), TickGARD (Hoechst Sanidad Animal, Australia), y TickGARD PLUS (Intervet Australia; Australia), las cuáles se basan en la forma recombinante del antígeno oculto Bm86, obtenido a partir del intestino de *R. microplus* (Freeman et al., 2010). Recientes investigaciones están proporcionando nuevos visos de que el objetivo no se restringe a un número pequeño de especies de garrapatas, ya que se han obtenido resultados exitosos en *Boophilus*

annulatus (Popara et al, 2013), *Hyalomma anatolicum* y *H. dromedarii* (Nabian et al., 2013). En campo, se han obtenido resultados prometedores mediante el uso de solo vacunas (Shahein et al, 2013; Stutzer et al., 2013) o su combinación con acaricidas (Olds et al., 2012).

Sin embargo, las pruebas de campo de la vacuna Tick-GARD (producida en Australia) en algunas áreas de Brasil revelaron que por sí sola, no era capaz de controlar la garrapata (Pereira et al., 2008). Esto supone que la eficacia de la vacuna cambia de una zona a otra debido a la variación de cepas, es decir que una vacuna contra garrapata producida a partir de las cepas de Australia podría no ser eficaz contra las cepas brasileñas. Una posible razón para la variación en la eficacia de la vacuna es la divergencia de la secuencia de aminoácidos presentes en el Bm86 recombinante que compone la vacuna y los presentes en el Bm86 nativo expresado en garrapatas de diferentes regiones geográficas del mundo (Freeman et al., 2010). Por lo tanto, los ensayos preliminares para determinar la eficacia de la vacuna es un requisito previo antes de utilizarla como producto comercial en una nueva zona geográfica.

El uso racional de las vacunas en combinación con la quimioterapia es necesario para reducir la necesidad de utilización de acaricidas, llevando así al retraso en la aparición de resistencia en los productos de uso común.

Manejo Nutricional

La deficiencia de proteína y energía es una causa importante de la disfunción y reacción defectuosa de las células T, las cuales han demostrado jugar un papel fundamental en la mediación de la resistencia adquirida a garrapatas (Maharana et al., 2011; Wikel, 2013). En un estudio experimental, conejos y ovejas fueron expuestos a dietas bajas y altas en proteínas y posteriormente fueron infestados con adultos de *Rhipicephalus appendiculatus* y *R. evertsi evertsi*. Los animales mantenidos con dieta baja en proteína no pudieron adquirir resistencia a las garrapatas, perdieron peso y desarrollaron anemia, mientras que aquellos con dieta alta en proteína desarrollaron resistencia, mantuvieron el peso y no desarrollaron anemia. Además, hubo una disminución significativa en las ganancias de peso de las hembras repletas de ambas especies de garrapatas en animales alimentados con niveles altos de proteína, en comparación con los alimentados con bajos niveles proteicos (Rechav y Hay, 1992).

En razas de ganado naturalmente resistente a las garrapatas (es decir, *Bos indicus* y sus cruces), los linfocitos T Efectores de Memoria (TEM) parecen ser el factor más importante en la regulación de esta resistencia (Maryam et al., 2012). Un ensayo de campo en Queensland (Australia), evidenció que la alimentación de los animales con pastos de baja calidad daba origen a una pérdida significativa de resistencia en novillos y vaquillas *Bos taurus* y *B. indicus* x *Bos taurus* a *R. microplus* (Tolleson et al., 2010) retrasando también su recuperación.

Uso de Productos Botánicos

Debido al alto costo de creación y fabricación de nuevos fármacos y vacunas, el desarrollo de resistencia y las preocupaciones sobre el efecto de los residuos generados por el uso continuo de medicamentos (Ahmad et al, 2012.; Abbas et al., 2014a), hay un interés cada vez mayor en el uso de productos botánicos para conseguir de forma segura, eficaz y económica el control de garrapatas en las ganaderías; la aplicación de productos botánicos en el ganado con el fin de controlar ectoparásitos, es una práctica importante en la medicina veterinaria sobre todo en países en desarrollo (Babar et al., 2012).

Es claro que hay muchos productos botánicos que pueden matar las garrapatas o inhibir la oviposición, entre las que se incluyen *Gutierrezia* spp. (Miller et al., 1995), *Pimenta dioica* (Brown et al., 1998), *Gynandropsis gynandra* (Lwande et al., 1999), *Stylosanthes scabra* (Khudrathulla y Jagannath, 2000),

Eucalyptus spp. (Chagas et al., 2002), *Copaifera reticulada* (Fernandes y Freitas, 2007) y *Lippia javanica* (Madzimure et al., 2011).

Muchos de los trabajos mencionados apoyan la sugerencia de muchos botánicos acerca del potencial que tienen las plantas para ser utilizadas en el control de garrapatas. Por lo tanto, en algunos países hay formulaciones a base de plantas disponibles comercialmente como MyggA® Natural y Citriodiol®, que están siendo utilizadas para el control de garrapatas (Gardulf et al., 2004; Freitag y Kells, 2013). MyggA® Natural (Bioglan, Lund, Suecia), contiene 30% de aceite de *Corymbia citriodora* con mínimo 50% de p-mentano-3,8-diol (PMD), un ingrediente activo de repelentes comerciales para mosquitos. Por otro lado Citriodiol® (Citrefine International Limited) contiene 64% de PMD (Abbas et al., 2014b).

Otra alternativa es el cultivo de forrajes que repelen o no favorecen el desarrollo de las garrapatas. Algunas especies reconocidas por inhibir el desarrollo de las garrapatas son *Stylosanthes* spp., *Melinis minutiflora* y *Andropogon gayanus*, pero el principal inconveniente de este tipo de especies de gramíneas es que no tienen las características nutricionales adecuadas para el ganado bovino (Soares et al, 2010).

Mejoramiento de la Resistencia Genética en el Ganado

Durante mucho tiempo se ha documentado que algunas razas de ganado son menos susceptibles a las garrapatas (Solomon y Kaaya, 1996; Uilenberg, 1999), tal resistencia natural se debe a la capacidad de los animales para responder inmunológicamente a la infestación. La mejora en el manejo y control de la garrapata mediante la utilización de razas resistentes a la misma, ha sido demostrada en diversas partes del mundo, pero es más manifiesta en ganado cebú y sus cruces (Ayres et al, 2013.; Rodríguez-Valle et al., 2013); debido a esto, en algunos países que tienen problemas graves por la presencia de garrapatas, el ganado *Bos indicus* está siendo reemplazado con razas cebuínas, pero también han desarrollado líneas *B. indicus* resistentes (Frisch et al., 2000; Rodríguez-Valle et al., 2012). En general, el ganado resistente requiere uno o dos tratamientos por temporada, frente a los tres o cuatro realizados en razas susceptibles; la combinación de ganado resistente y pastos para el control de garrapata puede eliminar la necesidad de tratamiento químico por completo (Sutherst et al., 1979).

Manejo ambiental

Quema de Pastos

En países como Sudáfrica (Spickett et al., 1992) y Estados Unidos (Cully, 1999) la quema de pasto para inducir el “sofoco o nivelado verde” es ampliamente utilizado para el control de las garrapatas, sin embargo, la quema de pastos de forma rutinaria puede ser difícil para los productores de ganado de escasos recursos en países en desarrollo.

Rotación de Potreros

Consiste en el manejo de los pastos manteniendo las áreas de pastoreo libre de ganado hasta que las larvas mueren. La rotación en conjunto con la aplicación de acaricidas químicos ha demostrado alta eficacia en el control de garrapatas del ganado (Stachurski y Adakal, 2010). Barnard et al. (1994) estudiaron una serie de estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) para *Amblyoma americanum* en superficies forrajeras utilizadas por *Bos taurus*, *B. indicus* y su cruce por un periodo de cinco años. La rotación de potreros combinada con la aplicación de acaricidas fue el MIP más viable desde el punto de vista económico, además de ocasionar la reducción de la carga de garrapatas entre el 77% al 89%. Al igual que la quema de pastos, la rotación de potreros es de difícil aplicabilidad para los productores de escasos recursos

Manejo de Hábitat

Se supone que los corrales, en particular en países tropicales subtropicales, aumentan la posibilidad de generar altas tasas de infestación debido a la presentación de ambientes idóneos para el desarrollo y la presencia de larvas de garrapatas (Céspedes et al., 2005), pero el riesgo de infestaciones por garrapata en sistemas de ganadería intensiva pueden reducirse haciendo el medio ambiente inadecuado para las etapas de vida libre de la garrapata. Los principales factores a tener en cuenta son una buena ventilación, limpieza rutinaria, eliminación de fuentes ocultas, óptima densidad animal, disminución de estrés y buena alimentación y manejo del agua. Además, es importante la eliminación o exclusión de animales de vida silvestre que puedan albergar garrapatas comunes o poco comunes a la explotación ganadera, por ejemplo se sugiere evitar la crianza de búfalo junto con el ganado bovino (Young et al., 1988).

Pruebas de Diagnóstico de Resistencia

Los bioensayos *in vitro* más utilizados para realizar pruebas de resistencia son la prueba de paquete de larvas (PPL) (FAO, 1984), la prueba de inmersión de larvas (PIL) (Shaw, 1966) y la prueba de inmersión de adultas (PIA) (Drummond et al., 1973). En la PPL, las larvas de garrapatas están expuestas a papeles de filtro impregnados con productos químicos, la mortalidad es cuantificada después de 24 horas. En la PIL, las larvas de garrapata de 7 a 10 días de edad se sumergen en diferentes diluciones del acaricida; los resultados son evaluados 24 horas después de cada tratamiento contando el número de larvas vivas y muertas. Por último, en la PIA las respuestas de mortalidad de las garrapatas a las diferentes dosis de los acaricidas se determinan mediante el tratamiento de hembras repletas con una variedad de diluciones de un acaricida, donde además se mide y evalúa el efecto del producto en los parámetros reproductivos del parásito.

Estos bioensayos se destacan por su fácil aplicabilidad y bajo costo; sin embargo, estas pruebas no proporcionan información directa sobre el mecanismo genético de resistencia presente en el parásito, no son lo suficientemente sensibles como para detectar el desarrollo o inicio de procesos de resistencia y toman mucho tiempo para obtener resultados. Para estos casos, es útil la utilización de pruebas sensibles y rápidas que podrían realizarse en una sola garrapata y que también podrían orientar la selección de un acaricida que efectivo y adecuado en un programa de manejo de la resistencia, así ensayos basados en PCR están siendo diseñados para ser aplicados en un solo día y determinar el mecanismo específico de resistencia, aplicándolo sobre cada individuo a partir de larvas completas, hemolinfa o el exoesqueleto de la garrapata (Carvalho et al., 2013).

Además de proporcionar la base molecular de resistencia a los acaricidas, estos ensayos están diseñados para generar información útil para los programas de manejo de la resistencia. Cuando la gama de pruebas moleculares esté disponible, la prueba inicial detección de la resistencia se podrá hacer mediante ensayos de PCR, seguido de la prueba de paquete de larvas si se desea, esto permitirá la rápida selección del mejor acaricida de acuerdo a la particularidad de la explotación que se esté manejando (Aïzoun et al., 2013)

CONCLUSIONES

Una serie de métodos que van desde la inmersión hasta la inyección de acaricidas sistémicos están disponibles para el tratamiento de la infestación por garrapatas en el ganado bovino, pero

independientemente de cualquier procedimiento utilizado, los productores necesitan ser entrenados en la correcta aplicación para maximizar los beneficios del tratamiento. El monitoreo regular del desarrollo de resistencia a los diferentes acaricidas por parte de las garrapatas juega un papel fundamental en el manejo de la misma y ayuda en la eficaz y correcta elección del medicamento a utilizar. Se recomienda el uso de vacunas en combinación con acaricidas sintéticos o botánicos, además de educar a los productores mediante programas de extensión sobre las medidas de control estratégico de garrapatas.

REFERENCIAS

Abbas, R.Z., Colwell, D.D., Iqbal, Z., Khan, A. 2014a. Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management. *Worlds Poult. Sci. J* 70: 113–124.

Abbas, A., Abbas, R.Z., Khan, J.A., Iqbal, Z., Bhatti, M.M.H., Sindhu, Z.U.D., Zia, M.A. 2014b. Integrated strategies for the control and prevention of dengue vectors with particular reference to *Aedes aegypti*. *Pak. Vet. J* 34: 1–10.

Abdullah, S., Yadav, C.L., Vatsya, S. 2012. Esterase profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations collected from Northern India exhibiting varied susceptibility to deltamethrin. *Exp. Appl. Acarol* 58: 315–325.

Adakal, H., Stachurski, F., Chevillon, C. 2013. Tick control practices in Burkina Faso and acaricide resistance survey in *Rhipicephalus (Boophilus) geigyi* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol* 59: 483–491.

Aguilar-Tipacamu, G., Rodríguez-Vivas, R.I. 2003. Effect of moxidectin against natural infestation of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol* 111: 211–216.

Ahmad, L., Khan, A., Khan, M.Z. 2012. Pyrethroid-induced reproductive toxicopathology in non-target species. *Pak. Vet. J* 32: 1–9.

Aïzoun, N., Aïkpon, R., Gnanguenon, V., Oussou, O., Padonou, G.G., Akog-béto, M., Agossa, F.F. 2013. Status of organophosphate and carbamate resistance in *Anopheles gambiae sensu lato* from the south and north Benin, West Africa. *Parasit. Vect* 6: 274.

Alim, M.A., Das, S., Roy, K., Masuduzzaman, M., Sikder, S., Hassan, M.M., Siddiki, A.Z., Hossain, M.A. 2012. Prevalence of hemoprotozoan diseases in cattle population of Chittagong division, Bangladesh. *Pak. Vet. J* 32: 221–224.

Alonso-Díaz, M.A., Fernández-Salas, A., Martínez-Ibanez, F., Osorio-Miranda, J. 2013. *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) tick populations susceptible or resistant to acaricides in the Mexican Tropics. *Vet. Parasitol* 197: 326–331.

Arivalagan, M., Gangopadhyay, K.K., Kumar, G. 2013. Determination of steroidal saponins and fixed oil content in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) genotypes. *Indian J. Pharm. Sci.* 75: 110–113.

Ayres, D.R., Pereira, R.J., Boligon, A.A., Silva, F.F., Schenkel, F.S., Roso, V.M., Albuquerque, L.G. 2013. Linear and Poisson models for genetic evaluation of tick resistance in cross-bred Hereford × Nelore cattle. *J. Anim. Breed. Genet* 130: 417–424.

Baffi, M.A., de Souza, G.R.L., Vieira, C.U., de Sousa, C.S., Goullart, L.R., Bonetti, A.M. 2007. Identification of point mutations in a putative carboxylesterase and their association with acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol* 148: 301–309.

Babar, W., Iqbal, Z., Khan, M.N., Muhammad, G. 2012. An inventory of the plants used for parasitic ailments of animals. *Pak. Vet. J* 32: 183–187.

Bardosh, K., Waiswa, C., Welburn, S.C. 2013. Conflict of interest: use of pyrethroids and amidines against tsetse and ticks in zoonotic sleeping sickness endemic areas of Uganda. *Parasit. Vect* 6: 204.

Barnard, D.R., Mount, G.A., Haile, D.G., Daniels, E. 1994. Integrated management strategies for *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) on pastured beef cattle. *J. Med. Entomol* 31: 571–585.

Bielza, P., Espinosa, P.J., Quinto, V., Abellan, J., Contreras, J. 2007. Synergism studies with binary mixtures of pyrethroid, carbamate and organophosphate insecticides on *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Manage. Sci* 63: 84–89.

Brown, H.A., Minott, D.A., Ingram, C.W., Williams, L.A.D. 1998. Biological activities of the extracts and constituents of pimento, *Pimenta dioica* L. against the southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Sci. Appl* 18: 9–16.

Campbell, W.C., Burg, R.W., Fisher, M.H., Dybas, R.A. 1984. The discovery of ivermectin and other avermectins. In: Kohn, P.S., Menn, G.K. (Eds.), *Pesticide Synthesis Through Rational Approaches*. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 5–20.

Carvalho, R.A., Omoto, C., Field, L.M., Williamson, M.S., Bass, C. 2013. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PLoS ONE* 8 (4), e62268, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062268>.

Céspedes, N.S., Cruz, R.R., Vargas, M.S., Vazquez, Z.G. 2005. General esterase activity variation in the cattle tick *Boophilus microplus* and its relationship with organophosphate resistance. *Téc. Pecu. Méx* 43: 239–246.

Chagas, A.C.S., Passos, W.M., Prates, H.T., Leitern, R.C., Furlong, J., Fortes, I.C.P. 2002. Acaricide effect of *Eucalyptus* spp. essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci* 39: 247–253.

Chevillon, C., de Garine-Wichatitsky, M., Barre, N., Ducornez, S., de Meeus, T. 2013. Understanding the genetic, demographical and/or ecological processes at play in invasions: lessons from the southern cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol* 59: 203–218.

Corley, S.W., Piper, E.K., Jonsson, N.N. 2012. Generation of full-length cDNAs for eight putative GPCnR from the cattle tick, *R. microplus* using a targeted degenerate PCR and sequencing strategy. *PLoS ONE* 7. e32480.

Corley, S.W., Jonsson, N.N., Piper, E.K., Cutullé, C., Stear, M.J., Seddon, J.M. 2013. Mutation in the Rm_AOR gene is associated with amitraz resistance in the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.

Cully, J.F. 1999. Lone star tick abundance, fire and bison grazing in tallgrass prairie. *J. Range Manage* 52: 139–144.

Drummond, R.O., Ernst, S.E., Trevino, J.L., Gladney, W.J., Graham, O.H. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol* 66: 130–133.

FAO. 1984. Ticks and Tick Borne Disease Control. A Practical Field Manual, vol. I. Tick Control, Rome. pp. 299.

Faza, A.P., Pinto, I.S., Fonseca, I., Antunes, G.R., Monteiro, C.M., Daemon, E., Muniz Mde, S., Martins, M.F., Furlong, J., Prata, M.C. 2013. A new approach to characterization of the resistance of populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to organophosphate and pyrethroid in the state of Minas Gerais. *Brazil. Exp. Parasitol* 134: 519–523.

Feng, Y.N., Zhao, S., Sun, W., Li, M., Lu, W.C., He, L. 2011. The sodium channel gene in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval): identification and expression analysis of a mutation associated with pyrethroid resistance. *Pest Manage. Sci* 67: 904–912.

Fernandes, F.F., Freitas, E.P.S. 2007. Acaricidal activity of an oleoresin extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol* 147: 150–154.

Fernández-Salas, A., Roger Iván Rodríguez-Vivas, Miguel, Á.A.D. 2012. Resistance of *Rhipicephalus microplus* to amitraz and cypermethrin in tropical cattle farms in Veracruz, Mexico. *J. Parasitol* 98: 1010–1014.

Foil, L.D., Coleman, P., Eisler, M., Fragoso-Sanchez, H., Garcia-Vazquez, Z., Guerrero, F.D., Jonsson, N.N., Langstaff, I.G., Li, A.Y., Machila, N., Miller, R.J., Morton, J., Pruett, J.H., Torr, S. 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol* 125: 163–181.

Frank, D., Rinkevich, Y.D., Ke, D. 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pestic. Biochem. Physiol* 106: 93–100.

Freeman, J.M., Davey, R.B., Kappmeyer, L.S., Kammlah, D.M., Olafson, P.U. 2010. Bm86 midgut protein sequence variation in South Texas cattle fever ticks. *Parasit. Vect* 3: 101.

Freitag, J.A., Kells, S.A. 2013. Efficacy and application considerations of selected residual acaricides against the mold mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) in simulated retail habitats. *J. Econ. Entomol* 106: 1920–1926.

Gharbi, M., Flegg, J.A., Hubert, V., Kendjo, E., Metcalf, J.E., Bertaux, L., Guerin, P.J., Le Bras, J., Aboubaca, A., Agnamey, P., Angoulvant, A., et al. 2013. Longitudinal study assessing the return of chloroquine susceptibility of *Plasmodium falciparum* in isolates from travellers returning from West and Central Africa, 2000–2011. *Malar. J* 12: 35.

Gardulf, A., Wohlfart, I., Gustafson, R. 2004. A prospective cross-over field trial shows protection of lemon Eucalyptus extract against tick bites. *J. Med. Entomol* 41: 1064–1067.

Gong, Y., Li, T., Zhang, L., Gao, X., Liu, N. 2013. Permethrin induction of multiple cytochrome P450 genes in insecticide resistant mosquitoes, *Culex quinquefasciatus*. *Int. J. Biol. Sci* 9: 863–871.

González, A.M., Rojas, E.F., Pulido-Medellín, M.O., Garcia-Corredor, D.J. Correlación entre hemograma y frotis sanguíneo para determinar *E. canis* en la vereda Peñitas de Puente Nacional. *Ciencia y Agricultura* 10 (1): 17-23.

Harris, R.L., George, J.E., Ahrens, E.H., Davey, R.B., Bazan, H.O. 1988. Selection for resistance to coumaphos in a strain of southern cattle tick (Acari: Ixodidae). *J. Econ. Entomol* 81: 545–548.

Jensen, H.K., Konradsen, F., Jors, E., Petersen, J.H., Dalsgaard, A. 2011. Pesticide use and self-reported symptoms of acute pesticide poisoning among aquatic farmers in Phnom Penh, Cambodia. *J. Toxicol* 639814, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/639814>.

Jonsson, N.N., Mayer, D.G., Green, P.E. 2000. Possible risk factors on Queensland dairy farms for acaricide resistance in cattle tick (*Boophilus microplus*). *Vet. Parasitol* 88: 79–92.

Khudrathulla, M., Jagannath, M.S. 2000. Effect of methanol extract of *Stylosanthes scabra* on ixodid ticks of animals. *Indian J. Anim. Sci* 70: 1057–1058.

Lees, K., Jones, A.K., Matsuda, K., Akamatsu, M., Sattelle, D.B., Woods, D.J., Bowman, A.S. 2013. Functional characterisation of a nicotinic acetyl-choline receptor alpha subunit from the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Int. J. Parasitol* 44: 75–81.

Lin, H., Chuan-hua, X., Jin-jun, W., Ming, L., Wen-cai, L., Zhi-mo, Z. 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval). *Pestic. Biochem. Physiol* 93: 47–52.

Lopes, W.D., Teixeira, W.F., de Matos, L.V., Felippelli, G., Cruz, B.C., Maciel, W.G., Buzzulini, C., Favero, F.C., Soares, V.E., de Oliveira, G.P., DaCosta, A.J. 2013. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. *Exp. Parasitol* 135: 72–78.

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

Lwande, W., Ndakala, A.J., Hasanali, A., Moreka, L., Nyandat, E., Ndungu, M., Amiani, H., Gitu, P.M., Malonza, M.M., Punyua, D.K. 1999. Gynandrop-sis gynandra essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. *Phytochemistry* 50: 401–405.

Lwande, O.W., Irura, Z., Tigoi, C., Chepkorir, E., Orindi, B., Musila, L., Ven-ter, M., Fischer, A., Sang, R. 2012. Seroprevalence of Crimean Congo hemorrhagic fever virus in Ijara District, Kenya. *Vect. Borne Zoonotic Dis* 12: 727–732.

Madder, M., Thys, E., Achi, L., Toure, A., De Deken, R. 2011. Rhipicephalus(Boophilus) microplus: a most successful invasive tick species in West-Africa. *Exp. Appl. Acarol* 53: 139–145.

Madzimure, J., Nyahangare, E.T., Hamudikuwanda, H., Hove, T., Stevenson, P.C., Belmain, S.R., Mvumi, B.M. 2011. Acaricidal efficacy against cattleticks and acute oral toxicity of Lippia javanica (Burm F.) Spreng. *Trop.Anim. Health Prod* 43: 481–489.

Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Mendoza, Y., Ojeda, P., Ramallo, G., Floris, I., Eguaras, M.J. 2011. Susceptibility of Varroa destructor (Acari: Var-roidae) to synthetic acaricides in Uruguay: Varroa mites' potential to develop acaricide resistance. *Parasitol. Res* 108: 815–821.

Maharana, B.R., Baithalu, R.K., Allaie, I.M. 2011. Mechanism of immunity to tick infestation in Livestock. *Vet. World* 4: 131–135.

Martin, R.J., Buxton, S.K., Neveu, C., Charvet, C.L., Robertson, A.P. 2012. Emodepside and SLO-1 potassium channels: a review. *Exp. Parasitol* 132: 40–46.

Maryam, J., Babar, M.E., Nadeem, A., Hussain, T. 2012. Genetic variants in interferon gamma (IFN-gamma) gene are associated with resistance against ticks in Bos taurus and Bos indicus. *Mol. Biol. Rep* 39; 4565–4570.

Mendes, M.C., Pereira, J.R., Prado, A.P. 2007. Sensitivity of Boophilus microplus (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate infarms in The Vale Do Paraiba Region SAO Paulo. *Brazil. Arq. Inst. Biol* 74: 81–85.

Mendes, E.C., Mendes, M.C., Sato, M.E. 2013. Diagnosis of amitraz resistance in Brazilian populations of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) with larval immersion test. *Exp. Appl. Acarol* 61: 357–369.

Meyer, J.M., Ejendal, K.F., Avramova, L.V., Garland-Kuntz, E.E., Giraldo-Calderon, G.I., Brust, T.F., Watts, V.J., Hill, C.A. 2012. A genome-to-lead approach for insecticide discovery: pharmacological characterization and screening of Aedes aegypti D (1)-like dopamine receptors. *PLoS Neglect. Trop. Dis* 6: e1478.

Miller, R.J., Byford, R.L., Smith, G.S., Craig, M.E., Vanleeuwen, D. 1995. Influence of snakeweed foliage on engorgement, fecundity and attachment of the lone star tick (Acari: Ixodidae). *J. Agri. Entomol* 12: 137–143.

Miller, R.J., Davey, R.B., George, J.E. 1999. Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican Boophilus microplus (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol* 36: 533–538.

Miller, R.J., Almazan, C., Ortiz-Estrada, M., Davey, R.B., George, J.E., De Leon, A.P. 2013. First report of fipronil resistance in Rhipicephalus (Boophilus) microplus of Mexico. *Vet. Parasitol* 191: 97–101.

Moreno-Morales, J.C., Andrade-Becerra, R.J., Pulido-Medellín, M.O. 2015. Cuantificación de ivermectina eliminada en materia fecal de novillos tratados. *Ciencia y Agricultura* 12(1): 97-102.

Nabian, S., Taheri, M., Fard, R.M., Aramoon, M. 2013. Identification of tropomyosin and its immunological properties from larvae of cattletick, Boophilus annulatus. *Iran. J. Parasitol* 8: 242–248.

Olds, C., Mwaura, S., Crowder, D., Odongo, D., van Oers, M., Owen, J., Bishop, R., Daubenberger, C. 2012. Immunization of cattle with Ra86 impedes *Rhipicephalus appendiculatus* nymphal-to-adult molting. *Ticks Tick-borne Dis* 3: 170–178.

Pereira, M.C., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J., Klafke, G.M. 2008. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: biología, controle e resistência. Sao Paulo, Brasil: Editora MedVet. 192 p.

Perez-Gonzalez, I.E., Prado-Ochoa, M.G., Muñoz-Guzman, M.A., Vazquez-Valadez, V.H., Velazquez-Sanchez, A.M., Avila-Suarez, B.L., Cuenca-Verde, C., Angeles, E., Alba-Hurtado, F. 2014. Effect of new ethyl and methyl carbamates on *Rhipicephalus microplus* larvae and adult ticks resistant to conventional ixodicides. *Vet. Parasitol* 199: 235–241.

Pohl, P.C., Klafke, G.M., Junior, J.R., Martins, J.R., da Silva Vaz Jr., I., Masuda, A. 2012. ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol. Res* 111: 2345–2351.

Popara, M., Villar, M., Mateos-Hernandez, L., de Mera, I.G., Marina, A., del Valle, M., Almazan, C., Domingos, A., de la Fuente, J. 2013. Lesser protein degradation machinery correlates with higher BM86 tick vaccine efficacy in *Rhipicephalus annulatus* when compared to *Rhipicephalus microplus*. *Vaccine* 31: 4728–4735.

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

Rechav, Y., Hay, L. 1992. The effects of nutritional status of rabbits and sheep on their resistance to the ticks *Rhipicephalus evertsi evertsi* and *R. appendiculatus*. *Exp. Appl. Acarol* 15: 171–179.

Rezende, D.D., Fadini, M.A., Oliveira, H.G., Oliveira, C.M., Melo, J.W., Guedes, R.N., Pallini, A. 2013. Fitness costs associated with low-level dimethoate resistance in *Phytoseiulus macropilis*. *Exp. Appl. Acarol* 60: 367–379.

Rodríguez-Valle, M., Moolhuijzen, P., Piper, E.K., Weiss, O., Vance, M., Bellgard, M., Lew-Tabor, A. 2013. *Rhipicephalus microplus* lipocalins (LRMs): genomic identification and analysis of the bovine immuneresponse using in silico predicted B and T cell epitopes. *Int. J. Parasitol* 43: 739–752.

Rodríguez-Valle, M., Vance, M., Moolhuijzen, P.M., Tao, X., Lew-Tabor, A.E. 2012. Differential recognition by tick-resistant cattle of the recombinantly expressed *Rhipicephalus microplus* serine protease inhibitor-3 (RMS-3). *Ticks Tick-Borne Dis* 3: 159–169.

Rodríguez-Vivas, R.I., Trees, A.J., Rosado-Aguilar, J.A., Villegas-Perez, S.L., Hodgkinson, J.E. 2011. Evolution of acaricide resistance: phenotypic and genotypic changes in field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in response to pyrethroid selection pressure. *Int. J. Parasitol* 41: 895–903.

Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. *Vet. Parasitol* 98: 89–109.

Sepulveda A.L., Pulido-Medellín M.O., Rodríguez-Pacheco J.E., García-Corredor D.J. 2017. Eficiencia in vitro de hongos entomopatógenos y productos químicos sobre *Rhipicephalus microplus*. *Vet y Zoot.* 11(2): 67-80.

Shahein, Y.E., Aboueilla, A.M., Hussein, N.A., Hamed, R.R., El-Hakim, A.E., Abdel-Shafy, S., Tork, S.E. 2013. Identification of four novel *Rhipicephalus annulatus* upregulated salivary gland proteins as candidate vaccines. *Protein J* 32: 392–398.

Shaw, R.D. 1966. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res* 56: 389–405.

Shyma, K.P., Kumar, S., Sharma, A.K., Ray, D.D., Ghosh, S. 2012. Acaricide resistance status in Indian isolates of *Hyalomma anatolicum*. *Exp. Appl. Acarol* 58: 471–481.

Smissaert, H.R. 1964. Cholinesterase inhibition in spider mites susceptible + resistant to organophosphate. *Science* 143: 129–131.

Soares, S.F., Borges, L.M., de Sousa Braga, R., Ferreira, L.L., Louly, C.C., Tresvenzol, L.M., de Paula, J.R., Ferri, P.H. 2010. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. *Vet. Parasitol* 167: 67–73.

Solomon, G., Kaaya, G.P. 1996. Comparison of resistance in three breeds of cattle against African ixodid ticks. *Exp. Appl. Acarol* 20: 223–230.

Spickett, A.M., Horak, I.G., van Niekerk, A., Braack, L.E.O. 1992. The effect of veld-burning on the seasonal abundance of free-living ixodid ticks as determined by drag-sampling. *Onderstepoort J. Vet. Res* 59: 285–292.

Stachurski, F., Adakal, H. 2010. Exploiting the heterogeneous drop-off rhythm of *Amblyomma variegatum* nymphs to reduce pasture infestation by adult ticks. *Parasitology* 137: 1129–1137.

Stutzer, C., van Zyl, W.A., Olivier, N.A., Richards, S., Maritz-Olivier, C. 2013. Gene expression profiling of adult female tissues in feeding *Rhipicephalus microplus* cattle ticks. *Int. J. Parasitol* 43: 541–554.

Sugimoto, N., Osakabe, M. 2013. Cross-resistance between cyenopyrafen and pyridaben in the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pest Manage. Sci.*, <http://dx.doi.org/10.1002/ps.3652>.

Sutherst, R.W., Comins, H.N. 1979. The management of acaricide resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. *Bull. Entomol. Res* 69: 519–537.

Takiguchi, Y., Mishna, H., Okuda, M., Tenao, M., 1980. Milbemycin. A new family of macrolide antibiotics: fermentation, isolation and physico-chemical properties. *J. Antibiot* 33: 1120–1127.

Tanaka, K., Scott, J.G., Matsumura, F. 1984. Picrotoxinin receptor in the central nervous system of the American cockroach: its role in the action of cyclodiene-type insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol* 22: 117–127.

Temeyer, K.B., Davey, R.B., Chen, A.C. 2004. Identification of a third *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) cDNA presumptively encoding an acetylcholinesterase. *J. Med. Entomol* 41: 259–268.

Temeyer, K.B., Pruett, J.H., Olafson, P.U., Chen, A.C. 2007. R86Q, a mutation in BmAChE3 yielding a *Rhipicephalus microplus* organophosphate-insensitive acetylcholinesterase. *J. Med. Entomol* 44: 1013–1018.

Thullner, F., Willadsen, P., Kemp, D. 2007. Acaricide rotation strategy for managing resistance in the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarina: Ixodidae): laboratory experiment with a field strain from Costa Rica. *J. Med. Entomol* 44: 817–821.

Tolleson, D.R., Teel, P.D., Stuth, J.W., Strey, O.F., Welsh Jr., T.H., Carstens, G.E., Longnecker, M.T., Banik, K.K., Prince, S.D. 2010. Effects of lone star tick (*Amblyomma americanum*) burden on performance and metabolic indicators in growing beef steers. *Vet. Parasitol* 173: 99–106.

Uilenberg, G. 1999. Immunization against diseases caused by *Theileria parva*: a review. *Trop. Med. Int. Health* 4: 12–20.

Valente, P.P., Amorim, J.M., Castilho, R.O., Leite, R.C., Ribeiro, M.F. 2014. In vitro acaricidal efficacy of plant extracts from Brazilian flora and isolated substances against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res* 113: 417–423.

Weston, D.P., Poynton, H.C., Wellborn, G.A., Lydy, M.J., Blalock, B.J., Sepulveda, M.S., Colbourne, J.K. 2013. Multiple origins of pyrethroid insecticide resistance across the species complex of a nontarget aquatic crustacean, *Hyalella azteca*. *Proc. Natl. Acad. Sci* 110: 16532–16537.

Wikel, S. 2013. Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Front. Microbiol* 4: 337.

World Health Organization. 1965. Technical Report Series No. 296., pp. 29.

Young, A.S., Groocock, C.M., Kariuki, D.P. 1988. Integrated control of ticks and tick-borne diseases of cattle in Africa. *Parasitology* 96: 403–432.

Zheng, Y., Priest, B., Cully, D.F., Ludmerer, S.W. 2003. RdlDV, a novel GABA-gated chloride channel gene from the American dog tick *Dermacentor variabilis*. *Insect Biochem. Mol. Biol* 33: 595–599.