

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**“EVALUACIÓN DE TRES FORMULACIONES  
COMERCIALES DE APLICACIÓN *pour on* BAJO  
CONDICIONES DE CAMPO Y SU EFECTO *In vitro*  
EN EL CONTROL DE *Boophilus microplus* (ACARI:  
IXODIDAE), EN BOVINOS DE CEJA DE SELVA”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Cesar Roberto Del Castillo Llacuachaqui

Lima – Perú

2014

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis con inmenso amor y gratitud a mis amados padres César y Ciria por su invaluable apoyo tanto espiritual como económico durante mi formación profesional, llegando de esta manera a ser partícipes de mis metas y sueños que ahora se van concretando.

A mis hermanos: Luis Iván y Joselyn Ciria por ser siempre un motivo para ser mejor cada día y por la alegría que me brindan con su compañía y ocurrencias hasta estos días.

A mis maestras las Dras. Amanda Chávez, Eva Casas y Rosa Pinedo por su apoyo, comprensión y cariño hacia mi persona.

A mi amada Deysi Masgo por su amor, apoyo y comprensión durante las dificultades que tuve; también por ser junto a mi madre y maestras la voz de mi conciencia.

## **AGRADECIMIENTO**

Este trabajo de investigación fue financiado con el apoyo del Fondo de Promoción de Trabajo de Tesis de Pregrado del VRI-UNMSM (Código N° 063-D-FMV-13)

Agradezco muy cordialmente a la Dra. Amanda Chávez, directora de la tesis por su entusiasmo, apoyo, paciencia y dedicación durante la elaboración de este trabajo de investigación.

A mis amigos y colegas Rosa Pinedo, Guillermo Salvatierra, Dennis Navarro, Edgar Sotil, Carlos Portocarrero, Luis Samame, Elizabeth Camareno, Henry Castañeda, Helen Pérez, Benjamín Flores, Nancy Altamirano, Katherine Robles, Merly Vargas y Fiorella Letona.

Al Dr. Luis Rodríguez por la colaboración y el apoyo brindado en la elaboración de esta tesis.

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
ÍNDICE .....	vi
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE CUADROS .....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
I. INTRODUCCIÓN .....	13
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1 GENERALIDADES SOBRE LAS GARRAPATAS .....	15
2.1.1 CONCEPTO.....	15
2.1.2 DISTRIBUCIÓN.....	16
2.1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	16
2.1.4 BIOLOGÍA del <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	17
2.1.4.1 CARACTERÍSTICAS EXTERNAS .....	17
2.1.4.2 CARACTERÍSTICAS INTERNAS .....	21
2.1.4.2.1 Aparato digestivo .....	21
2.1.4.2.2 Sistema nervioso.....	22
2.1.4.2.3 Aparato respiratorio.....	23
2.1.4.2.4 Aparato genital .....	23
2.1.4.2.5 Cutícula (Exoesqueleto) .....	24
2.1.5 LOCALIZACIÓN .....	25
2.1.6 ADAPTABILIDAD ECOLÓGICA .....	25
2.1.7 HOSPEDEROS .....	27
2.2 CLASIFICACIÓN DEL CICLO BIOLÓGICO .....	27
2.2.1 CICLO NO PARASÍTICO.....	28
2.2.1.1 PERÍODO DE PREOVOPOSICIÓN O PROTOQUIA.....	28
2.2.1.2 PERÍODO DE OVOPOSICIÓN U OOTOQUIA .....	28
2.2.1.3 POST-OVOPOSICIÓN O METATOQUIA .....	29
2.2.1.4 PERIODO DE INCUBACIÓN.....	29
2.2.1.5 PERIODO DE ECLOSIÓN .....	29

2.2.1.6 SUPERVIVENCIA LARVAL.....	30
2.2.2 CICLO PARASÍTICO.....	30
2.2.2.1 ETAPA LARVAL .....	30
2.2.2.1.1 Neolarva .....	30
2.2.2.1.2 Larva tipo A.....	31
2.2.2.1.3 Larva tipo B.....	31
2.2.2.1.4 Larva tipo C.....	31
2.2.2.1.5 Metalarva.....	32
2.2.2.2 ETAPA NINFAL.....	32
2.2.2.2.1 Ninfa.....	32
2.2.2.2.2 Metaninfa .....	33
2.2.2.3 ETAPA ADULTA .....	33
2.2.2.3.1 Macho.....	33
2.2.2.3.2 Neogina .....	34
2.2.2.3.3 Partenogina.....	34
2.2.2.3.4 Teleoginas .....	34
2.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA .....	35
2.4 MÉTODOS DE CONTROL.....	35
2.4.1 CONTROL NO QUÍMICO.....	36
2.4.1.1 USO DE RAZAS RESISTENTES .....	36
2.4.1.2 MANEJO DE PRADERAS .....	36
2.4.1.3 VACUNAS .....	37
2.4.2 CONTROL QUÍMICO (IXODICIDAS).....	38
2.4.2.1 COMPUESTOS CLORINADOS .....	38
2.4.2.2 ORGANOFOSFORADOS .....	39
2.4.2.3 CARBAMATOS.....	39
2.4.2.4 FORMAMIDINAS .....	40
2.4.2.5 PIRETROIDES (FLUMETRINA).....	41
2.4.2.6 LACTONAS MACROCÍCLICAS .....	42
2.4.2.6.1 Abamectina.....	43
2.4.2.6.2 Eprinomectina .....	43

2.4.2.7 FENILPIRAZOLES (FIPRONIL) .....	44
2.4.2.8 BENZOILFENILÚREAS (FLUAZURÓN) .....	44
2.4.2.9 EXTRACTOS VEGETALES (ACEITE DE NEEM).....	45
2.5 RESISTENCIA FISIOLÓGICA A LOS IXODICIDAS .....	45
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	47
3.1 LUGAR Y ANIMALES DE ESTUDIO.....	47
3.2 MATERIALES FARMACOLÓGICOS Y MANEJO DE ANIMALES .....	47
3.3 EVALUACIÓN EN CAMPO.....	48
3.3.1 GRUPOS EXPERIMENTALES Y RECUENTO DE TELEOGINAS .....	48
3.3.2 EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE EFICACIA .....	48
3.3.3 INTERPRETACIÓN DE LA EFICACIA .....	49
3.3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	49
3.4 EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> .....	49
3.4.1 MANEJO DE LAS TELEOGINAS POST-TRATAMIENTO .....	49
3.4.2 PARÁMETROS A EVALUARSE.....	50
3.4.2.1 PORCENTAJE DE MORTALIDAD Y OVIPOSICIÓN .....	50
3.4.2.2 PORCENTAJE DE ECLOSIÓN DE AOVES .....	50
3.4.2.3 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA (ER) Y EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS (E) .....	50
IV. RESULTADOS .....	51
V. DISCUSIÓN .....	54
VI. CONCLUSIONES .....	61
VII. LITERATURA CITADA.....	62

## RESUMEN

El objetivo fue evaluar la eficacia de tres formulaciones comerciales *pour on* bajo condiciones de campo e *in vitro* sobre el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos, naturalmente infestados, en ceja de selva de Oxapampa-Perú. Para la evaluación en campo fueron seleccionados e identificados 105 bovinos infestados con teleoginas ( $\geq 30$ ) en un flanco; distribuyéndose en forma equitativa y proporcional según el recuento de teleoginas en 3 grupos de 35 animales c/u tratados con: Fipronil 1% + Abamectina 0.5% + Aceite de Neem 2% (FAN), Flumetrina 1% + Eprinomectina 0.5% (FE) y Flumetrina 1% + Fluazurón 2.5% (FF) respectivamente, siendo dosificados con 1ml/10 kg p.v en la línea dorsal (*pour on*). Se contabilizó el número de teleoginas ( $\geq 4.5$  mm) sobre los animales, en los días 0, 7, 14, 21, 28 y 56 post-tratamiento. Se calculó la eficacia, mediante la prueba de reducción de recuento de teleoginas. Para el estudio *in vitro* se dosificó 10 bovinos por c/u de los grupos evaluados y se consideró un grupo no tratado, fueron colectadas e inmovilizadas con cinta adhesiva 30 teleoginas de pesos similares (160-340 mg) de c/u de los grupos experimentales a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento; siendo incubadas a 27°C y 85% de humedad relativa durante 21 días luego de la colecta para evaluar el porcentaje de mortalidad, oviposición; las aoves colectadas se incubaron durante 30 días para determinar la eclosión larval, eficiencia reproductiva y eficacia *in vitro*. El estudio en campo demostró que fueron eficaces ( $>95\%$ ) las combinaciones: FAN (99.4-100%), FE (95.8-98.4%) y FF (97.3-98.8%) los días 7-28, 7-14 y 21-56 respectivamente. *In vitro* sólo la combinación con FAN y FF demostraron un 100% de eficacia, en las teleoginas colectadas 24, 48 y 72 horas post-tratamiento; mientras que la combinación FE mostró una eficacia del (98-99%) en teleoginas colectadas a las 48 y 72 horas post-tratamiento respectivamente.

**Palabras clave:** fipronil, flumetrina, eprinomectina, fluazurón, teleoginas, Oxapampa

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate three different pour on commercial formulations under field and in vitro conditions on the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on Jungle's eyebrow cattle naturally infested from Oxapampa-Peru. For field evaluation were selected and identified 105 teleogines-infected cattle ( $\geq 30$ ) on one flank, which were equally and proportionally distributed according the teleogines count in three groups of 35 animal each, and were treated with Fipronil 1%+ Abamectin 0.5% + Neem Oil 2% (FAN), Flumethrin 1% + Eprinomectin 0.5% (FE), and Flumethrin 1% + Fluazuron 2.5% (FF), respectively. All the animals were dosed with 1 ml/10 kg l. w. *pour on* the dorsal line. The number of teleogines was counted ( $\geq 4.5$  mm), on the animals, on day 0, 7, 14, 21, 28, and 56 post-treatment. Effectiveness was evaluated by Teleogines Count Reduction Test. For the invitro study 10 cattle were dosed for each evaluated group and were considered an untreated group. Were collected and immobilized, with scotch tape, 30 teleogines of similar weights (160-340 mg) from each experimental group at 24, 48, and 72 hours post-treatment, being incubated at 27°C and 85% relative humidity during 21 days after collection to assess the mortality percentage and oviposition; eggs collected were incubated during 30 days for larval hatching, determining reproductive efficiency and effectiveness *in vitro*. The field study showed that combinations were effective (95%): FAN (99.4-100%), FE (95.8-98.4%), and FF (97.3-98.8%) on days 7 to 28, 7 to 14 and 21 to 56, respectively. In *in vitro* evaluation only combination with FAN and FF showed 100% effectiveness on teleogines collected at 24, 48, and 72 hours post-treatment; while FE combination showed an efficacy of 98-99% on teleogines collected at 48 and 72 hours post-treatment, respectively.

**Key words:** fipronil, flumethrin, eprinomectin, fluazuron, teleogines, Oxapampa.



## LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Eficacia del tratamiento con Fipronil + Abamectina + Aceite de Neem (n=35), Flumetrina + Eprinomectina (n=25) y Fluazurón + Flumetrina (n=21) en bovinos infestados naturalmente con garrapatas (prueba en campo) en Oxapampa - Perú ..... 511
- Cuadro 2.** Eficacia garrapaticida *in vitro* contra 30 teleoginas, provenientes de bovinos tratados, con tres formulaciones comerciales *pour on* y colectadas a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento (PT); evaluándose previamente su efecto sobre mortalidad, oviposición, peso del aove durante los 21 días post-colecta y eclosión al día 30 post-colecta de aoves ..... 533

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Capítulo de larva, hembra y macho adultos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	18
<b>Figura 2.</b> Macho y hembra de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	200
<b>Figura 3.</b> Representación de la cutícula.....	244
<b>Figura 4.</b> Ciclo de vida de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> . .....	277

## I. INTRODUCCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) denominada “Garrapata común del ganado”, es el ectoparásito más importante en áreas de explotación pecuaria, en regiones tropicales y subtropicales (Manual Merck, 2000), debido a su impacto en la salud bovina, por su papel como vector de hemoparásitos (Barriga, 2002), siendo además responsable de severas pérdidas económicas en la producción de leche, ganancia de peso y daños a las pieles por la acción traumática de las picaduras (FAO, 1984; Urquhart, 2001; Rojas, 2004 y Casas *et al.*, 2009). En el Perú se encuentra distribuida en las zonas tropicales y subtropicales de la costa norte, valles interandinos, selva alta y baja.

En su ciclo de vida interviene un sólo hospedero; es decir desarrolla todos sus estadios de vida sobre el mismo animal, dicho periodo de desarrollo es relativamente fijo, lográndose de 17 a 25 días aproximadamente en ganado de raza lechera (*Bos taurus*). La fase de vida libre o no parasítica se inicia cuando la hembra adulta ingurgitada o teleogina se desprende del animal para realizar la oviposición en el medio ambiente, produciéndose un total de 1500 a 5000 huevos por hembra. La postura varía de 2 a 36 días; prolongándose hasta 40 días a temperaturas inferiores de 15°C. (Núñez *et al.*, 1982; Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En su control se emplean diversos ixodicidas como los arsenicales, organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidas, piretroides sintéticos (flumetrina), lactonas macrocíclicas (eprinomectina), fenilpirazoles (fipronil), así como algunos reguladores del crecimiento como los análogos de la hormona juvenil (metopreno y fenoxicarb) y los

inhibidores de la síntesis de quitina, como el fluazurón, diflubenzurón, lufenurón y la ciromazina (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Cuore *et al.*, 2008 y Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010). Los ixodicidas han sido utilizados con éxito en el control de las garrapatas; sin embargo, su uso continuo e irracional ha generado cepas resistentes. Se han reportado desde la década de los 30 la presencia de resistencia a diferentes ixodicidas entre ellos los arsénicos, clorinados, carbamatos, organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz (1980) y recientemente a la ivermectina y fipronil (Santamaría *et al.*, 2003 y Pérez-Cogollo *et al.*, 2010).

En la actualidad se disponen de diversas vías de aplicación de ixodicidas, ya sea mediante baños de inmersión, aspersion e inyectables; sistemas que hacen uso de infraestructura encarecida en cuanto a personal y materiales. En contraste la aplicación "*pour on*" o epicutánea consiste en derramar el producto sobre la línea medial dorsal del bovino, desde la cruz hasta la base de la cola, ofreciendo mayores ventajas básicamente debidas a la fácil aplicación, fácil manejo de los animales y el empleo de menor número de personal (Stendel *et al.*, 1992).

Dentro de los ixodicidas de reciente introducción al mercado se menciona a flumetrina y fluazurón, cuyas ventajas son la eficacia confirmada por Mekonnen (2000) y Tang *et al.* (2008), así como la presencia de mayor residualidad por parte de fluazurón. Por todo lo señalado es necesario evaluar nuevas formulaciones comerciales de fácil aplicación en el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; siendo el objetivo de estudio evaluar la eficacia de tres formulaciones comerciales *pour on* bajo condiciones de campo e *in vitro* sobre el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos, naturalmente infestados, de ceja de selva en el distrito de Oxapampa-Perú.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 GENERALIDADES SOBRE LAS GARRAPATAS

#### 2.1.1 CONCEPTO

Las garrapatas son ectoparásitos obligados temporales que se nutren de sangre, que afectan a diferentes especies como reptiles, aves y mamíferos, principalmente los de producción y de compañía; siendo el estadio adulto de gran tamaño y visible a simple vista (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Azzolini *et al.*, 2003; Wall y Shearer, 2010). Las garrapatas que afectan al ganado bovino son ácaros cosmopolitas que causan sobre el hospedero de cualquier edad debilidad, malestar, irritación, anemia y baja en la producción; estas pueden succionar de 0.5 a 1.2 ml de sangre durante su ciclo parasitario (Núñez *et al.*, 1982; Quiroz, 2007).

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y las enfermedades que estas transmiten son de importancia en salud pública y veterinaria a nivel mundial, se sabe que esta garrapata se encuentra distribuida geográficamente entre los paralelos 32° de los hemisferios norte y sur; por lo cual es considerada uno de los principales ectoparásitos del bovino en los países tropicales, subtropicales y templados (Fernández y García, 1994; Lima *et al.*, 2000; Estrada-Peña *et al.*, 2006).

Por su impacto sanitario y económico en la ganadería la especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es la más importante debido al daño directo que ocasiona en el rendimiento de los animales. Por ejemplo en Australia se ha comprobado que en

infestaciones grandes los bovinos pueden llegar a perder de 40 a 50 litros de sangre al año y que las pérdidas de peso se manejan entre 40 a 50 Kg de peso vivo por año, a estos se suman las pérdidas de pieles por acción de las picaduras, la baja de fertilidad, la menor producción de terneros, así como de leche (Núñez *et al.*, 1982). El efecto indirecto es debido a las enfermedades hemoparasitarias que transmiten como la babesiosis (*Babesia bigemina* y *Babesia bovis*) y anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) siendo estos uno de los principales problemas de sanidad animal (Armendáriz, 2003; Fragoso *et al.*, 2005).

### 2.1.2 DISTRIBUCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* cumple un ciclo biológico de un solo hospedero y es la de mayor abundancia en relación a otros ixodidos que parasitan al ganado bovino. Es originaria de Asia, especialmente de India y de la Isla de Java, pero gracias a las expediciones exploradoras registradas en la historia, con el movimiento de animales y mercadería, se produjo la introducción y expansión aproximadamente entre los paralelos 32 norte y sur encontrándose especialmente en regiones tropicales y subtropicales de Oceanía, Asia, México, América central, América del Sur y África abarcando aproximadamente 100 países (Núñez *et al.*, 1982; Davey *et al.*, 1997; Klompen *et al.*, 2000).

Se estima que el 80% de la población de ganado bovino en el mundo se encuentra en zonas infestadas por garrapatas (Rosario-Cruz *et al.*, 2007).

### 2.1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

De acuerdo con Flechtmann (1990) y Quiroz (2007), la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pertenece a la siguiente clasificación:

**Reino:** Animal

**Sub reino:** Metazoa

**Phyllum:** Arthropoda (Von Siebold y Slannius, 1845)

**Subphyllum:** Chelicerata (Heymons, 1901)

**Clase:** Arachnida (Lamarck, 1802)

**Subclase:** Acari (Leach, 1817)  
**Orden:** Parasitiformes (Renter, 1909)  
**Sub orden:** Metastigmata (Canestrini, 1891)  
Ixodides (Leach, 1815)  
**Superfamilia:** Ixodoidea (Murray, 1887)  
**Familia:** Ixodidae (Murray, 1887)  
**Género:** *Rhipicephalus* (Horak, 2002)  
**Subgénero:** *Boophilus* (Canestrini, 1887)  
**Especie:** *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

En el 2002, las especies del genero *Boophilus* fueron incluidos dentro del abundante género primario africano *Rhipicephalus* por Horak *et al.* (2002), basándose en las proximidades genéticas y evolutivas de ambos.

Murrell y Barker (2003) mediante estudios moleculares y morfológicos de los géneros *Rhipicephalus* y *Boophilus* indicaron que las cinco especies de *Boophilus* forman el género paraphyletico *Rhipicephalus*. En base a estos estudios, *Boophilus* es ubicado como un subgénero de *Rhipicephalus* y por lo tanto las cinco especies de *Boophilus* deben ser citadas así: *Rhipicephalus (Boophilus)*, por lo que *Boophilus microplus* paso a ser denominado en la actualidad como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Barker y Murrell, 2004).

De acuerdo a Faccini y Barros-Battesti (2006) las técnicas moleculares para determinaciones de especies y estudios de filogenia en garrapatas, tiene en cuenta la variabilidad del segundo espacio de transcripción interno (ITS-2), fragmentos de secuencias génicas del DNA ribosomal mitocondrial o algunas veces la combinación de todas.

## **2.1.4 BIOLOGÍA del *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

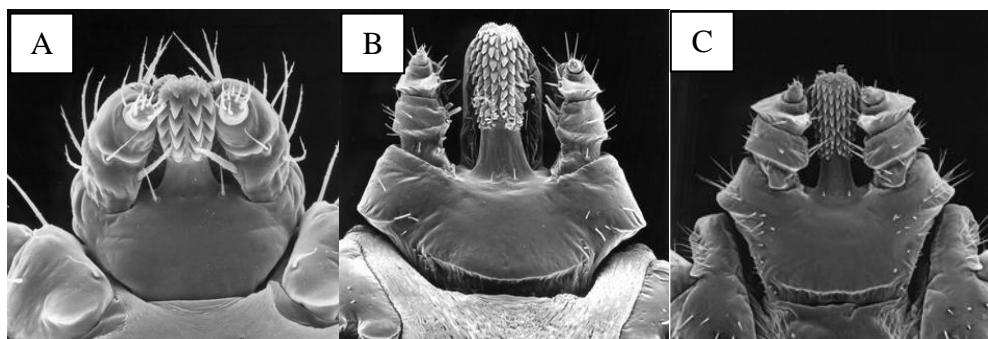
### **2.1.4.1 CARACTERÍSTICAS EXTERNAS**

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un artrópodo conocida como garrapata dura, morfológicamente de cuerpo generalmente ovalado, aplastado y con una

capa o placa dura quitinizada (escutum o escudo) que cubre la parte anterior de la región dorsal de la hembra y casi toda la superficie dorsal del macho, siendo así también la región macroscópica externa visible representada por el *capitulum* (gnatosoma) y las patas (Nuñez *et al.*, 1982).

El *capitulum* (Figura 1) está localizado en la parte terminal anterior del cuerpo, es corto y ancho con márgenes laterales redondeados. Está formado por la “*basis capituli*” que articula con el cuerpo, los quelíceros en dorsal (para cortar y perforar piel), el hipostoma dentado, o probóscide armados con dientes en hilera, en ventral (para fijación y succión) y los palpos segmentados (sensoriales o táctiles) (Hagen y Kopp, 1999; Drugueri, 2004).

Los palpos actúan como soporte para adherirse al hospedador y estos están conformados por cuatro segmentos; en el último se encuentra el órgano palpal (grupo de 9 setas con poro terminal que funcionan como quimiorreceptores) por medio del cual la garrapata detecta en la piel las zonas más delgadas y con mayor irrigación sanguínea antes de comenzar a alimentarse (Núñez *et al.*, 1982; Parra *et al.*, 1999).



**Figura 1.** Capítulo de larva (a), hembra (b) y macho (c) adultos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Fuente: Gutiérrez, 2006

La garrapata en su estado de larva posee tres partes de patas y en su estado de ninfa o adulto tiene cuatro pares. Las patas se articulan con el cuerpo mediante una estructura muy resistente denominada coxa. Cada pata está dividida en seis segmentos, coxa, trocánter, fémur, tibia, protarso y tarso, terminando este último en un par garras y una almohadilla (Parra *et al.*, 1999).



La coxa está insertada de forma vertical al cuerpo y permite una rotación limitada; los otros segmentos se flexionan de tal manera que cada pata puede ser doblada contra la superficie ventral o extendida para caminar, cada extremidad mide en promedio de 10 a 12 mm en las hembras y de 3 a 4 mm en los machos (Cupp, 1991).

Un elemento sensorial conocido como “Órgano de Haller” se encuentra en la superficie dorsal del tarso del primer par de patas, este órgano está conformado por setas que reciben estímulos de tipo vibrátil (vibraciones que produce el ganado por el golpeteo sobre el suelo), otras perciben olores y las demás perciben ondas de calor (Hagen y Kopp, 1999).

La coxa I, presenta dos espolones en forma de triángulo y una proyección larga antero dorsal en los machos, la hembra tiene la coxa casi tan larga como ancha y los espolones son redondos. Las coxas II y III, pueden presentar dos pequeños espolones de borde redondeado en los machos en tanto las hembras pueden haber escotaduras poco profundas; la coxa IV puede poseer un pequeño espolón o carecer de él. Las placas estigmatales en ambos sexos son redondas a ovales y los machos pueden tener o no, pedúnculo o proceso caudal (González, 2007).

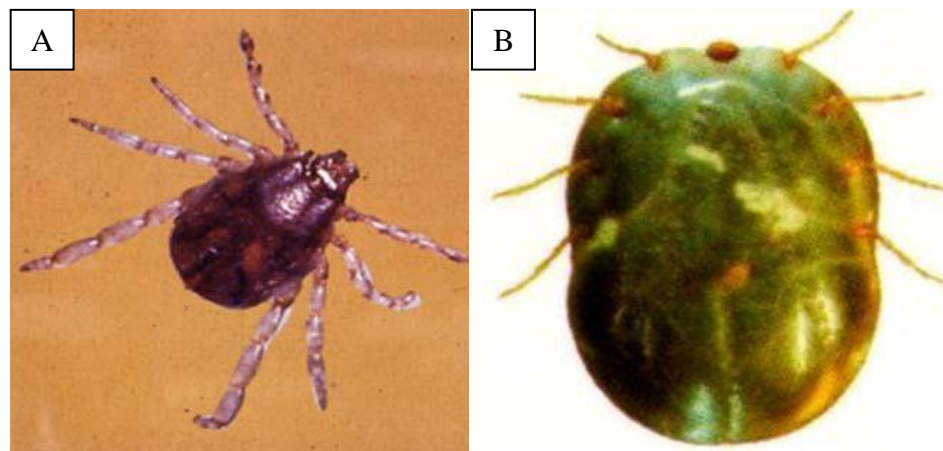
Esta garrapata presenta espina caudal por el dorso, que puede observarse desde el vientre. Las placas adanales presentan en su borde posterior una escotadura, de donde se origina una espina hacia el extremo interno. Las placas accesorias son agudas en su borde posterior y dejan visible la espina caudal (Cupe, 1991).

El sistema de protección o cutícula posee tres capas: epicutícula, mesocutícula y endocutícula; en ella se aprecian poros, canales o espiráculos. La primera capa contiene: lípidos, sustancias cementantes, cuticulina y polyfenol que cumplen la alta función de protección al desecarse. Este sistema de protección, tiene la particularidad de sufrir elongaciones de hasta 20 veces su tamaño original cuando está repleta de sangre (Spickett, 1994).

Los adultos y las ninfas poseen estigmas situados en el último par de coxas, mientras que las larvas carecen de ellas; además, presentan dimorfismo sexual, siendo el macho de menor tamaño que la hembra (Cupp, 1991).

Como ya se menciona anteriormente el dorso de los machos está recubierto completamente por un escudo duro rico en quitina sin patrón ornamental, liso, brillante y de color café rojizo (Figura 2). En su región dorsal se localiza un par de ojos (uno a cada lado del escudo, más o menos entre el primer y segundo par de patas), los cuales son imperfectos y se cree que sólo perciben la luz y movimiento. Los machos presentan ventralmente el orificio genital situado en la línea media del cuerpo (a nivel del segundo par de patas), así como placas adanales y accesorias (Parra *et al.*, 1999).

El dorso de las hembras está sólo parcialmente cubierto en la parte anterior por un escudo muy pequeño y con forma de lengüeta (más largo que ancho) que termina encontrándose con los ojos en su parte más ancha, la hembra al ser parcialmente cubierta por este escudo puede agrandarse lo suficiente para contener hasta dos centímetros cúbicos de sangre (López, 1980).



**Figura 2.** Macho (A) y hembra (B) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

## 2.1.4.2 CARACTERÍSTICAS INTERNAS

### 2.1.4.2.1 Aparato digestivo

La abertura bucal se encuentra ubicada en la cara superior del hipostoma y está delimitada hacia dorsal por las vainas externas de los quelíceros; hacia caudal se encuentra el lóbulo labral que separa la cavidad faríngea (ventral) del salibarium (dorsal), donde se almacena saliva. Luego de continua con la faringe con músculos potentes que permiten el desarrollo de la succión, esta hacia caudal se transforma en un esófago corto y poco desarrollado. El esófago desemboca en un estomago pequeño del cual parten hacia ambos lados los ciegos intestinales, estos externamente poseen movimientos ameboides que puede ser percibido durante el periodo de alimentación en los estadios no muy quitinizados. Hacia caudal el estomago se continua con la vesícula excretora que se comunica con la abertura anal o nefrostoma (Núñez *et al.*, 1982).

En determinado momento y debido fundamentalmente a los movimientos ameboides de los divertículos intestinales, el contenido de estos se transforma en una masa semisólida como consecuencia de la pérdida de agua, que se da esencialmente a través de la cutícula y secundariamente por los túbulos de Malpighi. Estos captan, del agua que pasa por ellos, los metabolitos y estos por osmosis pasaran a la cavidad del cuerpo e incorporaran a la hemolinfa, luego de captar los metabolitos el flujo blancuzco restante llenara la vesícula excretora y podrá verse por transparencia, el cual, una vez expulsado a través de la abertura anal y en contacto con el aire, se solidifica adquiriendo un aspecto calcáreo. Este material se reconoce como cristales de guanina (Núñez *et al.*, 1982).

La secreción salival de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* carece de principios anticoagulantes y citolíticos, pero si presenta altas concentraciones de prostaglandinas (PGE2), la cual cumple un papel importante en la iniciación y el mantenimiento de la lesión en el huésped.

Durante el mecanismo de alimentación las piezas bucales cortas, solo penetran en la piel hasta el estrato malpighiano; por eso las lesiones que se observan en la piel del bovino por debajo de la epidermis no son de origen traumático ni causa de la lisis de los tejidos por

la acción digestiva de la saliva, sino que esta sería consecuencia de una reacción inflamatoria por parte del huésped. Esta reacción inflamatoria afecta a los capilares, estos se dilatan y origina edema y luego hemorragia, al unisonó se produce una invasión simultánea de leucocitos y linfocitos en la zona.

Es así que el proceso de la alimentación inicia con la ingesta de líquidos titulares, luego gran número de leucocitos y por último sangre completa con los otros dos elementos mencionados (Núñez *et al.*, 1982).

La sangre ingerida es atacada por enzimas hemolíticas, que son producidas por las paredes de los ciegos intestinales para poder ser digerida. Las sustancias generadas por la digestión de la sangre, son absorbidas por ósmosis, después pasan a la cavidad del cuerpo y se diluyen en la hemolinfa (Parra *et al.*, 1999).

#### **2.1.4.2.2 Sistema nervioso**

Está ubicado en el tercio anterior del idiosoma en posición centroventral. El esófago atraviesa el cerebro en forma oblicua de ventral a dorsal, dividiéndolo en dos regiones: pre y posesofágica.

El cerebro (synganglio) se encuentra cubierto por un fino neurilema y rodeado por una membrana que pasa a constituir el seno periganglionar de la aorta dorsal. La región preesofágica del cerebro, se desarrollan los ganglios a partir de los cuales se inervarán los ojos, quelíceros, faringe, primer par de patas y los palpos. En la región posesofágica existe una porción del ganglio del primer par de patas y también esta los otros tres pares de ganglios que inervarán las patas faltantes, y hacia el extremo caudal un par de ganglios que inervan la parte viscerales.

Existen agrupados en la corteza del cerebro de 15 pares de células neurosecretoras, y en el neurópilo hay diferentes tractos que almacenan las neurosecreciones.

Con respecto a este punto se comprobó la presencia de catecolaminas, no solo en el sistema nervioso central sino también en los nervios periféricos del *B. microplus* habiendo

establecido que la norepinefrina sería la de mayor importancia en el proceso en el proceso de la neurotransmisión, o bien como sustancia neurosecretomotora (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.1.4.2.3 Aparato respiratorio**

Está conformado por túbulos de pequeño calibre incluidos en el líquido celomático, cuyo diámetro es regulado por grandes células endoteliales permitiendo así el intercambio gaseoso. Estos túbulos, después de presentar diversas ramificaciones con un progresivo aumento de calibre, concluyen en dos tráqueas que desembocan en las cámaras de aire internas, las cuales no son otra cosa que la dilatación de los espiráculos ubicados en ambos lados del cuerpo, los cuales están rodeados por los peritremas o placas estigmatizas que se ubican por detrás de las coxas del cuarto par de patas y presenta un forma oval (Núñez *et al.*, 1982).

En las larvas la respiración es de tipo cutáneo y con el desarrollo a su estado de ninfa, se originan los orificios respiratorios y la red de traqueotubos que se mantienen hasta su etapa de adulto (Parra *et al.*, 1999).

#### **2.1.4.2.4 Aparato genital**

El macho está conformado por dos testículos alargados, un conducto deferente que se une a una vesícula seminal, que tiene la función de formar el espermátforo (conjunto de espermátides rodeadas por una capsula que se transmite a la hembra durante la cópula); el conducto deferente continua con un conducto eyaculador que desemboca en la abertura genital (Núñez *et al.*, 1982; Parra *et al.*, 1999).

En la hembra el ovario es alargado y presenta forma de herradura, se continúa con un par de oviductos que se originan de las partes laterales del ovario y finalizan en el útero. La vagina se divide en la porción cervical (donde desembocan los oviductos y está el receptáculo seminal que almacena el espermátforo) y la vestibular que continua hasta la abertura genital.

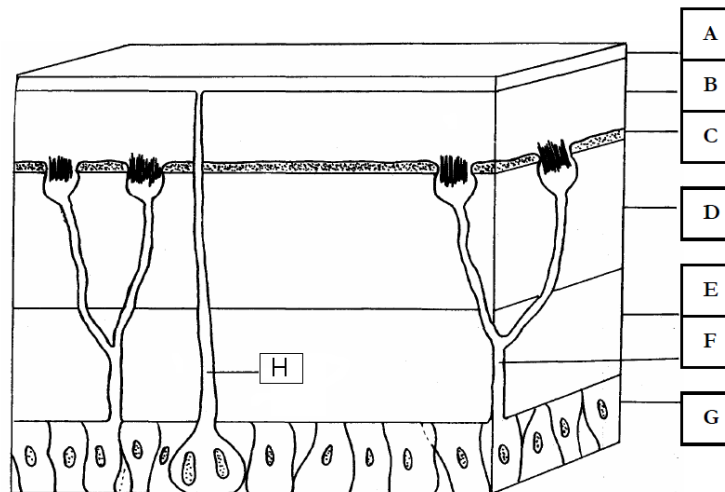
Las hembras poseen un aparato denominado órgano de Gené, que está compuesto por dos glándulas que poseen cada una un receptor, situados debajo del escudo dorsal. Este

órgano produce una secreción lipídica que cubre los huevos, los aglutina, los protege contra el medio ambiente y permite la oxigenación del embrión incluso bajo el agua (Núñez *et al.*, 1982; Parra *et al.*, 1999).

#### 2.1.4.2.5 Cutícula (Exoesqueleto)

En general las garrapatas duras tienen el exoesqueleto constituido por las siguientes capas descritas de afuera hacia el interior:

- Epicutícula: cérea, polifenólica, cuticular.
- Endocutícula externa.
- Endocutícula interna.
- Epidermis.



**Figura 3.** Representación de la cutícula.

A. cérea, B. polifenólica, C. cuticular, D. endocutícula externa, E. endocutícula interna, F. conducto, G. epidermis, H. glándula dérmica.

Fuente: Núñez *et al.*, 1982

La epicutícula está compuesta por una capa superficial cérea que impermeabiliza a la cutícula, debajo de la capa cérea, se ubica la polifenólica constituida por pequeñas gotas, ricas en polifenoles que penetran en la siguiente capa denominada cuticular; esta última es de naturaleza proteica y forma una delgada membrana de superficie que contiene gran cantidad de microporos, los cuales están a su vez en unión con los conductos que se originan en la epidermis (Núñez *et al.*, 1982).

Estos conductos participan del transporte de los agentes oxidantes, sustratos fenólicos o de las proteicos necesarios para la quitinización de la epicutícula (Núñez *et al.*, 1982).

El agua que se evapora a través de la epicutícula es reemplazada por el agua que extraen de las células epidermicas del hemocele. De la misma manera, en presencia de un alto porcentaje de humedad, el agua es conducida desde la epicutícula y por intermedio de estos conductos a través de la endocutícula hasta la epidermis, para luego pasar al hemocele.

Las endocutículas (externa e interna) son capas laminares, muy similares desde el punto de vista químico, pero se diferencian a nivel estructural, la endocutícula externa es más compacta y tiene un aspecto más firme, a diferencia de la interna que se disponen libremente confiriéndole una apariencia más esponjosa y está formadas por quitina.

La epidermis está constituida por células cuya función es la de producir la cutícula y otras son denominadas glándulas dérmicas pues producen algunas sustancias especiales. A medida que la garrapata se ingurgita, estas células se hipertrofian y aparecen unidas a un conducto exterior que se abre directamente sobre la superficie de la epicutícula (Núñez *et al.*, 1982).

### **2.1.5 LOCALIZACIÓN**

Todos los estadios de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (fase larvaria hasta adulta) están presentes sobre todo el bovino debido a que estas garrapatas separan su hipostoma de la epidermis y se movilizan sobre el hospedero; siendo más notoria la infestación en las orejas, tabla del cuello, región pectoral, axilar, papada, base de la cola y en la región del periné (López, 1980).

### **2.1.6 ADAPTABILIDAD ECOLÓGICA**

Las garrapatas pueden habitar desde el nivel del mar hasta los 2,600 msnm en las zonas tropicales donde llueve regularmente de 400 a 2,800 mm anuales (Lima *et al.*, 2000), imperando en esos lugares una alta humedad y clima cálido se dan condiciones óptimas

para fomentar el desarrollo de varias generaciones de garrapatas por año. En regiones subtropicales, marcada por temporadas de lluvias o sequías, pueden sobrevivir en estas condiciones adversas, pero la falta de humedad atmosférica puede disminuir o romper el ciclo de vida de los *Ixodidae* (Teel *et al.*, 1997).

Cabe mencionar que los factores climatológicos afectan especialmente a los delicados huevecillos y a las fases no parásitas de la garrapata es por eso que prefieren la alta humedad y una temperaturas arriba de los 20°C., ya que, las larvas de *Rhipicephalus (Boophilus)* spp sobreviven hasta 43 días a 20°C y 84% de humedad relativa; pero los daños inician cuando la humedad es menor del 63% (Hugh-Jones, 1991), además se sabe que las garrapatas adultas son más susceptibles a las altas temperaturas que las jóvenes, ya que la cutícula en estas es más permeable (Randolph, 1997)

La fase de vida libre o no parasítica se inicia cuando la hembra adulta ingurgitada o telegina se desprende del animal para buscan lugares protegidos en el medio ambiente donde poder realizar la oviposición, produciéndose un total de 1500 a 5000 huevos por hembra. Es por esto que el microclima del suelo (vegetación espesa, temperatura y humedad relativa), es tan importante para su sobrevivencia. La postura varía de 2 a 36 días; pudiéndose elevar hasta 40 días a temperaturas inferiores de 15°C (Nuñez *et al.*, 1982; Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Rosario-Cruz *et al.*, 2007)

Luego de un periodo de incubación las larvas emergen y se protegen contra la desecación del sol, buscando refugio es la sombra de los pastizales u otros vegetales, incluso debajo del suelo (Falk-Vairant *et al.*, 1994)

Normalmente las larvas trepan durante las horas frescas del día a las plantas de los pastizales para facilitar el acceso a los hospederos, moviéndose horizontalmente hasta 8 m de su sitio original (Falco y Fish, 1991). Este movimiento se debe a que sus órganos sensoriales perciben componentes atractivos como el dióxido de carbono, calor corporal, ácido butírico y las feromonas de los hospederos (Rechav *et al.*, 1994; Horak *et al.*, 1995).



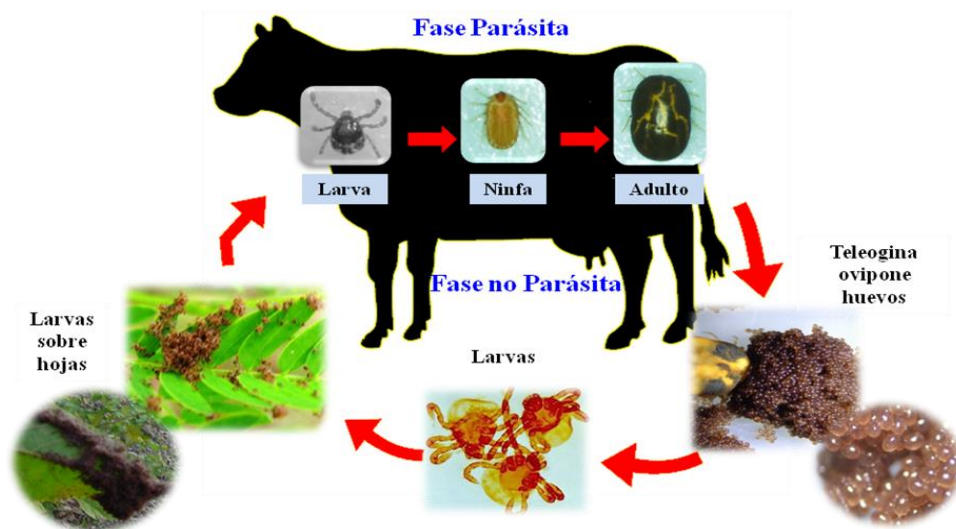
Dentro de las épocas del año en la que se tiene el mayor pico de infestación es el otoño, aunque todo el año el ganado se encuentra positivo a la parasitosis (Brizuela *et al.*, 1996).

### 2.1.7 HOSPEDEROS

Garrapata de un solo hospedador, esto significa que las fases de larva, ninfa y adulto (en su fase parasítica) se cumple sobre un solo hospedador (Hendrix, 1999). Aunque el ganado es el anfitrión principal de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, esta especie también se pueden encontrar en los caballos, cabras y perros. Por lo tanto, si el ganado se retira de su hábitat natural, la garrapata es capaz de completar su ciclo de vida en otros anfitriones y mantener la población, lo cual es un factor de complicación en programas de erradicación.

### 2.2 CLASIFICACIÓN DEL CICLO BIOLÓGICO

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, es una especie típicamente monoxena (un solo hospedero) y su ciclo biológico consta de dos etapas bien definidas: no parasítico o de vida libre, que se inicia con el desprendimiento de la teleogina del hospedero; y la de vida parasitaria, que se inicia cuando la larva se fija al hospedero (Andreotti *et al.*, 2002).



**Figura 4.** Ciclo de vida de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

## **2.2.1 CICLO NO PARASÍTICO**

Esta fase inicia con el desprendimiento de la hembra madura repleta después de alimentarse de su hospedero, hecho que generalmente sucede en la noche, y dura hasta la aparición de las larvas en la vegetación. Durante esta fase suceden cinco etapas del desarrollo de la garrapata: preoviposición o protoquia, oviposición u ootoquia, post-oviposición o metatoquia, incubación y eclosión (Nuñez *et al.* 1982; Álvarez *et al.*, 2007).

### **2.2.1.1 PERÍODO DE PREOVOPOSICIÓN O PROTOQUIA**

Inicia cuando la teleogina ingurgitada se desprende espontáneamente del huésped, busca lugares sombríos, húmedos, cálidos y protegidos de los rayos solares para iniciar la postura (Nuñez *et al.*, 1987).

Los valores en verano varían de 2 a 6 días con una media de 3,4 días. En Brasil, en condiciones de laboratorio, Alvarado y Gonzales (1979) informaron períodos de preovovosición medios de 3 días (86% de las teleoginas estudiadas).

Esta fase, en condiciones favorables de humedad (80%) y temperatura (28-30°C) dura de 2 a 4 días; no obstante, durante los meses de clima frío puede durar hasta 97 días (Rosario-Cruz *et al.*, 2007).

### **2.2.1.2 PERÍODO DE OVOPOSICIÓN U OOTOQUIA**

Se denomina así al periodo en el tiempo que se extiende desde que la teleogina desova el primer huevo hasta que desova el último. Tiene una duración que varía de 4 a 60 días dependiendo del factor ambiente (radiación solar directa, elevadas temperaturas, humedad), donde los huevos se pueden destruir, inhibirse su oviposición o la eclosión larvaria (Popham, 1991); cuando los huevos son desovados forman masas que los hacen resistentes a las bajas temperaturas y así proseguir su incubación (Fortes, 1997).

Este periodo puede durar el doble de tiempo en invierno en comparación con el verano, mas en condiciones de laboratorio se observa un promedio de 20 días, con una

media de 3000 huevos ovipuestos por garrapata con rangos de 1400 a 5000 (Rosario-Cruz *et al.*, 2007).

### **2.2.1.3 POST-OVOPOSICIÓN O METATOQUIA**

Esta fase comprende el tiempo entre la oviposición del último huevo y la muerte de la kenogina, es decir la hembra ovigera que ya cumplió su función, la cual por lo general ocurre de 2 a 15 días después (Núñez *et al.*, 1982), siendo excepcionalmente bajo el número de especímenes que superan los 8 días de vida. En esta etapa mediante una observación minuciosa se pueden apreciar leves y muy espaciados movimientos, en especial en la zona dorsal lo que indica que aun la garrapata está viva (Núñez *et al.*, 1987).

### **2.2.1.4 PERIODO DE INCUBACIÓN**

Esta fase inicia con la oviposición y finaliza con la observación de la primera larva, los huevos presentan una forma elíptica y miden aproximadamente 550 por 400µm, son de color marrón oscuro, presentan una superficie brillante y pegajosa cubierta por una sustancia de aspecto albuminoide; de la eclosión de los huevos emergen larvas hexápoda muy activas, que suben a los pastos y esperan al hospedador (Campos *et al.*, 2006).

Durante este periodo, los factores ambientales como temperatura y humedad pueden influir directamente sobre la evolución del embrión (Núñez *et al.*, 1982; Álvarez *et al.*, 2007). Así en condiciones de laboratorio, ya sea en recipientes de vidrio (cajas de Petri o bandejas) o en tubos de Metianiu a 26° C y 80% de humedad relativa, el periodo de incubación es de 24 días y de 27 a 34 días cuando los huevos están al medio ambiente; donde las condiciones ideales como temperaturas elevadas, lluvias copiosas, y pastos vigorosos, acortar el período de incubación hasta menos de 21 días (Nuñez *et al.*, 1987).

### **2.2.1.5 PERIODO DE ECLOSIÓN**

Es la etapa en que la larva emerge del huevo. Bajo condiciones controladas en laboratorio sobre ejemplares normales sin alteraciones morfológicas visibles y que no hayan sufrido en el manipuleo ni estén afectados por algún tratamiento, el porcentaje de

eclosión puede superar el 80% llegando hasta el 100% (Nuñez *et al.*, 1987; Farias *et al.*, 2007).

### **2.2.1.6 SUPERVIVENCIA LARVAL**

Luego del nacimiento de las larvas (neolarvas) permanecen junto al suelo por un periodo de 5 a 10 días (media de 7 días), para después, guiadas por un fenómeno conocido como geotropismo negativo, suben a las hojas de los pastizales a esperar el paso de algún bovino. Si no encuentran algún hospedero terminarían muriendo por agotamiento (Fortes, 1997).

Los periodos de supervivencia larval varían según las condiciones ambientales, es así que Nuñez *et al.* (1987) observaron una supervivencia de hasta 204 días en condiciones de laboratorio (20 a 22° C, 80% HR, y bajo sombra). Se sabe que las larvas sobreviven hasta 286 días como larvas de vida libre y sin alimentarse (Rosario-Cruz *et al.*, 2007).

### **2.2.2 CICLO PARASÍTICO**

Se cumple sobre el animal, desde que la larva hexápoda se fija al hospedero e inicia su ingurgitación con sangre, es así que este ciclo comprende los estados biológicos con intervalos variables de tiempo: larva (7 a 10 días), ninfa (5 a 8 días) y adulto (1 a 3 días) (Guglielmone *et al.*, 2006); de una etapa a otra se lleva a cabo el proceso de ecdisis o desprendimiento del exoesqueleto.

#### **2.2.2.1 ETAPA LARVAL**

Dentro de las características morfológicas más importantes de esta etapa se describen los tres pares de patas y la doble hilera dentaria en el hipostoma (Nuñez *et al.*, 1982).

##### **2.2.2.1.1 Neolarva**

Morfológicamente es similar a la larva de vida libre y una vez sobre el huésped, estas caminan rápidamente buscando los lugares más apropiados para fijarse: estos son por lo general las zonas de piel laxa y con rica vascularización como la entropierna, la zona

perineal, papada, cuello y borde anterior de las orejas, donde normalmente se localiza el 95% de las formas parasitarias.

La mayoría de las larvas se fija en cuestión de minutos y a las 24 horas más del 92.5% de estas se han fijado al huésped y han comenzado a alimentarse (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.1.2 Larva tipo A**

Se denomina así a la larva que tras tomar contacto con el hospedero perfora su piel con sus queliceros, fija su hipostoma y comienza a alimentarse; además su escudo cubre el total del cuerpo siendo este el rasgo más evidente para su diferenciación. Tiene aproximadamente las mismas medidas que la neolarva, es decir 0,6 a 0,66 mm de largo y 0,40 a 0,43 mm de ancho, detrás del escudo dorsal se observan restos de los tejidos del huésped. Son visibles los 3 pares de patas que lentamente comienzan a perder su movilidad una vez que el parásito comienza a alimentarse (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.1.3 Larva tipo B**

En este estadio hay un considerable aumento en el volumen del cuerpo, y dorsalmente se aprecia que el escudo cubre aproximadamente un poco menos de la mitad de la longitud total del mismo. Sus movimientos de patas, no son tan activo como en la neolarva o larva recién fijada, y su color tiende a hacerse más claro pasando del rojo oscuro a una tonalidad algo más amarillenta (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.1.4 Larva tipo C**

Es llamada también como larva de 72 horas. El eje longitudinal del escudo es menor que la cuarta parte de la longitud total del cuerpo. Los movimientos de las patas están presentes, se van haciendo más lentos y disminuyen gradualmente a nivel de las articulaciones distales, el color se torna rojizo amarillento con una cierta tendencia al blancuzco (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.1.5 Metalarva**

Cuando la larva tipo C alcanza la total inmovilidad de sus articulaciones y presenta movimiento a nivel de la articulación coxofemoral, es cuando comienza el estadio denominado metalarva, el cual es el primer estadio de metamorfosis, después del cual comenzara el periodo ninfal.

La metalarva mide alrededor de 1 mm de largo (1,15 – 0,75 mm) y el tegumento se ve distendido y de un color blancuzco cremoso. A medida que transcurre el tiempo y se aproxima el momento de la ecdisis, el tamaño del parásito aumenta, llegando a un largo total de aproximadamente 2 milímetros (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.2 ETAPA NINFAL**

Las características morfológicas más claras en esta etapa son los cuatro pares de patas y la triple doble hilera dentaria del hipostoma; también a ambos lados del cuerpo aparecen los espiráculos detrás del cuarto par de patas (Núñez *et al.*, 1982).

##### **2.2.2.2.1 Ninfa**

Durante las primeras horas del estadio de metalarva se observa bajo su cutícula la nueva forma, que emergerá y que se fijará nuevamente en la piel del hospedero, conocida como ninfa que surgirá tras la ruptura de la parte posterior del tegumento, cuyos restos (exubia) quedan prendidos a la epidermis.

La nueva forma parasitaria al emerger es más pequeña que la metalarva; mide algo más de 1mm de largo y ostenta un traslucido color hialino, lo que permite ver con claridad los ciegos intestinales, la vesícula excretora y los conductos excretores.

Las ninfas no suele trasladarse lejos, y por lo general, casi al lado de su anterior ubicación vuelve a fijarse nuevamente al hospedero y rápidamente comienza a ingurgitar tomando un color grisáceo. Gradualmente, las patas comienzan a perder movilidad, primero

en las articulaciones inferiores, que al final quedan rígidas pasando así al siguiente estadio, llamado metaninfa (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.2.2 Metaninfa**

Una vez que la ninfa se inmoviliza, se convierte en metaninfa, esta fase es la prolongada del ciclo parasitario. Es de forma alargada, de color marrón grisáceo que varía del tono claro al oscuro, mide más o menos 2,5 mm al principio, pudiendo hasta casi 4 mm al final del estadio. Detrás del último par de patas, al nivel de los peritremas, el cuerpo se angosta visiblemente y en los últimos días de este estadio el dimorfismo sexual es bien marcado: las metaninfas de las cuales emergerán neoginas son más grandes y de color claro, mientras que las de tamaño más pequeño y color más oscuro darán lugar a neandros, es decir, machos jóvenes; siendo las hembras el doble de pesadas que los machos (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.3 ETAPA ADULTA**

Las características morfológicas más salientes en esta etapa son: 4 pares de patas y cuádruple doble hilera dentaria en el hipostoma.

##### **2.2.2.3.1 Macho**

Cuando se abre longitudinalmente el tegumento de las metaninfas emergen los machos de menor tamaño y color más oscuro. Al principio estos son bien traslucidos, de un color marrón grisáceo y en pocas horas más su cuerpo se torna marrón oscuro.

El extremo cefálico y las patas son de color marrón claro con tendencia al amarillento; la longitud total del cuerpo oscila entre 2 y 2,5 mm y el ancho es de 1,15 a 1,30 mm. Desde la parte ventral se visualiza el orificio genital a la altura del segundo par de patas y en el tercio posterior del cuerpo se observa el nefrostoma entre los dos pares de placas adanales (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.3.2 Neogina**

De las metaninfas de mayor tamaño y peso eclosionan hembras púberes que se denominan neoginas, las cuales miden aproximadamente 2 mm de largo por 1,3 mm de ancho, a la altura de los espiráculos. Su cuerpo oval y achatado es de color marrón claro al principio, tornándose luego más oscuro; las primeras neoginas suelen emerger a los 14 días y medio de la infestación y por lo general, no se desplazan demasiado, prendiéndose al hospedero muy cerca del lugar donde se encontraba la metaninfa que le dio origen (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.3.3 Partenogina**

La neogina, como ya se ha explicado, vuelve a prenderse muy cerca al lugar anterior, bajo la denominación de partenogina comienza a alimentarse y por lo tanto a crecer lentamente durante los dos primeros días, a crecer, hasta que ya fecundada e ingurgitada se desprende convirtiéndose finalmente en teleogina.

Al tercero o cuarto día el peso se incrementa en un 80% en comparación con la neogina y a partir de ese momento el desarrollo es muy rápido, llegando en la mayoría de los casos entre el cuarto y quinto día al 400%.

En lo que respecta al color, al inicio es marrón oscuro pero más claro que en el macho. Más tarde cuando el parásito alcanza una longitud de 3 a 4 mm el color se torna más opaco. Las primeras partenoginas claramente semiingurgitadas son observadas de los 17-18 días de la infestación (Núñez *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.3.4 Teleoginas**

Es la hembra completamente ingurgitada que termina su desarrollo y se desprende para desovar fuera del hospedero. Su forma es ovoide, el color que presenta es verde grisáceo y mide de 7 a 13 mm de largo por 4 a 8 mm de ancho. El peso medio es de aproximadamente de 240 mg con rango de (225,38-266,33 mg) (Núñez *et al.*, 1987).



## 2.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es la garrapata parásita más importante para el ganado, por ser el principal vector de agentes infecciosos anemizantes como *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* (acción metaxénica) (Barriga, 2002), enfermedades de importancia económica en países tropicales y subtropicales (Urquhart, 2001 y Rojas, 2004).

Se sabe que cada teleogina puede succionar 3 ml de sangre durante fase parasítica y que el efecto traumático de la picadura repercute en la ganancia de peso a razón de 0.6 g diarios, debido a la irritación causada que merma la ingesta de comida en el ganado (Barriga, 2002 y Rodríguez *et al.*, 2006); las lesiones sobre la piel pueden sufrir complicaciones como la miasis e infecciones secundarias, que como consecuencia traen el menor precio de la piel de uso industrial (Barriga, 2002) en un 40% de su valor (Rojas, 2004). Las picaduras también originan abscesos que frecuentemente involucran uno o más cuartos de la glándula mamaria con la consecuente disminución de la producción láctea (Rodríguez *et al.*, 2006).

## 2.4 MÉTODOS DE CONTROL

Antes de implementar un programa de control contra la garrapata, es necesario tener conocimiento de los factores ecológicos, tecnológicos, sociales y económicos de la región. Así también existe una gran diversidad de condiciones geográficas, climáticas y de infraestructuras que hacen que un programa de tratamiento sea aplicable para un lugar ya no sean las mismas para otro. Existen dos maneras de combatir a las garrapatas, uno en el campo (fase no parasítica) y otro sobre el ganado (fase parasítica); sin embargo el combate de este parásito ha sido orientado hacia la eliminación de las formas parasíticas (Rodríguez *et al.*, 2005).

Por eso los productores agropecuarios han implementado una serie de métodos para controlar las poblaciones de esos ectoparásitos y disminuir el ataque a su ganado, siendo así la tendencia actual el buscar alternativas, entre las cuales se pueden citar el uso de productos químicos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006), agentes biológicos vivos (Ojeda-Chi *et*

*al.*, 2010), razas resistentes (Lima *et al.*, 2000), depredadores naturales (Dreyer *et al.*, 1997), vacunas (Patarroyo *et al.*, 2009) y la rotación de potreros (Hernández, 1996).

Pero se debe tener en cuenta que el control efectivo de los ectoparásitos se debe hacer de una manera integrada, a través de la adopción de medidas de manejo que interfieren con su fase de vida libre y la correcta aplicación de acaricidas para llegar a las etapas de la vida parasitaria sobre el hospedero.

## **2.4.1 CONTROL NO QUÍMICO**

### **2.4.1.1 USO DE RAZAS RESISTENTES**

Consiste en criar razas más resistentes, es así que la raza *Bos indicus* es más resistente a padecer infestaciones graves de garrapatas que la raza *Bos taurus* o sus cruza (Lima *et al.*, 2000), pero un estudio en África no encontró diferencia significativa entre ambas razas (De Castro, *et al.*, 1997) y esto porque se reporta un grado decreciente de resistencia desde la raza pura *Bos indicus*, pasando por las razas cruzadas hasta las razas *Bos taurus* (Wikel, 1996); la resistencia del Cebú puro es dominante, demostrándose 85% de rechazo de las larvas de garrapatas durante las primeras 24 horas de contacto y es un carácter heredable donde la hembra resulta ser más resistente que el macho (Willadsen, 2006), por lo que se sugiere que la resistencia genética está ligado al carácter más puro (De Castro, 1998).

La resistencia genética se manifiesta mediante el desprendimiento, muerte de estadios inmaduros, reducción en el ingurgitamiento de la teologina que conlleva a una disminución en la ovoposición y a baja o nula viabilidad de los huevos (Willadsen, 2006; Schleske, 2011).

### **2.4.1.2 MANEJO DE PRADERAS**

Una manera de controlar la carga de larvas en las praderas es incrementando el tiempo de retorno del rebaño, con el objetivo de esperar la muerte de una parte de las larvas presente en el medio ambiente; en épocas cálidas y secas, las larvas sólo pueden sobrevivir sobre las hojas durante seis semanas, por eso si una pradera se deja libre de ganado durante

este período y se tratan a los animales antes de su reintegro, se obtendrá pasturas con niveles bajos de larvas y las pocas que infesten morirán por acción de los ixodicidas usados.

Se sabe que las larvas pueden sobrevivir más de 6 meses en el medio ambiente como larvas de vida libre cuando las condiciones son óptimas, por tal motivo los pastizales bien manejados ayudan a incrementar la probabilidad de que mueran antes de encontrar un huésped por lo que la quema de pasturas, es otra manera práctica de eliminar gran cantidad de huevos y diversos estados evolutivos de las garrapatas en los pastizales (Hernández, 1996). No obstante su uso debe limitarse a épocas más favorables para la vida de las larvas así como también por los daños que ocasiona al ambiente y a otras especies del ecosistema.

#### **2.4.1.3 VACUNAS**

El uso de vacunas en el control de la garrapatozosis es una alternativa ante los acaricidas químicos, pues algunos productos vienen presentando varias desventajas como el desarrollo de resistencia, la toxicidad, la contaminación de alimentos con residuos (carne, leche), así como la contaminación ambiental (Sossai *et al.*, 2005).

En el desarrollo de las vacunas se han usado dos tipos de antígenos blanco: el primero es un antígeno convencional secretado en la saliva durante la ingesta de sangre y son llamados antígenos expuestos. Estos son proteínas o péptidos sintetizados en la glándula salival y son captados por las células dendríticas las cuales lo procesan y presentan a los linfocitos T, para iniciar la respuesta inmune humoral o celular (Larregina y Falo, 2005). El segundo antígeno empleado es el oculto, este no está normalmente expuesto a los mecanismos de inmunidad del hospedero y se derivan generalmente del intestino de la garrapata e interactúan con las inmunoglobulinas específicas captadas con la sangre ingerida, estos antígenos inducen una respuesta inmune sobre las garrapatas pues los anticuerpos y otros factores humorales como el complemento afectan su tracto intestinal (De La Fuente *et al.*, 1998). Los anticuerpos presentes en la sangre interactúan con el antígeno oculto de la parte intestinal causando así su ruptura y una hemorragia hacia la

cavidad del parásito, de esta manera se interfiere en la digestión de la sangre, la producción de huevos y se origina la muerte del parásito (Nuttall, *et al.*, 2006).

El desarrollo de la vacunas, contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, fue realizado por primera vez en Australia, donde la proteína Bm86, aislada del intestino de la garrapata, fue recombinada en la bacteria *Escherichia coli* y luego se ofreció a escala mundial bajo el nombre comercial de Tick Gard®. Posteriormente en Cuba, se recombinó la misma proteína con la levadura *Pichia pastoris*, produjeron una vacuna llamada Gavac (Bove *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2006).

Las vacunas originan una reducción del número de hembras repletas sobre los bovinos vacunados; su peso y su capacidad reproductiva (Cobon *et al.*, 1995). El principal efecto de la vacuna no es eliminar instantáneamente las garrapatas en los bovinos, sino reducir la infestación larval en la siguiente generación (Martins *et al.*, 2006).

#### **2.4.2 CONTROL QUÍMICO (IXODICIDAS)**

Los esfuerzos por controlar la infestaciones por garrapatas en bovinos se ha basado principalmente en el control químico en los distintos países del mundo y esto se debe a la facilidad de su aplicación y la evolución de las sustancias utilizadas, dentro de las familias de químicos que más usan los ganaderos encontramos a los carbamatos, organoclorados, organofosforados, piretroides sintéticos, amidas, inhibidores de la regulación del crecimiento, lactonas macrocíclicas y fenilpirazolonas (Rosario-Cruz *et al.*, 2007).

Los garrapaticidas también pueden ser llamados ixodicidas pues las garrapatas pertenecen a la familia Ixodidae, los principales métodos de aplicación de estos ixodicidas pueden ser realizados mediante baños de inmersión (Santos *et al.*, 2000), aspersion (Alonso-Díaz, 2002), inyectable (Vieira *et al.*, 2003) y las de aplicación epicutánea conocidas como *pour on* (Mendes *et al.*, 2008).

##### **2.4.2.1 COMPUESTOS CLORINADOS**

Este compuesto ejerce una inhibición del GABA y/o una acción de la apertura de los canales de Na<sup>+</sup>, y causa una hipersensibilidad que termina en parálisis, el más conocido

de este grupo es el DDT que fue prohibido en muchos países en la década de los 70 por ser un compuesto tóxico, altamente persistente en el medio ambiente, en la leche, carne y por su tendencia a acumularse en el tejido graso de los vertebrados (Barriga, 2002; Beugnet y Franc, 2012)

#### **2.4.2.2 ORGANOFOSFORADOS**

Los organofosforados son lipofílicos, se absorben a través de la piel y se acumulan en tejido adiposo de donde son liberados lentamente a la sangre y a otros líquidos fisiológicos (leche); se caracterizan por inhibir de forma irreversible la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, por medio de una fosforilización sobre el grupo hidroxilo de una serina en el sitio activo de la enzima; produciendo un exceso de estímulo colinérgico de tipo muscarínico, nicotínico y central, de esta manera la acetilcolina no degradada provoca la excitación en las sinapsis dependientes de estimulación colinérgica, donde el neurotransmisor liberado provoca en los artrópodos hiperactividad seguida de incoordinación y muerte (Parra *et al.*, 1999; Muñoz, 2002; Bloomquist, 2003; Beugnet y Franc, 2012).

A pesar de su estabilidad sobre el pelo, lana y piel, solo tienen una permanencia de 4 a 8 días al ser absorbidos por la piel (Encinas *et al.*, 1999).

#### **2.4.2.3 CARBAMATOS**

Son ésteres del ácido carbámico que actúan de forma similar a los organofosforados, pero la inhibición de la colinesterasa es de manera reversible; pero causan una reacción de carbamitación del grupo hidroxilo en una serina en la acetilcolinesterasa, que genera un grupo hidroxilado que migra, llevando a la inactivación de la enzima.

Comparada con la fosforilación, el complejo de enzimas carbamitadas es relativamente menos estable y se hidrolizará en un período de varios minutos. Presenta una mala absorción a través de la piel y un tiempo de vida media corto por lo cual se emplea de forma tópica (Encinas *et al.*, 1999; Muñoz, 2002; Blagburn y Lindsay, 2003; Bloomquist, 2003).

#### 2.4.2.4 FORMAMIDINAS

Este grupo está constituido por acaricidas que ejercen sus efectos mediante la inhibición de la enzima monoaminoxidasa, la cual es responsable del metabolismo de las aminas neurotransmisoras presentes en la garrapata. Estos compuestos actúan como agonistas de los receptores octopaminérgicos de las garrapatas.

La octopamina (OPM) es un neurotransmisor primario en los artrópodos que actúa en un nivel presináptico y postsináptico en el sistema nervioso central y periférico modulando la excitabilidad muscular. El producto de mayor uso en la actualidad es el Amitraz (Blagburn y Lindsay, 2003).

Estos compuestos imitan la acción de la octopamina, neurotransmisor que regula el comportamiento de excitación dentro del SNC, actuando también como una neurohormona sobre tejidos periféricos que inducen la movilidad de lípidos, carbohidratos y como un neuromodulador central y periférico que actúa sobre los músculos, la corpora cardíaca y la corpora allata en los artrópodos, mediando toda su actividad a través de tres clases de receptores acoplados a proteínas G vinculadas a la adenilato ciclasa (Prullage *et al.*, 2011).

La acción agonista del amitraz en los receptores de OPM conduce a una marcada hiperexcitabilidad, dando lugar a temblores, convulsiones, anorexia y desprendimientos. En las garrapatas, la acción letal del amitraz es potenciada por la aparición de un metabolito desmetilado activo más potente, que se origina como producto de la degradación rápida del fármaco madre.

El amitraz, de manera complementaria inhibe las prostaglandinas que intervienen en el proceso de la alimentación por iniciación y mantenimiento de la lesión en el hospedero. La OPM también está involucrada en el comportamiento reproductivo de los insectos, por su actividad sobre receptores específicos en el oviducto, interfiriendo en el proceso de oviposición y eclosión, lo que potencia su acción letal (Muñoz, 2002)

#### 2.4.2.5 PIRETROIDES (FLUMETRINA)

El empleo del piretro natural como insecticida era usado por los persas; este insecticida se preparaba con la molienda de las flores de piretro (*Chrysanthemum cinerariaefoliurn*). Ante el elevado costo y la baja estabilidad química de los componentes del piretro, se comenzaron a sintetizar compuestos estructurales relacionados que se llamaron piretroides, estos conservan las propiedades acaricidas pero poseen una actividad residual más duradera; son solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos, biodegradables y estables cuando quedan expuestos al aire y a la luz.

Los piretroides se clasifican en dos grandes grupos:

**Tipo I:** Alletrina, permetrina, tetrametrina.

**Tipo II:** Cipemetrina, flumetrina, decametrina.

La diferencia entre ambos grupos está dada porque los tipo II presentan un grupo ciano, lo que aumenta su espectro antiparasitario y les otorga mayor estabilidad en el medio ambiente. Estos compuestos son liposolubles, lo que le facilita su ingreso al artrópodo fundamentalmente a través de la cutícula.

El mecanismo de acción consiste básicamente en una alteración del funcionamiento del sistema nervioso por el compromiso de la conducción iónica a través de las membranas neuronales. En ese mecanismo se reconocen los siguientes cambios:

- En la sinapsis, en particular los piretroides del tipo II, se fijan a una o más fracciones del receptor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) y del canal ionóforo del Cl<sup>-</sup>. Determinando así el cierre del mismo. Por esta acción antagonista del GABA, que actúa como neurotransmisor inhibidor, se observa hiperexcitabilidad y parálisis, dando lugar a un efecto de choque o también conocido como efecto de derribe (knock down), los insectos carecen de todo movimiento y se comportan como si estuviera muerto. Este derribo puede ser reversible y después de unos segundos los insectos puede despertar y entrar en una segunda fase, que implica la hiperexcitación debido a la acción sobre los nervios periféricos, con movimientos rápidos, breves, e inconsistentes, que pueden conducir a un efecto de muerte o Killing.

- Tanto los piretroides de tipo I como los de tipo II tienen la capacidad de unirse en forma irreversible y estereoespecífica a receptores ubicados en los canales axonales de sodio (Na<sup>+</sup>), provocando un retraso en el cierre de los mismos y aumentando la entrada de este ion con descargas repetidas. Esto conduce a hiperexcitación y parálisis, siendo este proceso más potente con los piretroides del tipo II.
- Ambos tipos de piretroides tienen capacidad inhibitoria sobre los receptores colinérgicos nicotínicos alternando el flujo de iones, lo que conduce a una parálisis periférica tanto en los artrópodos como en los mamíferos (Muñoz, 2002).
- Estas moléculas son volátiles y en animales tratados su presencia alrededor explica el efecto repelente a los insectos voladores (mosquitos, moscas) y la garrapatas (Anadon *et al.*, 2009).

#### **2.4.2.6 LACTONAS MACROCÍCLICAS**

Las lactonas macrocíclicas (LM) son antiparasitarios de uso veterinario obtenidas de la fermentación de hongos *Streptomyces* sp, dentro de este grupo se incluyen las avermectinas (naturales: abamectina e ivermectina y biosintéticas: eprinomectina, doramectina y selamectina) y las milbemicinas (moxidectina); tienen una acción endectocida, es decir, tienen efecto tóxico contra ecto y endoparásitos. Son liposolubles, lo cual les permite ser absorbido y distribuirse rápidamente por los tejidos, como grasa, piel y mucosa intestinal.

La identificación del receptor específico al cual se unen las LM es objeto de controversia, se describe que producen una liberación del GABA; mas los datos actuales mencionan que en los nematodos y artrópodos las LM se unen a un receptor de glutamato ligado a canales del ion cloro Cl<sup>-</sup>, lo que impide su cierre y aumenta la permeabilidad a este ion desencadenando la hiperpolarización de la membrana, lo que origina un cese en el estímulo nervioso que origina una parálisis flácida con el consiguiente desprendimiento y muerte del parásito (Bloomquist, 2003; Sumano y Ocampo, 2006; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).



Las avermectinas son producto de la fermentación de *Streptomyces avermitilis* y poseen un bisoleandrosyl oxidisacarido (C13), las milbemicinas son producto de la fermentación de *Streptomyces cyaneogriseus* y difieren de las avermectinas porque no poseen el substituyente disacárido en C13.

#### **2.4.2.6.1 Abamectina**

Es una avermectina natural y es denominada avermectina B<sub>1</sub>, técnicamente es muy similar a la ivermectina, pero esta es la que ofrece un mayor efecto residual. Su distribución es muy amplia por su carácter lipofílico, pero se acumula principalmente en hígado y tejido adiposo.

Se conoce también que la abamectina actúa uniéndose al receptor de glutamato ligado a canales del cloro, con lo que se impide su cierre y se incrementa la permeabilidad hacia este ion, lo cual desencadena la hiperpolarización de la membrana y así un cese del estímulo nervioso que origina una parálisis flácida que determina el desprendimiento del parásito (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

Los procesos de metabolismo se sujetan a la hidroxilación del producto, y la excreción se realiza principalmente por las heces, la orina y una mínima porción por la leche; y su tiempo de retiro para bovinos es de 30 a 45 días (Sumano y Ocampo, 2006).

#### **2.4.2.6.2 Eprinomectina**

Es un principio activo de las avermectinas biosintéticas, también se le conoce como MK-397 y ha sido desarrollada para su administración epicutánea. Esta se une selectivamente a los canales iónicos destinados al cloro mediados por glutamato que se encuentra presente en las células nerviosas y musculares de los invertebrados. Esto genera un aumento de la permeabilidad hacia los iones cloro, lo que a su vez origina un bloqueo de la neurotransmisión con la consiguiente parálisis y muerte del parásito; además favorece la liberación de GABA que bloquea la estimulación postsináptica de las fibras musculares en los artrópodos (Plumb, 2010)

Es poco metabolizada y se elimina en forma activa por heces. Lo interesante de este compuesto es que su uso en vacas lecheras no requiere tiempo de retiro en leche, pues su presencia no excede el nivel máximo admisible de 5 ng/ml (Dupuy *et al.*, 2001; Sumano y Ocampo, 2006).

#### **2.4.2.7 FENILPIRAZOLES (FIPRONIL)**

Actúan como antagonistas del GABA fijándose al receptor en el interior del canal ionóforo de cloro. Normalmente, el flujo de cloro está regulado por el receptor del GABA que permite la apertura del canal, provocando así la hiperpolarización de la célula nerviosa con la consecuente disminución de su actividad. El bloqueo del inofo de cloro anula el efecto del neuromodulador del GABA, inhibiendo el flujo intracelular del ion mencionado, lo que conduce a la muerte del parásito por hiperexcitabilidad.

Adicionalmente el fipronil y sus metabolitos bloquean dos tipos de activadores de glutamato de los canales de cloro que se encuentran únicamente en invertebrados, resultando este mecanismo en parálisis y posterior muerte del parásito (Zhao *et al.*, 2004).

El fipronil tiene una naturaleza lipofílica que le permite su difusión por la grasa de la piel y su acumulación en las glándulas sebáceas (Muñoz, 2002).

#### **2.4.2.8 BENZOILFENILÚREAS (FLUAZURÓN)**

El Fluazurón, se caracteriza por que su mecanismo de acción es a través de la supresión de la síntesis y deposición de quitina mediante inhibición de la enzima quitina-sintetasa, del transporte de UDP-N-acetilglucosamina mediante biomembranas y mediante el bloqueo de la unión de quitina a las proteínas cuticulares; todo lo mencionado es necesario para la polimerización de una nueva cutícula durante la muda y por acción de este fármaco el resultado es en una deposición anormal a nivel endocuticular que afecta así la elasticidad y resistencia de la misma (Mikolajczyk *et al.*, 1994; Oberlander y Smaghe, 2001).

Se describe también que el fluazurón tiene una actividad secundaria sobre las glándulas salivales de la garrapata, lo cual afecta su proceso de alimentación; pero su

principal acción es reducir la fecundidad y fertilidad de las teleoginas así como la mortalidad de las larvas (Bull *et al.*, 1996; Ortiz y Franco, 2005)

Por otro lado estas sustancias intervienen en el funcionamiento de las células excretoras, ocasionando desequilibrios en la hemolinfa y que origina la muerte por deshidratación (Parra *et al.*, 1999; Muñoz, 2002).

#### **2.4.2.9 EXTRACTOS VEGETALES (ACEITE DE NEEM)**

Es el producto líquido obtenido a partir de la planta (Nim) o parte de ella (hoja, tallo, semillas) mediante varios procedimientos y solventes, creados por la necesidad de tener métodos más seguros, menos tóxicos y que garanticen el control de los insectos (Vieira y Fernandes, 1999).

El nim, *Azadirachta indica*, actualmente es la especie botánica más estudiada y clasificada como un pesticida de alta eficiencia y de bajo efecto residual (Martínez, 2002).

Muchos compuestos ya fueron aislados de los arboles de nim, de los cuales se destacan la salanina, azadiractina, 14-epoxiazadiradiona, meliantrol, melianona, gedunina, nimbina, nimbinem, deacetilsalanina, azadiractol, azadirona, vilosina, meliacarpina (Lee *et al.*, 1991). De estos la azadiractina es considerada el principio activo más potente (Schmutterer, 1990), y actúa dependiendo de la dosis, afectados a los insectos sensibles mediante la inhibición de la alimentación, por la estimulación de células “disuasivas” específicas que son células que causan comportamiento antagónico a la alimentación (Martínez, 2002). La mortalidad es mayor y ocurre más rápidamente cuando mayor es la dosis agregada. Perjudican también, la utilización de los alimentos ingeridos, reduciendo la eficiencia de conversión alimentaria y, la actividad de las enzimas del mesenterio o intestino medio (Martínez y Van Endem, 1999).

### **2.5 RESISTENCIA FISIOLÓGICA A LOS IXODICIDAS**

Los acaricidas son importantes en el control de la garrapata, sin embargo como consecuencia de un uso extensivo, estos han desarrollado resistencia en casi todos los países en donde se han usado por largos periodos (Alonso-Díaz *et al.*, 2006), es decir, que

en la mayoría de los casos, los ixodicidas propician alteraciones en las garrapatas que conducen mediante la selección genética a una adaptación que les permite sobrevivir a las condiciones de ixodicidas impuesta. Este fenómeno descrito ha sido denominado en términos mundiales como resistencia y se define como la capacidad adquirida por parte de una población definida que le permite sobrevivir al tratamiento de algunos productos que son capaces de eliminar a la población susceptible; esta capacidad adquirida es transmitida de una generación a otra (Woodham *et al.*, 1983)

En los últimos años se reporta la aparición de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a diversos acaricidas, con lo cual se elevan los costos para el ganadero. En el mundo existen reportes bien documentados de la resistencia que adquirió la garrapata a los productos como las amidas, arsénicales, organoclorados, carbamatos, organofosforados, amitraz, piretroides sintéticos, ivermectina y fipronil (Perez-Cogollo *et al.*, 2010).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LUGAR Y ANIMALES DE ESTUDIO**

El estudio se realizó en el distrito de Oxapampa que pertenece al departamento de Pasco, la zona de estudio se encuentra ubicada en la selva central del país, región tropical, en el flanco amazónico de los Andes centrales peruanos y en la porción oriental de la Región Pasco. Sus coordenadas geográficas están entre los 10°03'15" y 10°43'10" de latitud sur y los 74°56'30" y 75°43'10" de longitud oeste, presenta un clima húmedo semi-cálido, con temperatura promedio de 13 a 20°C (Municipalidad Provincial de Oxapampa, 2010).

El estudio se realizó en 8 fundos ganaderos, con animales y manejos similares. Fueron seleccionados bovinos adultos de doble propósito, de ambos sexos, criollos (cruzados de Holstein y Brown Swiss) infestados con garrapatas. Como criterio de inclusión los animales deberían presentar un mínimo de 30 garrapatas de 4.5 a 8 mm sobre un lado del cuerpo y como criterios de exclusión, animales que recibieron tratamiento de garrapaticidas en los últimos 3 meses. Todos los animales permanecieron en sus respectivos fundos recibiendo el mismo manejo y alimentación por parte de sus propietarios. El estudio se realizó durante los meses de febrero, mayo y junio del 2012.

#### **3.2 MATERIALES FARMACOLÓGICOS Y MANEJO DE ANIMALES**

Se utilizaron tres formulaciones comerciales, compuestos por combinación de principios activos los mismos que para este estudio fueron identificados con abreviaciones así "FAN": Fipronil 1% + Abamectina 0.5% + Aceite de Neem 2%, "FE": Flumetrina 1% +

Eprinomectina 0.5% y “FF”: Flumetrina 1% + Fluazurón 2.5%. Todos los animales recibieron las dosis recomendadas por el laboratorio fabricante, 1ml/10kg p.v, el medicamento fue vertido sobre la línea media dorsal por delante de la escapula hasta la base de la cola (*pour on*) y para suministrar la dosis adecuada, se determinó el peso vivo mediante una cinta bovinométrica; registrándose en fichas individuales el nombre, número, peso y grupo de tratamiento por animal, número de teleoginas presentes antes del tratamiento.

### **3.3 EVALUACIÓN EN CAMPO**

#### **3.3.1 GRUPOS EXPERIMENTALES Y RECuento DE TELEOGINAS**

Fueron seleccionados 105 bovinos debidamente identificados (aretados) e infestados naturalmente con garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (teleoginas  $\geq 30$ ), siendo distribuidos en forma equitativa y proporcional de acuerdo al recuento de garrapatas en 3 grupos experimentales de 35 animales cada uno (día cero). Posterior al tratamiento se realizó en conteo de teleoginas presentes en un lado del cuerpo de los animales en los días 7, 14, 21, 28 y 56 post-tratamiento considerándose el día 0 como el grupo control.

#### **3.3.2 EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE EFICACIA**

La eficacia de los garrapaticidas se cálculo mediante la prueba de reducción de recuento de garrapatas, la cual considera una relación porcentual entre la reducción del promedio de garrapatas en los grupos tratados con respecto al promedio del día 0, mediante la fórmula (Wood *et al.*, 1995):

$$\text{Eficacia (\%)} = \frac{(X_{d=0}) - (X_{d=7,14,21,28,56})}{(X_{d=0})} \times 100$$

### **3.3.3 INTERPRETACIÓN DE LA EFICACIA**

La eficacia de un producto comercial en campo al día 21 debe ser  $\geq 95\%$ ; y si el producto en prueba tiene su acción acaricida de lento inicio, el porcentaje de eficacia debe ser calculado por encima de los 21 días (Holdsworth *et al.*, 2006).

### **3.3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si hubo identidad o diferencia en las medianas de los tratamientos.

## **3.4 EVALUACIÓN *IN VITRO***

### **3.4.1 MANEJO DE LAS TELEOGINAS POST-TRATAMIENTO**

Inicialmente se colectaron manualmente 50 teleoginas procedentes de 10 bovinos no tratados conformando el grupo control y 50 teleoginas de cada grupo experimental a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento, siendo colocadas en envases de plástico debidamente aireados e identificados para cada grupo y transportados al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la FMV para la evaluación de la mortalidad, oviposición de las teleoginas y porcentaje de eclosión de las aoves, posteriormente se calculó la eficiencia reproductiva y eficacia de los tratamientos evaluados.

Fueron seleccionados por grupo experimental 30 teleoginas con un peso entre 160 y 340 mg (Drummond *et al.*, 1973). Utilizando una balanza analítica de precisión de 0,0001 g., se conformaron tres grupos de 10 teleoginas c/u con pesos similares; siendo inmovilizadas en placas petri con tiras de cinta adhesivas adheridas por la parte caudodorsal del cuerpo. Las placas con teleoginas fueron debidamente identificadas considerándose (fecha, tratamiento y peso de teleoginas); posteriormente fueron incubadas en un ambiente climatizado a 27°C, 85% de humedad relativa.

### **3.4.2 PARÁMETROS A EVALUARSE**

#### **3.4.2.1 PORCENTAJE DE MORTALIDAD Y OVIPOSICIÓN**

Las teleoginas fueron observadas diariamente a través de un estereoscopio, viendo la presencia de signos vitales como: movimientos de patas y de asas intestinales (Rodríguez *et al.*, 2010); a fin de determinar su vitalidad y oviposición post-tratamiento hasta el día 21 luego de su colecta, así también se pesó el total de huevos por grupo experimental.

#### **3.4.2.2 PORCENTAJE DE ECLOSIÓN DE AOVES**

Los huevos fueron colectados y acondicionados en tubos de Metianiu (Nuñez *et al.*, 1982) manteniendo las mismas condiciones ambientales antes descritas para permitir su incubación y eclosión durante 30 días adicionales. Se estimó la eclosión larval mediante observación directa del total de huevos sin eclosionar así como las larvas presentes.

#### **3.4.2.3 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA (ER) Y EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS (E)**

La eficiencia reproductiva (ER) expresa la habilidad de una teleogina para transformar parte de su peso inicial en larvas viables. Se calcula dividiendo el peso de la masa total de huevos entre el peso inicial de la teleogina y el valor obtenido se multiplica por el porcentaje de eclosión. La eficacia de los tratamientos (E) expresa la diferencia porcentual entre las eficiencias reproductivas del grupo tratado y control; se usaron las siguientes formulas (Drummond *et al.*, 1973):

$$ER = \frac{\text{Peso de los huevos (g) x \% Eclosión}}{\text{Peso de las teleoginas (g)}}$$

$$ER = \frac{(\text{ER control} - \text{ER tratado})}{\text{ER control}} \times 100$$



#### IV. RESULTADOS

En el Cuadro 1, muestra la eficacia en campo de los ixodicidas comerciales evaluados, donde el garrapaticida “FAN”, resultó eficaz ( $\geq 95\%$ ) del día 7 al 28 post-tratamiento (PT), posteriormente decayó a 88.3%; mientras que la combinación FE, sólo resultó ser eficaz el día 7 y 14 PT, posterior a ello su eficacia vario hasta 92.4%; por otro lado el grupo FF, alcanza al día 14 una eficacia del 94.4% y a partir del día 21 al 56 PT, muestra una eficacia satisfactoria en el control de las garrapatas (98.8-97.3%); siendo la combinación que evidenció un mejor efecto residual durante la observación en campo.

**Cuadro 1.** Eficacia del tratamiento con Fipronil + Abamectina + Aceite de Neem (n=35), Flumetrina + Eprinomectina (n=25) y Fluazurón + Flumetrina (n=21) en bovinos infestados naturalmente con garrapatas (prueba en campo) en Oxapampa - Perú

Días Post-tratamiento	FAN		FE		FF	
	Promedio* (Garrapatas)	Eficacia (%)	Promedio* (Garrapatas)	Eficacia (%)	Promedio* (Garrapatas)	Eficacia (%)
0	38.03	---	36.68	---	31.38	---
7	0.03	99.9 <sup>a</sup>	0.60	98.4 <sup>a</sup>	8.75	72.1 <sup>b</sup>
14	0.00	100.0 <sup>a</sup>	1.55	95.8 <sup>b</sup>	1.77	94.4 <sup>b</sup>
21	0.00	100.0 <sup>a</sup>	2.05	94.4 <sup>b</sup>	0.37	98.8 <sup>a</sup>
28	0.21	99.4 <sup>a</sup>	2.13	94.2 <sup>b</sup>	0.50	98.4 <sup>a</sup>
56	4.43	88.3 <sup>a</sup>	2.80	92.4 <sup>b</sup>	0.85	97.3 <sup>c</sup>

FAN: Fipronil + Abamectina + Aceite de Neem (1-0.5-2%); FE: Flumetrina + Eprinomectina (1-0.5%); FF: Flumetrina + Fluazurón (1-2.5%)

\* Promedio aritmético

<sup>abc</sup> Superíndices diferentes en las mismas filas indican diferencia estadísticamente significativa al análisis estadístico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

El cuadro 2, muestra la eficacia garrapaticida *in vitro*, evaluadas a través de los parámetros, mortalidad, oviposición, peso del aove y eclosión durante los 21 días post colecta. Los porcentaje de mortalidad de las teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* colectadas en los tres grupos tratados con las formulaciones comerciales, así como el grupo control a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento (PT), evidenciaron con el tratamiento de FAN una mortalidad superior al 80% a partir de la 24 horas PT, incrementándose al 100% a las 72 horas PT; con respecto a la mortalidad de los otros tratamientos (FE, FF) estas oscilaron entre el 13.3- 33.3%.

Con respecto a los porcentajes de oviposición y eclosión de huevos de teleoginas colectadas luego de los tratamientos, la combinación “FAN”, mostró 0% de oviposición desde las 24 horas PT. Mientras que las teleoginas tratadas con las combinaciones “FE” y “FF”, los porcentajes de oviposición variaron de 43-70% y 60-73.3% respectivamente durante los tiempos evaluados. Con respecto a la eclosión del aove; sólo las provenientes de las teleoginas tratadas con “FE” y colectadas en los diferentes momentos PT, mostraron eclosión en porcentajes iguales o superiores al 50%.

La eficiencia reproductiva (ER) de las teleoginas de cada grupo experimental y la eficacia de los garrapaticidas a las 24, 48 y 72 horas PT fueron calculadas por el método de Drummond *et al.* (1973), donde se halló que la ER de FAN y FF, fue cero, mientras que el grupo tratado con FE obtuvo una ER de 4.34, 0.67 y 0.19 a las 24, 48 y 72 horas PT respectivamente; en tanto el grupo control obtuvo una ER de 33.46.

Con respecto al porcentaje de eficacia los grupos FAN y FF mostraron ser eficaces en un 100% a partir de las 24 horas PT. El grupo FE alcanzó eficacia del 98 y 99% en las teleoginas colectadas a las 48 y 72 horas PT.

**Cuadro 2.** Eficacia garrapaticida *in vitro* contra 30 teleoginas, provenientes de bovinos tratados, con tres formulaciones comerciales *pour on* y colectadas a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento (PT); evaluándose previamente su efecto sobre mortalidad, oviposición, peso del aove durante los 21 días post-colecta y eclosión al día 30 post-colecta de aoves

Tratamiento <i>in vitro</i> n = 30 ♀	Horas de colecta PT	Mortalidad (%) <sup>*</sup>	Oviposición (%) <sup>*</sup>	Peso de huevos (g) <sup>*</sup>	Eclosión (%) <sup>**</sup>	Eficiencia reproductiva	Eficacia (%)
<b>CONTROL</b>	-	0	100	2.64	95.25	33.46	0
<b>FAN</b>	<b>24</b>	83.3	0	0	0	0	100
	<b>48</b>	96.7	0	0	0	0	100
	<b>72</b>	100	0	0	0	0	100
<b>FE</b>	<b>24</b>	33.3	70	0.20	70	4.34	87
	<b>48</b>	30	43	0.07	65	0.67	98
	<b>72</b>	33.3	43	0.02	50	0.19	99
<b>FF</b>	<b>24</b>	16.7	60	0.64	0	0	100
	<b>48</b>	13.3	73.3	0.67	0	0	100
	<b>72</b>	16.7	60	0.62	0	0	100

FAN: Fipronil + Abamectina + Aceite de Neem (1-0.5-2%); FE: Flumetrina + Eprinomectina (1-0.5%); FF: Flumetrina + Fluazurón (1-2.5%)

\* Observación en el día 21 post colecta

\*\* Observación en el día 30 post-colecta de aoves

## V. DISCUSIÓN

En los países tropicales y subtropicales, uno de los principales problemas económicos en la ganadería bovina es la infestación por garrapatas y las enfermedades que éstas transmiten. La estrategia más utilizada para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* consiste en la aplicación correcta de ixodicidas; sin embargo, su uso continuo e irracional ha ocasionado que muchos de los productos utilizados habitualmente, muestren baja eficacia, favorecido por la selección de individuos tolerantes, surgiendo de esta manera la aparición de resistencia a los ixodicidas, debido principalmente al uso frecuente de los garrapaticidas convencionales y a la cada vez más escasa disponibilidad de nuevos ixodicidas eficaces que permitan alternar productos (Fragoso *et al.*, 1999).

Se emplearon tres nuevas formulaciones comerciales con aplicación *pour on*, aplicados en bovinos infestados naturalmente con garrapatas, para evaluar su eficacia tanto en campo como en el laboratorio (*in vitro*), para el control de garrapatas en la zona ganadera de Oxapampa. En el cuadro 1 se muestra la eficacia en campo, de tres formulaciones comerciales *pour on*, durante 56 días post-tratamiento (PT). La combinación FAN (Fipronil 1% + Abamectina 0.5% + Aceite de Neem 2%) mostró ser eficaz (99.4 – 100%) en el control de campo desde el día 7 al 28 PT. Es posible que la combinación de estos principios haya originado la alta eficacia; sin embargo evaluaciones individuales de sus principios explicarían estos resultados; así se conoce que el fipronil desde su introducción al mercado veterinario, ha demostrado niveles satisfactorios de eficacia y largos periodos residuales en caninos y bovinos, prolongándose hasta los dos meses en los vacunos (Davey *et al.*, 1998; Da Silva, 2008; Penroz, 2009); esto debido a su liberación

gradual vía ductos foliculares ya que se fija y almacena en las glándulas sebáceas debido a su carácter altamente lipofílico (Muñoz, 2002). Así Lopes *et al.* (2014) obtuvieron una eficacia de 99% desde el día 7 al 28 PT respectivamente, siendo los resultados semejantes al presente estudio.

Mientras que la Abamectina, lactona macrocíclica, posee un efecto tóxico sobre los ecto- y endoparásitos, siendo más conocida su eficacia contra nematodos y ligeramente menos activo frente a *R. microplus* (Shoop *et al.*, 1995); este principio activo se absorbe y distribuye en tejidos como grasa, piel y mucosa intestinal, debido a su lipofilia (Díaz, 2012). Así Da Silva (2008) en su estudio con abamectina al 0.5% encontró una eficacia de 91.8% y 83.5% hacia el día 13 y 27 PT respectivamente; por su parte Pereira (2009) describe una eficacia de 80.2% hacia el día 21 PT con abamectina al 1%.

El aceite de Neem (nim), es un repelente, insecticida y acaricida, que presenta formulaciones comerciales en los países asiáticos de donde es nativa (Williams y Mansingh, 1996), los compuestos aislados del nim manifiestan sus efectos en los organismos de diversas maneras, como: disuasor durante la alimentación, perjudicando además la utilización de los alimentos ingeridos al actuar como inhibidor de la actividad enzimática del tubo digestivo afectando su conversión alimentaria (Martínez y Van Endem, 1999; Martínez, 2002). Bezerra *et al.* (2009) hallaron en estudios con pulverizado de aceite de nim al 1% una eficacia del 92.1 y 84% al día 7 y 14 PT respectivamente frente a infestaciones naturales con *R. microplus*.

Las eficacias mostrada únicamente con abamectina o con nim son inferiores en comparación a los resultados obtenidos con la asociación FAN y la eficacia obtenida hasta el día 28 PT, estaría recayendo principalmente sobre la acción del fipronil, mientras que la abamectina reforzaría también el control sobre las garrapatas así como sobre los parásitos internos por su acción endectocida, simultáneamente el nim inicialmente colaboraría en el control de ectoparásitos debido a su acción de repelencia. Por lo cual esta asociación FAN, podría ser empleada en animales jóvenes que presentan infestaciones por garrapatas y endoparásitos, así como también sobre animales en engorde o en periodo de seca.

La asociación FE (Flumetrina 1% + Eprinomectina 0.5%) en el ensayo de campo, mostró ser eficaz (98.4%) en los primeros 14 días PT, decayendo con el transcurso de los días hasta un 92.4% el día 56 PT. Mekonnen (2000) al evaluar flumetrina en campo halló una alta eficacia (100%) desde el día 4 al 33 PT, resultando ineficaz al día 40, esto debido a que la flumetrina administrada vía percutánea se absorbe escasamente a través de la piel, por lo que fundamentalmente permanece al exterior del tejido adiposo, actuando así por contacto directo con los artrópodos (Elliott *et al.*, 1978). Por otra parte Aguirre *et al.* (2005) obtuvieron resultados donde la eprinomectina al 0.5% inicia con una eficacia de 86.9% al día 7 y termina con una eficacia de 96.1% al día 28 PT, difiriendo con los resultados obtenidos en el presente estudio. Esto debido a la acción endectocida de la eprinomectina, la misma que presenta un elevado porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, concentrándose principalmente en grasa e hígado; siendo notorio su control sobre endo- y ectoparásitos los primeros 7 días PT (Plumb, 2010).

La evaluación en campo de FE sobre el control de *R. microplus*, representa una buena alternativa para el control de esta parasitosis debido a tener una eficacia  $\geq 95\%$  y mantener un mayor periodo de eficacia por encima del 90%, además su empleo en vacas durante el periodo de lactación es recomendable debido a que sus principios activos no presenta tiempo de retiro en leche debido a su farmacocinética (Baoliang *et al.*, 2006; Villar *et al.*, 2012).

Por su parte la combinación FF (Flumetrina 1% + Fluazurón 2.5%) expresada en el cuadro 1, no obtuvo una eficacia  $\geq 95\%$  al día 7 PT; no obstante ésta empezó a incrementarse a partir de los 14 días PT, evidenciándose una eficacia satisfactoria desde el día 21 (98.8%) al 56 (97.3%). Además mostró su efecto residual al día 56 PT (97.3%) en comparación a las dos otras asociaciones mencionadas en el cuadro 1.

Esta diferencia entre las eficacias obtenidas se debe básicamente al efecto del fluazurón, que se caracteriza por interferir principalmente en la síntesis y depósito de quitina, impidiendo así la formación de cutícula en el ectoparásito que conlleva a la incapacidad de promover la ecdisis (Muñoz, 2002), interrumpiendo de esta manera el

desarrollo de los estadios evolutivos y disminuyendo así la cantidad de adultos desde el día 21 al 56 PT.

Además, a pesar de tener flumetrina en su composición no evidenció la alta eficacia obtenida por Mekonnen (2000) a partir del día 4 PT. El efecto residual a las 8 semanas PT, fue debido principalmente al efecto del fluazurón, ya que la eficacia de la flumetrina al día 47 PT es de tan solo un 50,5% (Mekonnen, 2000). Además, este efecto es favorecido pues el fluazurón es absorbido mediante el lamido y de manera lenta a través de la piel, originando así un almacenamiento en el tejido adiposo y una liberación lenta hacia el torrente sanguíneo, lo que permite mantener niveles eficaces en sangre durante 11 semanas a más (EMEA, 2005; Casas *et al.*, 2009). La persistencia del fármaco en el bovino puede verse afectada en vacas de alta producción, por lo que su uso sería principalmente en vacas de seca, ganado de engorde y terneros.

Otra ventaja que muestra el fluazurón en el control de *R. microplus*, respecto a los otros principios activos evaluados es su mecanismo de acción basado en la inhibición de la síntesis de la quitina; mecanismo muy específico en estos artrópodos por lo que no induce resistencia, observada ya en muchos ixodíctidas, disminuyendo así los riesgos de contaminación medioambiental hacia otros organismos, principalmente vertebrados pues no presentan estructuras que contengan quitina (Oliveira *et al.*, 2012).

La reinfestación del medio ambiente juega un papel importante para la persistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en los pastizales, se sabe que estos ectoparásitos oviponen más de 4000 huevos y su eclosión puede llegar al 100% (Nuñez *et al.*, 1982; Farias *et al.*, 2007; Santos y Vogel, 2012). Por ello es necesario evaluar el uso de ixodíctidas cada vez más eficientes, que no solo controlen la presencia de garrapatas sobre el animal (evaluación en campo); sino también principios activos que afecten los parámetros reproductivos sobre aquellas teleoginas expuestas al tratamiento (evaluación *in vitro*).

El cuadro 2 expresa la eficacia garrapaticida *in vitro* sobre teleoginas, provenientes de bovinos tratados, con tres formulaciones comerciales *pour on* y colectadas a las 24, 48 y 72 horas post-tratamiento (PT); considerándose sus efectos sobre mortalidad, oviposición

en teleoginas así como peso del aove durante los 21 días de evaluación post colecta y su eclosión al día 30 post-colecta de aoves

Se observa que la combinación FAN mostro una eficacia del 100% en su acción garrapaticida sobre teleoginas a nivel *in vitro* y esto va asociada con una 100% de mortalidad a las 72 horas PT; así como una nula oviposición.

Dentro de los mecanismos de acción de los principios activos involucrados en el FAN, se conoce que el fipronil, actúa inhibiendo del impulso nervioso en los invertebrados, originando así hiperexcitabilidad, parálisis y la posterior muerte (Castro-Janer *et al.*, 2010; Prullage *et al.*, 2011). Evaluaciones *in vitro* fueron realizadas por Davey *et al.* (1998), con fipronil *pour on* al 1%, donde obtuvieron una eficacia de 99.7% durante 8 semanas PT; siendo estos resultados cercanos al 98.28% hallado por Cid *et al.* (2012) mediante la prueba de inmersión (400 ppm); ambos resultados son muy similares a los obtenidos en el presente estudio a pesar de no haber usado la misma metodología por tratarse de productos aplicados en forma *pour on*. La ausencia de oviposición y evidentemente no presencia de aoves, son explicados en el estudio realizado por Oliveira *et al.* (2009), en el cual mencionan que los ovocitos sufren una de serie de cambios morfológicos que determina su muerte celular.

Se conoce también que la abamectina a nivel *in vitro* produjo una reducción en la oviposición de 37.11% y una eclosión de 33% Pereira, (2009), por su parte Cid *et al.* (2010) obtuvo una eficacia de 90.42%; estos resultados indican un parcial control del ciclo biológico, pero es evidente que la mayor acción recae sobre el mecanismo del fipronil.

Por otra parte la influencia del aceite de neem sería menor como se demostró en los trabajos realizados por Mansingh y Williams (1998) donde obtuvieron una mortalidad *in vitro* de 68%; siendo muy similares al 65% obtenido por Broglio-Micheletti *et al.* (2009) durante una evaluación de 21 días. Así también Costa *et al.* (2008) obtuvieron una eficacia *in vitro* de 32%, que está por debajo del valor mínimo de 95% establecido por Brasil (1990).

La asociación FE en el ensayo *in vitro* mostro una eficacia del 99% a las 72 horas PT; a pesar de obtener parámetros no satisfactorios como la mortalidad en teleoginas



(33.3%), 43% de oviposición y un 65% de eclosión de huevos colectados; siendo lo más resaltante la considerable reducción sobre la masa de aoves (0.02g) a las 72 horas PT, razón por la cual el porcentaje de eficacia mejoró (99%). Esta eficacia podría explicarse debido a la acción por contacto que posee la flumetrina además a la actividad sistémica de la eprinomectina ocasionando la reducción de la masa de huevos y eclosión hacia las 72 horas PT; tal como lo hallado por Elias (1987); El-Azazy y Lucas, (1996); Cuore *et al.* (2009) quienes señalaron que tanto flumetrina como eprinomectina presenta una acción negativa sobre la postura y viabilidad de los huevos; por lo cual la asociación de estos principio activo resulta beneficioso en el control biológico contra *R. microplus*.

Por último la combinación FF mostró una eficacia del 100% en la evaluación *in vitro*; a pesar que la mortalidad en las teleoginas fue baja (13.3 al 16.7%) y presentó una oviposición superior al 60%; sin embargo no se evidenció eclosión alguna sobre las aoves colectadas.

A pesar que flumetrina actúa por contacto y permanece sobre el hospedero, su efecto “Knock down” fue pobre; la literatura también describe que puede ocasionar una ocasional muerte por hiperexcitabilidad, por lo cual algunas de ellas podrían caer del animal y posteriormente retomarían sus funciones vitales (Muñoz, 2002). El efecto letal débil es debido a que fluazurón solo tiene un efecto garrapaticida sobre ninfas de 3.2% como lo demostrado por Oliveira *et al.* (2012).

La ausencia de eclosión se debe a la acción del fluazurón, al ocasionar la inhibición de la síntesis de la quitina, interfiere con la formación de quitina durante la embriogénesis, lo que reprime la viabilidad larval durante la eclosión (Miranda *et al.*, 1996; EMEA, 2005; Casas *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2012); por otra parte la reducción de la oviposición y la masa de huevos es producido únicamente por la acción inhibitoria de la flumetrina (El-Azazy y Lucas, 1996).

Por los resultados mostrados tanto en campo como *in vitro* se concluye que la asociación FAN controla altamente la presencia de teleoginas hasta el día 28 PT y siendo mejor su evaluación *in vitro*, al originar una eficacia del 100%, por lo cual su uso es

recomendable sobre animales en periodo de seca, animales jóvenes o de carne en los que se respete el tiempo de retiro.

Con respecto a la asociación FE se concluye que esta controla eficazmente la presencia de teleoginas en campo hasta el día 14 PT y a nivel *in vitro* fue eficiente en las teleoginas colectadas luego de las 40 hrs PT, al mostrar eficacia superior al 98%; siendo una ventaja adicional, el no tener tiempo de retiro en leche, esta asociación puede ser empleada en animales en periodo de lactación.

Por su parte la asociación FF mostro ser eficaz desde el día 21 hasta el 56 PT y además fue la que presento el mejor periodo residual en la evaluación en campo; a nivel *in vitro* esta mostro un 100% de eficacia, por lo cual constituye una excelente asociación para el control de garrapatas en animales en periodo de seca o aquellos en los que se respete el tiempo de retiro.

Es importante considerar que la resistencia a los ectoparasiticidas es un fenómeno presente en muchos países del mundo (FAO, 2003), por lo que se debe tener en cuenta la alternancia de drogas, el tiempo de residualidad, la correcta dosificación así como también la fecha de expiración de los ixodicidas.

## VI. CONCLUSIONES

- La formulación Fipronil 1% + Abamectina 0.5% + Aceite de Neem 2% fue eficaz en la evaluación de campo (99.4-100% del día 7-28 PT) e *in vitro* (100%) a las 24,48 y 72 horas post colecta.
- La asociación Flumetrina 1% + Eprinomectina 0.5% mostro una eficacia corta en campo (95.8-98.4% del día 7-14 PT), a nivel *in vitro* fue eficaz (98-99%) a las 48 y 72 horas post colecta.
- La asociación Flumetrina1% + Fluazurón 2.5% mostró una eficacia del 94.4% al día 14 PT; siendo su eficacia satisfactoria ( $\geq 95\%$ ) en campo a partir del día 21 hasta 56 días PT, además mostró el mayor periodo residual (97.3%) hasta el día 56 PT y a nivel *in vitro* mostro una eficacia del 100% en las tres fechas post colecta.

## VII. LITERATURA CITADA

1. **Aguirre DH, Gaido AB, Cafrune MM, Castelli ME, Mangold AJ, Guglielmone AA.** 2005. Eprinomectin pour-on for control of *Boophilus microplus* (Canestrini) ticks (Acari: Ixodidae) on cattle. *Vet Parasitol* 127: 157-163.
2. **Alonso-Díaz MA, Rodríguez-Vivas RI, Fragoso-Sánchez H, Rosario-Cruz R.** 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med* 2: 38-39.
3. **Alonso-Díaz MA.** 2002. Prevalencia de ranchos con garrapatas *Boophilus microplus* resistentes a piretroides y organoclorados y factores de riesgo asociados a su presentación en el estado de Yucatán, México. Tesis de Maestría en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Mérida: Universidad Autónoma de Yucatán. p. 54-75.
4. **Alvarado RU, Gonzalez JC.** 1979. A postura e a viabilidade do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (*Acarina, Ixodidae*) em condições de laboratório. *Ver Lat Amer Microbiol* 21: 31-36.
5. **Álvarez V, Hernández V, Romero J.** 2007. Fase no parasítica de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) En condiciones Ambientales y de Laboratorio en Costa rica. *Agronomía Costarricense* 31 (Suppl.2): 49-56.
6. **Anadon A, Martinez-Larranaga MR, Martinez MA.** 2009. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *J Vet* 182: 7-20.
7. **Andreotti R, Gomes A, Malavazi-Piza K C, Sasaki SD, Sampaio C A M, Tanaka AS.** 2002. BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick. *Internacional Immunopharmacology, Amsterdam* 2: 557-563.
8. **Armendáriz GI.** 2003. Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodicidas en *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en Tamaulipas, México. *Vet Méx.* 34: 397-401.
9. **Azzolini SS, Sasaki SD, Torquato RJS, Andreotti R, Andreotti E, Tanaka AS.** 2003. *Rhipicephalus sanguineus* trypsin inhibitors present in the tick larvae: characterization, and partial primary structure determination. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 417: 176–182.

10. **Baoliang P, Yuwan W, Zhende P, Lifschitz AL, Ming W.** 2006. Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following subcutaneous administration to lactating dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 30 (Suppl.3): 263-270.
11. **Barker S, Murrel A.** 2004. Review systematic and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasithol* 129: 15-36.
12. **Barriga O.** 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina. Santiago de Chile: Germinal. 247 p.
13. **Beugnet F, Franc M.** 2012. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. *Trends in Parasitology* 28 (Suppl.7): 267-279.
14. **Bezerra DS, Rodrigues B, Sanavria, Guimarães S.** 2009. Avaliação da utilização de Nim (*Azadirachta indica*) no controle parasitário em bovinos de produção leiteira em sistema orgânico. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 47 Dezembro. Embrapa Agrobiologia, Rio de Janeiro. 36 p.
15. **Blagburn BL, Lindsay DS.** 2003. Ectoparasitocidas. En: Adams R. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. 2ª ed. Zaragoza: Acribia p. 1091-1115.
16. **Bloomquist J.** 2003. Universidad de Minnesota: Insecticidas: químicas y características. [Internet], [20 abril 2014]. Disponible en: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/BloomquistSp.htm>
17. **Bove O, Farnos O, González A, Fernández R, Acosta J, Valdez R, González L, Guanche Y, Izquierdo G, Suarez M, Domínguez M, Lleonart R.** 2004. Production and biochemical characterization of the recombinant *Boophilus microplus* Bm 95 antigen from *Pichia pastories*. *Exp Applied Acarol* 32 (Suppl.1-2): 119-128.
18. **Brasil, Ministério da Agricultura.** Portaria n. 90 de 04 de dezembro de 1989. Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários. *Diário Oficial*, 22 jan. 1990, séc. 1, col. 2.
19. **Brizuela CM, Ortellado CA, Sanchez TI, Osorio O, Walker AR.** 1996. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay - analysis of natural infestations. *Vet Parasitol* 63 (Suppl.1-2): 95-108.
20. **Broglia-Micheletti SMF, Neves-Valente EC, De Souza AL, Da Silva-Dias N; Girón-Pérez K, Prêdes-Trindade RC.** 2009. Control de *Rhipicephalus (Boophilus)*

- microplus* (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales. Rev Colom de Entomolo 35 (Supl.2): 145-149.
21. **Bull MS, Swindale S, Overend D, Hess EA.** 1996. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazurón – an acarine growth regulator. Australian Vet J 74: 468–470.
  22. **Campos E, Moraes J, Facanha R, Moreira E, Valle D, Abreu L, Manso P, Nascimento A, Pelajo M, Lenzi H, Masuda A, Da Silva I, Logullo C.** 2006. Kinetics of energy source utilization in *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) embryonic development. Vet Parasit 138: 349-357.
  23. **Casas E, Trigueros A, Chávez A, Tang J, Ruiz F.** 2009. Tratamiento y control de Garrapata *Boophilus microplus*, a través de la combinación de fluazurón/fipronil *pour on*, en bovinos de trópico, Pucallpa, Perú. [Internet], [10 setiembre 2013]. Disponible en:  
<http://www.agrovetermarket.com/pdf/antiparasitario/Duotak%20FF/Duotak%20FF%20UNMSM.pdf>
  24. **Castro-Janer E, Martins J, Mendes M, Namindome A, Klafke G, Schummaker T.** 2010. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using in vitro larval bioassays. Vet Parasitol 173: 300-306.
  25. **Cid YP, Magalhães VS, Santos AL, Florêncio CN, Correia TR, Scott FB.** 2012. Atividade *in vitro* do fipronil frente a diferentes populações de *Rhipicephalus Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Rev Bras Med Vet 34 (Supl.1): 5-10.
  26. **Cid YP, Magalhães VS, Silva DD, Lambert MM, Scott FB.** 2010. Eficácia *in vitro* de lactonas macrocíclicas sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Rev Bras Med Vet 32 (Supl.1):7-10.
  27. **Cobon G, Hungerford, Woodrow M, Smith D, Willadsen P.** 1995. Vaccination against *Boophilus microplus*: the Australian field experience. Recombinant Vaccines for the control of cattle tick. Elpos Scientiae 280 p.
  28. **Cordero del Campillo M, Rojo FD, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, Diez P, Quiroz H, Carvalho M.** 1999. Parasitología Veterinaria. 1ª ed. Madrid: McGraw Hill. 968 p.

29. **Costa FB, Vasconcelos PSS, Silva AMM, Brandão VM, Da Silva IA, Teixeira WC, Guerra R, Dos Santos AC.** 2008. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 17 (Suppl.1): 83-86.
30. **Cuore U, Cardozo H, Trelles A, Nari A, Solari MA.** 2008. Características de los garrapaticidas utilizados en Uruguay. Eficacia y poder residual. Veterinaria (Montevideo) 43 (Suppl.169): 13-24.
31. **Cuore U, Solari MA, Cicero L, Trelles A, Gayo V, Nari A.** 2009. Evaluación de los garrapaticidas actualmente disponibles en Uruguay para su utilización en los despachos de tropa. Veterinaria 45 (Suppl.173-176): 23 – 30.
32. **Cupp EW.** 1991. Biology of ticks. Veterinary Clinics of North America 21 (Suppl.1): 1-26.
33. **Da Silva HC.** 2008. Parâmetros farmacocinéticos e atividade endectocida de uma nova formulação contendo avermectinas via tópica (pour-on), em bovinos. Tese de Doutor em Medicina Veterinária. São Paulo: Universidade Estadual Paulista. 111p.
34. **Davey RB, Ahrens EH, George JE, Hunter III JS, Jeannin P.** 1998. Therapeutic and persistent e efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. Vet Parasitol 74: 261-276.
35. **De Castro JJ, James AD, Minjauw B, Digiulio GU, Permin A, Pegram RG, Chizyuka HGB, Sinyangwe P.** 1997. Long-term studies on the economic impact of ticks on sanga cattle in Zambia. Experimental & Applied Acarology, 21 (Suppl.1): 3-19.
36. **De Castro JJ.** 1998. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. Vet Parasitol 71 (Suppl.2-3): 77-97.
37. **De La Fuente J, Rodriguez M, Redondo M.** 1998. Field studies and costeffectiveness analysis of vaccination with Gavac (TM) against the cattle tick *Boophilus microplus*. Vaccine 16: 366–373.
38. **Díaz R.** 2012. Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos *Rhipicephalus microplus*. Rev Colombiana de Ciencia Animal 5: 72-81.

39. **Dreyer K, Fourie LJ, Kok DJ.** 1997. Predation of livestock ticks by chickens as a tick-control method in a resource - poor urban environment. *Orderstepoort Journal of Veterinary Research* 64: 273-276.
40. **Drugueri L.** 2004. Garrapatas de los animales. Argentina. [Internet], [2 octubre 2013]. Disponible en:  
<http://www.zoetecnocampo.com/foro/Forum4/HTML/000143.html>
41. **Drummond R, Ernst S, Trevino J, Gladney W, Graham O.** 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J Econ Entomol* 66: 130-133.
42. **Dupuy JC, Chartier JF, Sutra MA.** 2001. Eprinomectin in dairy goats: dose influence on plasma levels and excretion in milk. *Parasitol Res* 87: 294-298.
43. **El-Azazy OME, Lucas SF.** 1996. The sterilizing effect of pour-on flumethrin on the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 61: 331-343.
44. **Elias VR.** 1987. Avaliação do efeito carrapaticida de alguns piretróides sintéticos sobre o carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae). Tese de Mestre em Medicina Veterinária. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 124 p.
45. **Elliot M, Janes NF, Potter C.** 1978. The future of pyrethroids in insect control. *Annual Review Entomological* 23: 443-469.
46. **EMEA.** 2005. European Medicines Agency: Fluazuron. [Internet], [12 enero 2014]. Disponible en:  
[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014283.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014283.pdf)
47. **Encinas A, Oleada A, Pérez R.** 1999. Garrapatas duras. En: Cordero del Campillo M, Rojo FD, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, Díez P, Quiroz H, Carvalho M. *Parasitología Veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill- Interamericana. p 420-429.
48. **Estrada-Peña J, García Z, Fragoso SH.** 2006. The distribution and ecological preferences of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) in Mexico. *Exp Appl Acarol* 38: 307-316.



49. **Faccini JLH, Barros-Battesti.** 2006. Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos. En: Carrapatos de Importancia Medico-Veterinaria da Região Tropical: Um guia Ilustrado para Identificação de especies. São Paulo, Vox/ICCTTD-3 butantan 5-10 p.
50. **Falco RC, Fish D.** 1991. Horizontal movement of adult *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) attracted to CO<sub>2</sub> baited traps. *Journal of Medical Entomology*, 28 (Suppl.5): 726-729.
51. **Falk-Vairant JP, Guerin M, de Bruyne M, Rohrer M.** 1994. Some observations on mating y fertilization in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Medical and Veterinary Entomology* 8: 101-103.
52. **FAO.** 1984. Tick and Tick Borne Diseases Control: A Practical Field Manual. (Vol. I-II): FAO-UNDP 297: 374-382.
53. **FAO.** 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Estudio FAO, Producción y Sanidad Animal 157: 1-51.
54. **Farias MPO, Sousa DP, Arruda AC, Arruda MSP, Wanderley AG, Alves LC, Faustino MAG.** 2007. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Rev Bras Pl Med Botucatu* 9 (Suppl.4): 68-71.
55. **Fernández RM, García VZ.** 1994. Control ecológico de la garrapatas *Boophilus* spp. del Ganado bovino. Folleto informative No. 4 INIFAP. 13p.
56. **Flechtmann CHW.** 1990. Ácaros de importância médico veterinária. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Nobel. 197 p.
57. **Fortes E.** 1997. Parasitologia Veterinária. 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 465 p.
58. **Fragoso SH, Martínez IF.** 2005. Control de garrapatas *Boophilus* y resistencia a los acaricidas. Segundo Simposium sobre Enfermedades que afectan a los Bovinos en el Sistema Vaca /Becerro Nuevo León México. 66 -71 p.
59. **Fragoso SH, Ortiz EM, De Labra V, Ortiz NN, Rodríguez M, Redondo M, De La Fuente J, Hernández PV.** 1999. Evaluación de la vacuna contra la garrapata Bm86 (Gavac) para el control de *Boophilus microplus*. Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal. Puerto Vallarta, Jalisco, México. p 47-50.

60. **González RUA.** 2007. Dinámica de la garrapata (*Boophilus microplus*) en el municipio de Siuna, Región Autónoma del Atlántico Norte (RAAN). Tesis de grado. Facultad de Ciencia Animal. Managua: Universidad Nacional Agraria. 61 p.
61. **Guglielmone A, Mangold A, Castillo M, Suarez V, Cafrune M, Cetra B, Fader O, Luciani C, Menus P, Navas S.** 2006. Toxicidad *in vitro* de la cipermetrina para *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Can.) y del diazinón para *Haematobia irritans* (L.) en la Argentina. *Rev Inv Agropec* 35 (Suppl.1): 31-41.
62. **Gutiérrez OJD.** 2006. Identificación de órganos blanco en garrapatas de la especie *Boophilus Microplus* para anticuerpos-antigarrapata de bovinos inducidos por el inmunógeno Tick-Vac MK® del laboratorio Limor de Colombia S.A mediante métodos de inmunoperoxidasasa. Tesis de grado. Bogotá: Facultad de Microbiología industrial. Pontificia Universidad Javeriana. 90 p.
63. **Hagen SJA, Kopp A.** 1999. Estudios de resistencia a acaricidas en la garrapata bovina *Boophilus microplus* en América Central. Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal. Puerto Vallarta, Jalisco. México. 33-35 p.
64. **Hendrix C.** 1999. Diagnostico Parasitológico Veterinario. 2<sup>a</sup> ed. Madrid: Harcourt Brace. 325 p.
65. **Hernández F.** 1996. Biología de garrapatas de un hospedador *Boophilus microplus* y su control a través de un manejo integrado (ITM). Maracay. Venezuela. 3er Cong Cs Vet 1 (Suppl.3): 37-42.
66. **Holdsworth PA, Kemp D, Green P, Peter RJ, De Bruin C, Jonsson N, Letonja T, Rehbein S, Vercruyse J.** 2006. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. *Vet Parasitol* 136: 29-43.
67. **Horak IG, Camicas JL, Keirans JE.** 2002. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari:Ixodida): a world listo of valid tick names. *Experimental and Applies Acarology* 28: 27-54.
68. **Horak IG, Fourie LJ, Vanzyl JM.** 1995. Arthropod parasites of impalas in the Kruger National Park with particular reference to ticks. *South African Journal of Wildlife Research* 25 (Suppl.4): 123.-126.

69. **Hugh-Jones M.** 1991. The remote recognition of ticks habitats. *J Agricole Entomol* 8 (Suppl.4): 309-315.
70. **Kassai T.** 1998. *Helmintología Veterinaria*. Zaragoza: Acribia. 258 p.
71. **Klompen JSH, Black WC, Keirans JE, Norris DE.** 2000. Systematics and biogeography of hard ticks, a total evidence approach. *Cladistics* 16: 79-102.
72. **Larregina AT, Falo LD.** 2005. Changing paradigms in cutaneous immunology: adapting with dendritic cells. *J Invest Dermatol* 124: 1-12.
73. **Lee SM, Klocke JA, Barnby MA, Yamasaki RB, Balandrin MF.** 1991. Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). Washington, DC, ACS. ACS Symposium Series p 449.
74. **Lima WS, Ribeiro MF, Guimaraes MP.** 2000. Seasonal variation of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in Cattle in Minas Gerais State, Brazil. *Tropical Animal Health and Production* 32 (Suppl.6): 375-380.
75. **Lopes WDZ, Cruz BC, Teixeira WFP, Felippelli G, VMaciel WG, del Buzzulini C, Gomes LVC, Favero F, Soares VE, Bichuette MA, de Oliveira GP, da Costa AJ.** 2014. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* strains resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). [Internet], [26 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587714001640>
76. **López G.** 1980. Control de garrapatas. Instituto Colombiano Agropecuario Regional número 4. Compendio número 39. Antioquia, Colombia.
77. **Mansingh, A, Williams LAD.** 1998. Pesticidal potential of tropical plants - II. Acaricidal activity of crude extracts of several jamaican plants. *Insect Science and its Application*, Nairobi 18 (Suppl.3): 658-664.
78. **Manual Merck de veterinaria.** 2000. 5ª ed. Barcelona: Océano. 758 p.
79. **Martínez SS, Van Endem HF.** 1999. Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of Entomology Research*, Farnham Royal 89: 65-71.
80. **Martínez SS.** 2002. O NIM – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Instituto agrônômico do Paraná. Londrina: IAPAR. p 142.

81. **Martins L, Leite E, Martins O, Barbosa M.** 2006. Comparison of different direct diagnostic methods to animals vaccinated with live attenuated parasites. *Vet Parasitol* 139: 231-236.
82. **Mekonnen S.** 2000. Efficacy of flumethrin 1% pour-on against ticks on cattle under field conditions in Ethiopia. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 67: 235-237.
83. **Mendes MC, Pinto Lima CK, Pereira JR.** 2008. Práticas de Manejo para o Controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba, São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo* 75 (Suppl.3): 371-373.
84. **Mikolajczyk P, Oberlander H, Silhacek DL, Ishaaya I, Shaaya E.** 1994. Chitin synthesis in *Spodoptera frugiperda* wing imaginal discs. I. Chlorfluazuron, diflubenzuron, and teflubenzuron inhibit incorporation but not uptake of [14C]-N-acetyl-D-glucosamine. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 25: 245–258.
85. **Miranda ME, García VZ.** 1996. Control químico de la garrapata *Boophilus microplus* del ganado. Publicación especial núm. 4 CENID-PAVET/INIFAP 5-6.
86. **Municipalidad provincial de Oxapampa.** 2010. Plan de desarrollo concertado del distrito de Oxapampa 2009-2021: [Internet], [20 setiembre 2013]. Disponible en: <http://www.munoxapampa.com/plandesarrollo/PlanDesarrolloConcertadoDistritoOxapampa.pdf>
87. **Muñoz CM.** 2002. Antiparasitarios externos. En: Botana LM, Landoni F, Jiménez G. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. p 505-516.
88. **Murrell A, Barker SC.** 2003. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Syst Parasitol* 56 (Suppl.3): 169-172.
89. **Nuñez J, Muñoz M, Moltedo H.** 1982. *Boophilus microplus*: La garrapata común del Ganado vacuno. Buenos Aires: Hemisferio Sur. 184 p.
90. **Nuttall PA, Trimmell AR, Kazimirova M, Labuda M.** 2006. Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases. *Parasite immunology* 28: 155-163.

91. **Oberlander H, Smagghe G.** 2001. Imaginal discs and tissue cultures as targets for insecticide action. In: Ishaaya I. Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance. Berlin: Springer. p 133–150.
92. **Ojeda-Chi MM, Rodríguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R.** 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Vet Parasitol* 170: 348-354.
93. **Oliveira PR, Bechara GH, Marin MA, Camargo MI.** 2009. Action of the chemical agent fipronil on the reproductive process of semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Ultrastructural evaluation of ovary cells. *Food and Chemical Toxicology* 47 (Suppl.6): 1255-1264.
94. **Oliveira PR, Calligaris IB, Roma GC, Bechara GH, Pizano MA, Camargo MI.** 2012. Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of *Rhipicephalus sanguineus* nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): Determination of the LD95 and LD50. *Experimental Parasitology* 131: 35–39.
95. **Ortiz M, Franco BR.** 2005. Experiencia de un programa estratégico de control en *Boophilus microplus* y *Amblyomma cajennense*, empleando inhibidores de crecimiento (Fluazurón), ivermectina y baños convencionales en bovinos naturalmente infectados, en México. En: Congreso Biotecnología. Habana.
96. **Parra MH, Peláez SL, Segura CF, Arcos JC, Londoño A, Díaz E, Vanegas MA.** 1999. Manejo integrado de garrapatas en bovinos. Serie modular para la capacitación en tecnologías agropecuarias 2:72-77.
97. **Patarroyo JH, Vargas MI, Gonzáles CZ, Gusmán F, Martins-Filho OA, Afonso LCC, Valente FL, Peconick AP, Marciano AP, Patarroyo VAM, Sossai S.** 2009. Immune response of bovines stimulated by synthetic vaccine SBm7462® against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet Parasitol* 166: 333–339.
98. **Penrooz H.** 2009. Evaluación de fipronil (Frenil®) contra *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) en perros infestados en forma experimental. Tesis de Médico Veterinario. Chillan: Universidad de Concepción. 48p.

99. **Pereira JR.** 2009. The efficiency of avermectins (abamectin, doramectin and ivermectin) in the control of *Boophilus microplus*, in artificially infested bovines kept in field conditions. *Vet Parasitol* 162: 116–119.
100. **Perez-Cogollo LC, Rodríguez-Vivas RI, Ramirez-Cruz GT, Miller RJ.** 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol* 168: 165–169.
101. **Plumb DC.** 2010. *Manual de Farmacología Veterinaria*. 6<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Intermedica. 1239 p.
102. **Popham TW, Garris GI.** 1991. Considerations when modeling alternative eradication strategies for *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) in Puerto Rico. *Entomol* 8: 271-289.
103. **Prullage J, Tran H, Timmons P, Harriman J, Chester T, Powell K.** 2011. The combined mode of action of fipronil and amitraz on the motility of *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet Parasitol* 179: 302-310.
104. **Quiroz H.** 2007. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales domésticos*. México: Limusa. 876 p.
105. **Randolph SE.** 1997. Abiotic y Biotic Determinants of the Seasonal Dynamics of the Tick *Rhipicephalus appendiculatus* in South Africa. *Med Vet Entomol* 11(Suppl.1): 25-37.
106. **Rechav Y, Strydom WJ, Clarke FC, Burger LB, Mackie AJ, Fielden LJ.** 1994. Isotopes as host blood markers to measure blood intake by feeding ticks (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 31: 511- 513.
107. **Rodríguez SA, Rodríguez MC, Cruz CA.** 2010. Efecto ixodicida de los extractos etanólicos de algunas plantas sobre garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev MVZ Córdoba* 15 (Suppl.3): 2175-2184.
108. **Rodríguez VRI, Quiñones AF, Fragoso SH.** 2005. Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus microplus* en el ganado bovino. En: *Enfermedades de importancia económica en producción animal*. México: McGraw-Hill. p 571-592.
109. **Rodríguez VRI, Rosado AA, Basto EG, García VZ, Rosario CR, Fragoso SH.** 2006. *Manual técnico para el control de las garrapatas en el ganado bovino*. Jiutepec: CENID. 28 p.

110. **Rodríguez-Vivas RI, Arieta-Román RJ, Pérez-Cogollo LC, Rosado-Aguilar JA, Ramírez-Cruz GT, Basto-Estrella G.** 2010. Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino. Arch med vet 42: 115-123.
111. **Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz MA, Fragoso-Sánchez H, Santamaría VM, Rosario-Cruz R.** 2006. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the State of Yucatan, Mexico. Prev Vet Med 75: 280–286.
112. **Rojas M.** 2004. Nosoparasitosis de los rumiantes peruanos. 2ª ed. 146 p.
113. **Rosario-Cruz R, Domínguez-García DI, Hernández-Ortiz R, Rojas-Ramírez E.** 2007. Estrategias para el control integral de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia. CENID-PAVET INIFAP, Jiutepec. Morelos, México. [Internet], [14 setiembre 2013]. Disponible en: <http://www.conasamexico.org.mx/08comite19rodrigorosario.pdf>
114. **Santamaría M, Soberanes N, Fragoso H, Martins J, Cordovés C.** 2003. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à amitraz. Ciência Rural Santa Maria 33 (Suppl.4): 737-742.
115. **Santos FC, Vogel FS.** 2012. Avaliação *in vitro* da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Pl Med Botucatu 14 (Suppl.4): 712-716.
116. **Santos JJ, Furlong J, Daemon E.** 2000. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em sistemas de produção de leite da microrregião fisiográfica fluminense do grande Rio - Rio de Janeiro. Ciência Rural, Santa Maria 30 (Suppl.2): 305-311.
117. **Schleske MIC.** 2011. Prevalencia de unidades de producción con garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a amidinas y factores de riesgo asociados a su presentación en la región centro del estado de Veracruz. Tesis de Maestría en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz: Universidad Veracruzana. 56 p.
118. **Schmutterer H.** 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology Stanford 35: 271-297.

119. **Shoop WL, Mrozik H, Fisher MH.** 1995. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Vet Parasitol* 59: 139-156.
120. **Sossai S, Peconick AP, Sales-Junior PA, Marcelino FC, Vargas MI, Neves ES, Patarroyo JH.** 2005. Polymorphism of the *bm86* gene in South American strains of the cattle ticks *Boophilus microplus*. *Exp Appl Acarol* 37 (Suppl.3-4): 199-214.
121. **Spickett AM.** 1994. Tick ecology. *International Journal for Parasitology* 24 (Suppl.6): 845-849.
122. **Stendel W, Hawel H, Sieveking H, Brunhe D.** 1992. Analytical determination of distribution of flumethrin on the body surface of cattle following topical pour on application. *Vet Parasitol* 42: 137-143.
123. **Sumano LH, Ocampo CL.** 2006. *Farmacología Veterinaria*. 3<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 1082 p.
124. **Tang P J, Ruiz HF, Rodríguez IL.** 2008. Evaluación de Eficacia y Tolerancia de una Solución Topical Externa sobre la base de Flumetrina al 1% (Ectickol® Pour On) para el control de infestaciones por *Microthoracius praelongyceps* en Alpacas de la Sierra Central. [Internet], [14 setiembre 2013]. Disponible en: <http://www.agrovetmarket.com/pdf/antiparasitario/Ectickol%20Pour%20On/2%20Ectickol%20Pour%20On%20Alpaca.pdf>
125. **Teel PD, Marin S, Grant WE, Stuth JW.** 1997. Simulation of host-parasite-landscape interactions: influence of season y habitat on cattle fever tick (*Boophilus* sp.) population dynamics in rotational grazing systems. *Ecological Modelling* 97 (Suppl.1-2): 87-97.
126. **Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW.** 2001. *Parasitología veterinaria*. 2<sup>a</sup> ed. Zaragoza: Acribia. 355 p.
127. **Vieira MIB, Leite RC, Sacco AMS, Silva JGC.** 2003. Estratégias de controle do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrine, 1887) e influência na estabilidade enzoótica da babesiose bovina. *Rev Bras Parasitol Vet* 12 (Suppl.4): 139-144.
128. **Vieira PC, Fernandes JB.** 1999. Plantas inseticidas. In: Simões CMO. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS. p 739-754.



129. **Villar D, Olivera M, Díder R, Chaparro J.** 2012. Aproximación al tema de residuos antimicrobianos y antiparasitarios en leche: Límites permisibles y tiempos de retiro. Medellín: Biogénesis. 80 p.
130. **Wall R, Shearer D.** 2010. Ectoparasitología veterinaria: Biología, patología y control 2<sup>a</sup> ed. Zaragoza: Acribia. 251 p.
131. **Wikel SK.** 1996. Host immunity to ticks. Annual Review Entomology 41: 1-22.
132. **Willadsen P.** 2006. Tick Control: Thoughts on a research agenda. Vet Parasit 138: 161-168.
133. **Williams LAD, Mansingh A.** 1996. The insecticidal and acaricidal actions of compounds from *Azadirachta indica* (A. Juss.) and their use in tropical pest management. Integrated Pest Management Reviews 1 (Suppl.3): 133-145.
134. **Wood IB, Amaral NK, Barden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB, Pankavich JA, Reinecke RK, Slocombe O.** 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.), second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). Vet Parasitol 58: 181-213.
135. **Woodham CB, González OA, López LA, Guereña MR.** 1983. Progresos en la erradicación de las garrapatas *Boophilus microplus* en México 1960-1968. Rev Mund Zoot 48:18-24.
136. **Zhao X, Yeh JZ, Salgado VL, Narahashi T.** 2004. Fipronil Is a Potent Open Channel Blocker of Glutamate-Activated Chloride Channels in Cockroach Neurons. JPET 192-201.