

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A ACARICIDAS EN GARRAPATA  
RHIPICEPHALUS SANGUINEUS EN MEXICALI, BAJA CALIFORNIA**

**PRESENTA**

**MVZ. CARLOS IVAN ZUNIGA TORRES**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DRA. SAWAKO OSHIMA**

**MEXICALI, BAJA CALIFORNIA**

**JUNIO 2021**

**EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A ACARICIDAS EN GARRAPATA *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* EN MEXICALI, BAJA CALIFORNIA.** Tesis presentada por MVZ. Carlos Ivan Zúñiga Torres como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias ha sido aprobada por el comité particular indicado:

---

Dra. Sawako Oshima  
Director de tesis

---

Dr. Luis Tinoco Gracia  
Asesor

---

Dr. Gerardo Enrique Medina Basulto  
Asesor

---

Dr. Rodrigo Rosario Cruz  
Asesor

---

Dr. Fernando Amilcar Solís Domínguez  
Asesor

Mexicali, Baja California, México.

Agosto, 2021

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por hacer posible la realización de este proyecto de investigación, gracias al apoyo económico que me otorgaron.

Al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (IICV) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por darme la oportunidad de formar parte del cuerpo estudiantil de posgrado.

A la Coordinación de la Maestría en Ciencias Veterinarias por facilitarme la información y los trámites durante esta etapa.

A mis padres por brindarme su amor y apoyo económico, por creer en mi decisión de estudiar este posgrad y por siempre estar ahí para mi

A mi novia Sally por todo su amor y confianza, que siempre estuvo ahí para animarme

A mis asesores de tesis por sus consejos, observaciones y asesorías que hicieron posible la culminación de este proyecto.

Por ultimo pero no menos importante, quiero agradecer con mucho cariño a la Dra. Sawako Oshima por darme la oportunidad y la confianza, aun cuando fui considerado un alumno no apto para el ingreso en el programa de posgrado, de no ser por ella ni siquiera hubiera sido capaz de ingresar.

## RESUMEN

Las garrapatas son parásitos artrópodos, hematófagos que transmiten una amplia variedad de patógenos de enfermedades zoonóticas como la enfermedad de Lyme, la fiebre manchada de las Montañas Rocallosas, anaplasmosis, ehrlichiosis, tularemia, entre otras. Por consecuencia la necesidad de controlar estos parásitos siempre ha existido, la manera más común de realizar este control ha sido con métodos químicos, los más utilizados son la familia de los piretroides. El objetivo del presente trabajo fue determinar la susceptibilidad a deltametrina en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de 2 zonas geográficas; Mesa Rica, y Mexicali, Baja California mediante la prueba de larva en paquete. Larvas de ambas regiones mostraron la resistencia a deltametrina a la dosis discriminante, siendo las larvas de Mexicali con mayor grado de resistencia. Se sugiere realizar más estudios de resistencia a acaricida para mejorar el programa del control y prevención de rickettsiosis en la ciudad de Mexicali.

**Palabras clave:** garrapatas, resistencia, *Rhipicephalus sanguineus*, piretroides, deltametrina.

## ABSTRACT

Ticks are arthropod, blood-sucking parasites that transmit a wide variety of zoonotic disease pathogens such as Lyme disease, Rocky Mountain spotted fever, anaplasmosis, ehrlichiosis, tularemia, among others. Consequently, the need to control these parasites has always existed, the most common way to carry out this control has been with chemical methods, the most used are the pyrethroid family. The objective of the present work was to determine the susceptibility to deltamethrin in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from 2 geographical areas; Mesa Rica, and Mexicali, Baja California using the larva-in-pack test. Larvae from both regions, resistance to deltamethrin at the discriminating dose, being the Mexicali larvae with the highest degree of resistance. It is suggested to carry out more studies of resistance to acaricide to improve the program for the control and prevention of rickettsiosis in the city of Mexicali.

**Key words:** Ticks, Resistance, *Rhipicephalus sanguineus*, pyrethroids, deltamethrin.

# CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>IV</b>
<b>CONTENIDO .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE CUADROS .....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE ABREVIACIONES.....</b>	<b>VIII</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>Garrapatas duras .....</b>	<b>3</b>
<b>Métodos de control.....</b>	<b>5</b>
<b>Control Químico .....</b>	<b>5</b>
<b>Control Biológico .....</b>	<b>7</b>
<b>Resistencia acaricida.....</b>	<b>8</b>
<b>Determinación de Resistencia .....</b>	<b>13</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
<b>Origen de las muestras .....</b>	<b>15</b>
<b>Metodología .....</b>	<b>18</b>
<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>20</b>
<b>DISCUSIONES .....</b>	<b>25</b>
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>27</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>28</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> . (CDC, 2020) .....	4
Figura 2. Esquema mecanismos de resistencia acaricida .....	10
Figura 3. Sobre de larva en paquete diseñado por Stone y Haydock (1962)....	14
Figura 4. Pool de huevos .....	16
Figura 5. Hembra en primer día de oviposición .....	17
Figura 6. Cámara de incubación.....	19
Figura 7. Prueba de larvas en paquete en la cámara de incubación. ....	20
Figura 8. Gráfica de mortalidad por concentración (pool) .....	23
Figura 9. Gráfica porcentaje de mortalidad, Mexicali .....	23
Figura 10. Gráfica porcentaje de mortalidad, Mesa Rica .....	24

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Mutaciones de canal de sodio asociadas a resistencia acaricida ....	12
Cuadro 2. Datos de muestreo.....	17
Cuadro 3. Datos de oviposición y eclosión.....	17
Cuadro 4. Resultados del análisis Probit.....	22

## LISTA DE ABREVIACIONES

<b>OMS</b>	<b>Organización Mundial de la Salud</b>
<b>RR</b>	<b>Factor de resistencia/índice de resistencia</b>
<b>LC50</b>	<b>concentración letal 50%</b>
<b>LC90</b>	<b>concentración letal 90%</b>
<b>LC99</b>	<b>concentración letal 99%</b>
<b>2xLC99</b>	<b>concentración discriminante</b>
<b>ppm</b>	<b>partes por millón</b>
<b>SENASICA</b>	<b>Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria</b>
<b>ONUAA</b>	<b>La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura</b>

## INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son parásitos hematófagos externos obligados, de los animales vertebrados, así como de los humanos (Sonenshine y Roe, 2013), Fueron reconocidas como vectores por primera vez en 1893 (Smith, 1899), en la actualidad garrapatas y mosquitos, son los principales vectores en la transmisión de patógenos al ser humano (Parola y Raoult, 2001). Algunos de estos patógenos son rickettsia, anaplasma y babesia (Wesołowski y col. 2014). desde 2008 hasta el 2012 en E.U.A se han reportado un promedio de incidencia anual de 8.9 casos por cada millón de habitantes (Drexler y col. , 2016). En México esta tasa fue de 3.83 por millón durante el periodo de 2002 a 2011 (Cabrera y col. , 2013). En inicios de otoño del año 2008 en la ciudad de Mexicali localizada en el estado de Baja California se reportó un brote de riquetsiosis, diseminado por su vector principal y único en la zona, *Rhipicephalus sanguineus*, debido a la falta de control en este brote en 2015 la secretaria de salud declaró emergencia epidemiológica en la ciudad, desde su inicio en 2008 hasta el año 2018 se reportaron 4000 casos (Tinoco-Gracia y col 2018).

Las infestaciones por estos parásitos también representan una problemática económica, se estima que el 65% del territorio en México está infestado por garrapata *Ripicephalus microplus* (Bautista-Garfias y col. , 2012), lo cual pone en riesgo a un aproximado de 24.9 millones de cabezas de

ganado. (Rodríguez-Vivas y col. , 2017), la infestación de esta garrapata afecta al ganado de engorda tanto como al ganado lechero, ocasionando disminución de ganancia de peso en el ganado de engorda y una reducción en la generación de litros de leche por periodo lactante en ganado lechero, tomando en cuenta esto, se estima que la pérdida económica anual en México es de casi 600 millones de pesos (Rodríguez-Vivas y col. , 2017).

A pesar de los efectos negativos que genera la garrapata en la salud pública, en México solo existen programas de control y monitoreo por parte del gobierno federal de la garrapata *Boophilus* spp. a través de la NOM-019-ZOO-1994, debido a su impacto en la producción de ganado bovino. En esta norma se especifica el uso de 4 productos contra la garrapata, organofosforados, piretroides, amidinas y endectocidas. Dichos productos están disponibles al público en general, esto se ha reflejado en el uso excesivo por parte de la población, consecuentemente se ha presentado el desarrollo de resistencia estos productos por parte de las garrapatas (Rodriguez-Vivas y col. , 2006).

Por lo anterior el objetivo del presente trabajo es realizar la evaluación de respuesta acaricida en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* originarias de 2 zonas geográficas; el poblado de Mesa Rica en Sonora y la Ciudad de Mexicali, capital del estado de Baja California, con la finalidad de descartar la presencia de resistencia fenotípica a piretroides.

# REVISIÓN DE LITERATURA

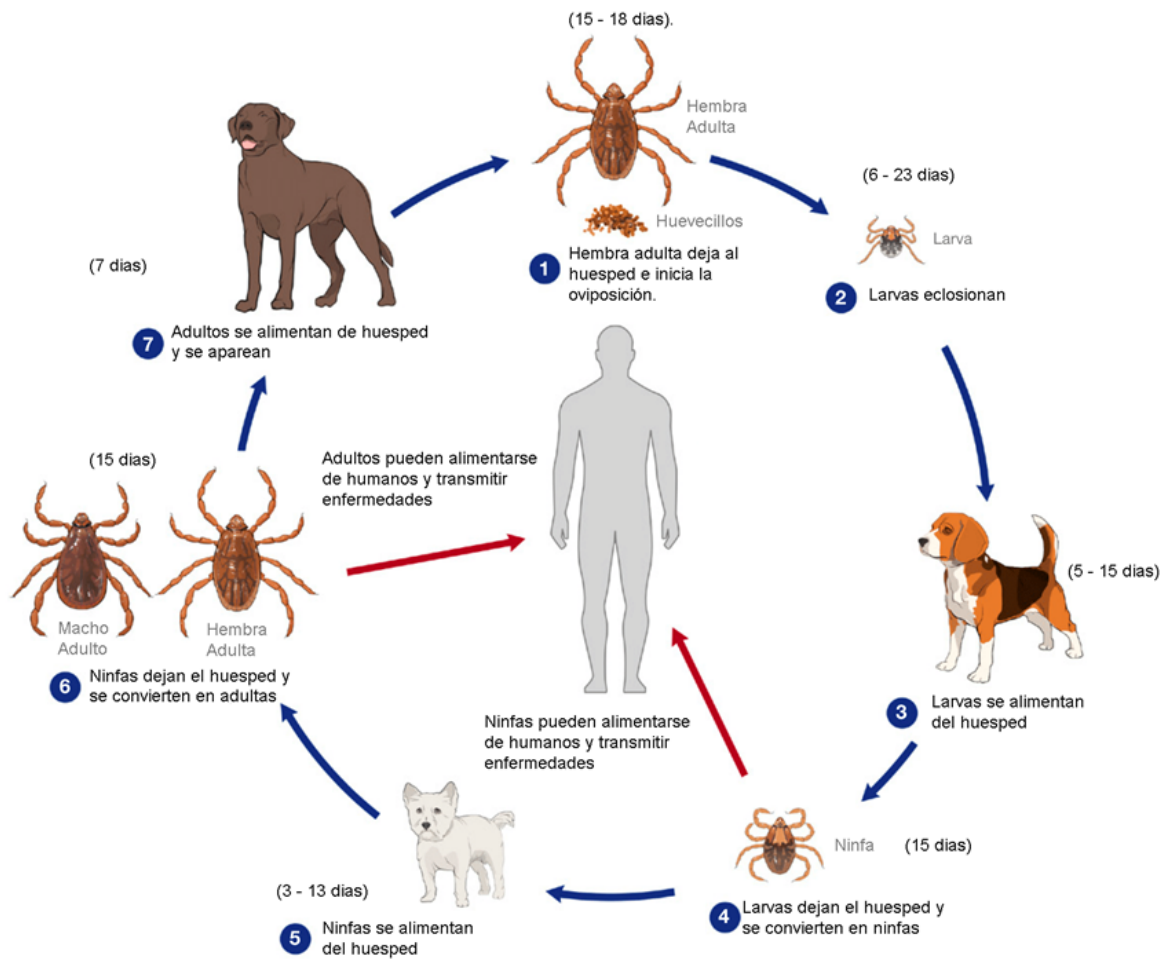
## **Garrapatas duras**

Estos parásitos son relativamente grandes y longevos, debido a su alimentación necesitan morder al huésped, por lo tanto, causan irritación, inflamación y en ocasiones reacciones de hipersensibilidad, al presentarse una infestación pueden llegar a causar anemia en el huésped. Sin embargo, el factor más importante de estos parásitos es el hecho de que son capaces de transmitir diversos patógenos de origen viral, bacteriano y protozoario (Taylor y col. , 2015).

El cuerpo de las garrapatas ixodidae está conformado por diferentes partes las cuales son (de craneal a caudal), hipostoma, dos quelíceros, dos palpos, y escudo, de éstas la más importante es el escudo ya que gracias a él se clasifican estas garrapatas, en hembras adultas el escudo recubre la zona dorsal anterior a diferencia de los machos ya que en ellos el escudo cubre toda la superficie corporal (Sonenshine y Roe, 2013).

El ciclo de vida de las garrapatas ixodidae comúnmente incluye el estado larvario, ninfa y adulto, estas se alimentan masivamente de sangre en cada etapa del ciclo de vida. Los estados inmaduros (larvas y ninfas) usualmente se alimentan de huéspedes de pequeño tamaño, los cuales pueden ser roedores o aves, mientras que los adultos comúnmente se alimentan de animales grandes, incluidos caninos y ungulados. Sin embargo, no es una regla para cada especie de garrapata, algunas tienen un tipo de huésped específico. La ausencia de

estos huéspedes específicos en una zona en particular puede prevenir la ocurrencia de garrapatas (Estrada-Peña, 2015). Es de vital importancia la comprensión del ciclo vital de las garrapatas ya que en base a esto se pueden realizar estrategias para su control.



**Figura 1.** Ciclo de vida garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. (CDC, 2020)

## **Métodos de control**

### **Control Químico**

En base al impacto económico y el riesgo a la salud pública que conlleva la garrapata, la humanidad ha buscado la manera de erradicar a estos parásitos, por lo cual a través de los años se han logrado desarrollar diversos productos denominados acaricidas (Stafford, 2007). Estos productos se encuentran disponibles de manera comercial en diversas presentaciones tales como; collares, champús, rociadores, ampollas (“spot-on” en inglés) y fumigantes.

### ***Productos de uso en el animal***

Entre los productos más usados en México en animales de compañía se encuentran; fipronil, Ivermectina, así mismo, existen productos que los cuales su presentación no está formulada para su uso en pequeñas especies, sin embargo, han sido recomendados y utilizados por médicos veterinarios en la práctica, tales como cipermetrina y deltametrina, aunque esto no se ha reportado.

Fipronil fue descubierto en 1987 pertenece a la familia de fenilpirazoles, se utiliza de manera amplia comercialmente, su uso en pequeñas especies más común es en la presentación ampollas por medio de la marca Frontline™, también existen presentaciones en cebo para cucarachas, hormigas y termitas. (Gupta, 2012)

La ivermectina es una lactona macrocíclica semi-sintética, fue obtenida a través de *Streptomyces avermitilis*. Se introdujo por primera vez al mercado en 1981, como un potente antiparasitario de uso animal. Su uso está aprobado prácticamente para todas las especies de animales domésticos, debido a su seguridad y su efecto generalizado en parásitos internos y externos. (Gupta, 2012).

### ***Productos de uso en el ambiente***

Los piretroides son una clase de insecticidas sintéticos que han sido diseñados y optimizados en la estructura de las piretrinas, estos acaricidas se consideran relativamente seguros debido a una baja toxicidad en mamíferos, sin embargo, esta toxicidad varía dependiendo la especie, sumando a esto su alta estabilidad desde la década de los 70's época de su creación ha sido utilizado ampliamente para aplicaciones agrícolas y domésticas (Soderlund, 2010).

En años recientes, el uso de piretroides ha incrementado tremendamente en comparación con otros acaricidas debido a su alta toxicidad en insectos y su relativamente baja toxicidad en mamíferos, sin embargo, debido a que uno de sus principales es como ectoparasiticida, el envenenamiento en mamíferos domésticos es común, debido al uso inadecuado sobrepasando la dosis recomendada por el fabricante. (Gupta, 2012)

## Control Biológico

Múltiples especies de hongos entomopatógenos han sido evaluados como agentes biológicos capaces de controlar garrapatas. Por medio de acción enzimática este grupo de hongos penetran la cutícula de los artrópodos en menos de 24 horas y no requieren ser ingeridos para lograrlo (St. Leger y col 1986). Algunas de las enzimas que actúan durante este proceso son; esterases, proteasa, aminopeptidasa, carboxipeptidasa y quitinasa, este daño progresa hasta lograr la muerte de la garrapata debido al daño irreparable en su exoesqueleto e hifas (Hajek Y St.Leger 1994).

Debido a estas características se han realizado diversos estudios con la finalidad de evaluar su capacidad de controlar infestaciones por garrapatas, algunos organismos que han demostrado buenos resultados contra garrapatas *Rhipicephalus appendiculatus*, *Amblyomma variegatum*, *Boophilus annulatus* e *Ixodes scapularis* son; *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium brunneum* y *Beauveria Bassiana* las cuales llegaron a ocasionar hasta un 100% de mortalidad en algunas situaciones ( Kaaya y col 1996, Zhioua y col 1997, Gindin y col 2001). En garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, *Metarhizium anisopliae* causó 92-96% de mortalidad en larvas y ninfas no alimentadas al día 7 después de la infección y 100% de mortalidad en adultos alimentados y no alimentados 21 después de infección (Samish y col. 2001).

La mortalidad de los hongos entomopatógenos puede ser variable debido a su formulación. Se determinó que formulaciones de *Metarhizium brunneum* y *Beauveria bassiana* basadas en aceite fueron más efectivas para iniciar la

mortalidad de las garrapatas adultas en comparación con fórmulas basadas en agua. Aplicaciones mensuales del formulado en aceite en las zonas de pastoreo redujeron significativamente el número de garrapatas *Rhipicephalus appendiculatus* en el ganado (Hedimbi, 2006).

Los agentes de control biológico específicos de garrapatas reducirán drásticamente la mortalidad de otros artrópodos, sin embargo, los métodos de control biológicos dependen demasiado de factores ambientales, estos también requieren más tiempo para ser efectivos en comparación con otros métodos de control existentes (Samish y col. 2004). Por consecuencia si bien estos métodos de control, podrían no ser efectivos por sí solos, presentan un gran potencial para ser utilizados en conjunto con los métodos de control químico utilizados actualmente.

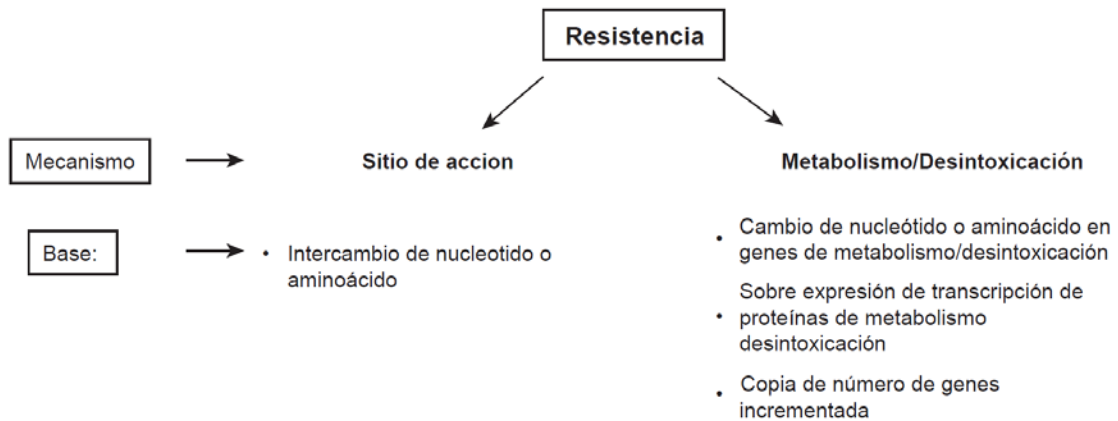
### **Resistencia acaricida**

El término resistencia originalmente se definió como la incapacidad de una droga para controlar un parásito, sin embargo, esta definición fue cambiada por la organización mundial de la salud por la siguiente; La habilidad de una cepa parasitaria para sobrevivir/multiplicarse a pesar de ser tratada con una droga en una dosis igual o más alta de lo recomendado, pero dentro de los límites de tolerancia del sujeto (OMS. 1965).

El primer reporte existente de resistencia fue en 1914 por el entomólogo Melander sin embargo la observación no se realizó en garrapata, esta se llevó a cabo en diversos tipos de plagas en árboles frutales (Melander, 1914). Desde

mediados del siglo 19, con el crecimiento y desarrollo de la industria ganadera en países tropicales y subtropicales, las garrapatas se convirtieron en un problema económico considerable, por consecuencia se inició el desarrollo de diversos métodos de control de estas. Hasta mediados del siglo 20 los métodos de control eran limitados, la mayoría de los productos eran derivados del arsénico, los cuales se caracterizaban por su baja eficacia y alta toxicidad en ganado. Con el descubrimiento de las propiedades insecticidas del DDT, se presentó un posterior incremento en el desarrollo de acaricidas orgánicos, esta situación mejoró drásticamente la situación para los ganaderos del mundo. Sin embargo, el progreso de estos productos también significó un progreso en cuanto a las poblaciones de garrapatas resistentes, lo que conlleva a un desarrollo e investigación de futuros acaricidas impulsado estrictamente por la presencia de resistencia en las poblaciones de garrapatas (Graf y col. 2004). Existen diversos mecanismos mediante los cuales las garrapatas pueden generar resistencia acaricida; insensibilización a los acaricidas por medio de modificación en el sitio de acción a través de intercambio de nucleótidos codificantes del mismo, al presentarse cambios en la capacidad de desintoxicación o secuestro de acaricidas se obtiene la resistencia metabólica y está mediada por medio de familias de enzimas como Citocromo p450, glutathion s-transferasa y esterases, estas enzimas actúan por medio de sobreexpresión o la producción de formas alternativas con habilidades superiores para metabolizar pesticidas en comparación con enzimas “tipo salvajes”.(Sonenshine y col. 2013, Eiden y col 2017)

Esterasas: son enzimas de vital importancia en artrópodos ya que estas son esenciales para la metabolización de diversos componentes endógenos y exógenos, estos componentes realizan actividades relacionadas a la digestión, comportamiento y reproducción de los artrópodos (Montella, 2012).



**Figura 2.** Esquema mecanismos de resistencia acaricida (Sonenshine, 2013)

Citocromo p450: son hemoproteínas, presentes en todos los seres vivos, son enzimas oxidasas, entre las funciones que realizan podemos encontrar, asimilación de carbono, síntesis de hormonas y síntesis de elementos estructurales en los seres vivos (Werck-Reichart, 2000).

Glutación s-transferasa: son enzimas de desintoxicación que se encuentran principalmente en citosol, sintetizan glutatión y participan en la conjugación de ligandos, regeneración de proteínas tioladas (Sheehan y col. , 2001).

Debido a la problemática económica que generan las infestaciones de garrapatas en ganado bovino el uso de acaricidas en estos sistemas de producción es alta (Rodríguez-Vivas y col 2006), por consecuencia la mayor parte de los estudios referentes relacionados a la resistencia acaricida se ha obtenido en garrapatas *R. microplus*, el primer reporte de resistencia acaricida en México fue a los organofosforados en 1981 solo 7 años posterior al inicio de su uso en el país (Aguirre y col 1986), para el año 1993 se identificaron por medio de la prueba de larva en paquete garrapatas *R. microplus* multi resistentes a organofosforados y piretroides en los estados de Tabasco, Veracruz, San Luis Potosí y Chiapas (Ortiz y col 1995). Miller y col 1999 reportó resistencia múltiple a los piretroides permetrina, flumetrina y cipermetrina en las cepas Corrales, San Felipe y Coatzacoalcos, provenientes de los estados de Colima, Tamaulipas y Veracruz respectivamente.

Desde el inicio del año 2000 a la actualidad se han presentado diversos reportes de resistencia; El primer caso de resistencia a amitraz en garrapatas *R. microplus* fue realizado por Céspedes y col 2002 en el estado de Tabasco. González y col 2003 evidenció la resistencia a Clorfenvinfos, coumaphos, diazinon, lindano, cipermetrina, deltametrina y flumetrina en garrapatas *R. sanguineus* originarias del estado de Tamaulipas. Posterior a esto el primer reporte de multi-resistencia de una población de *R. microplus* fue realizado en el estado de Veracruz (Fernández-Salas y col 2012).

Con la evidencia de diversos estudios en moscas *Drosophila melanogaster* y *Musca domestica* donde se determinaba una relación directa de

la resistencia a piretroides en genes de canales de sodio, He y col. , (1999) realizó la comparación de los genes codificantes de canal de sodio de estas moscas resistentes con los de garrapatas *R. microplus* originarias de las cepas Gonzalez, Coatzacoalcos, Corrales, San Felipe, en los resultados se pudo observar una mutación del dominio 3 segmento 6, en la cual sólo un nucleótido cambio de T a A lo que resultó en la producción del aminoácido isoleucina en vez de fenilalanina, dicha mutación solo fue identificada en las cepas Felipe y Corrales, esto fue el primer reporte de una mutación genética en canal de sodio de garrapatas, asociada a resistencia a piretroides. Aguilar-Tipacamu y col (2008) realizó estudios de herencia en garrapatas *R. microplus*, en dichos estudios identificó que la resistencia acaricida asociada a la transformación del canal de sodio es heredada como un rasgo recesivo. En el siguiente cuadro se pueden observar las mutaciones de canal de sodio que han sido identificadas en garrapatas hasta la fecha.

Mutación	Dominio en canal de sodio	Intercambio de nucleótido	Intercambio de aminoácido	Identificado por
T2134A	Dominio 3 Segmento S6	T → A	Fenilalanina → Isoleucina	He et al 1999
T2134C	Dominio 3 Segmento S6	T → C	Fenilalanina → Leucina	Díaz-Rivera et al 2019
T170C	Dominio 2 (super kdr)	T → C	Metionina → Treonina	Stone et al 2014
C190A	Dominio 2 Segmento 4-5	C → A	Leucina → Isoleucina	Morgan et al 2009
G184C	Dominio 2	G → C	Glicina → Arginina	Stone et al 2014

**Cuadro 1.** Mutaciones de canal de sodio asociadas a resistencia acaricida

## Determinación de Resistencia

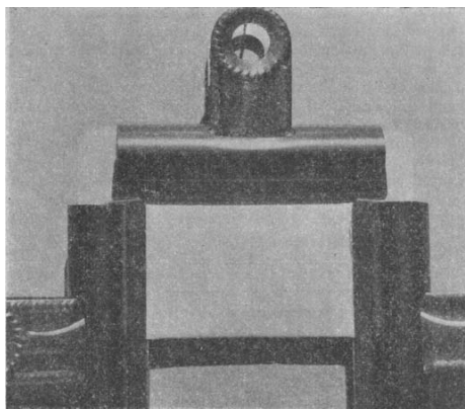
A mediados de los 50's e inicios de los 60's, se presentó un incremento de reportes por ineffectividad en productos diseñados para el control de garrapatas estos reportes se dieron principalmente en Sudáfrica y Australia (Whitehead, 1956, Hitchcock y Roulston, 1955, Stone, 1957).

En base a estos reportes diversos autores diseñaron técnicas para evaluar la resistencia en garrapatas las cuales son utilizadas hasta la fecha. Estas pueden dividirse en 3 categorías, 1). Aquellas en las cuales las larvas son sumergidas en un depósito con insecticida, 2). Las larvas son expuestas a un depósito con insecticida y 3). Las larvas son rociadas ligeramente con el acaricida (Shaw, 1965).

Whitehead (1958) realizó un bioensayo con la garrapata *Boophilus decoloratus*, en dicho estudio perfeccionó la técnica de inmersión. En la cual se colocaron de 100-200 larvas por tubo de inmersión, se agregó al tubo de inmersión 10 ml del insecticida correspondiente, se tapó y se roto a 32 rpm, posteriormente las garrapatas son separadas del insecticida utilizando un aparato de separación, este consiste en 2 tubos bridados que en su unión presentan un colador de cobre, estos están unidos a un matraz, las larvas son vaciadas en este aparato y posteriormente lavadas con agua destilada en el mismo, subsecuentemente las larvas recolectadas son lavadas y secadas, una vez secas se colocan en sobres de papel y se dejan reposar a 25 °C con 80% humedad relativa durante 24 horas, al finalizar el periodo deben ser

observadas, las larvas que no presenten movimiento son consideradas muertas.

Stone y Haydock (1962) perfeccionaron la prueba de larva en paquete, para dicha prueba se requiere de papel filtro de 11 cm, posteriormente se debe impregnar el papel con el acaricida de elección el cual posteriormente fue diluido con aceite de risella o cualquier otro aceite, esto con la finalidad de asegurar su fijación al papel y evitar su desecación, el papel es doblado para generar el “paquete” y este es asegurado con 3 pinzas, permitiéndonos colocar entre 120-200 larvas a través de la porción sin pinza, el paquete es almacenado de 16-24 horas para posteriormente evaluar la mortalidad de las larvas. Al abrir el paquete las larvas son colocadas sobre la cuadrícula del paquete y son observadas, aquellas que presentan algún tipo de movimiento son consideradas vivas.



**Figura 3.** Sobre de larva en paquete diseñado por Stone y Haydock (1962)

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Lugar donde se realizó el estudio.**

Todos los experimentos del presente estudio fueron realizados en el Laboratorio de Salud Pública Veterinaria y el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias (IICV) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), campus Mexicali, Baja California, México.

### **Origen de las muestras**

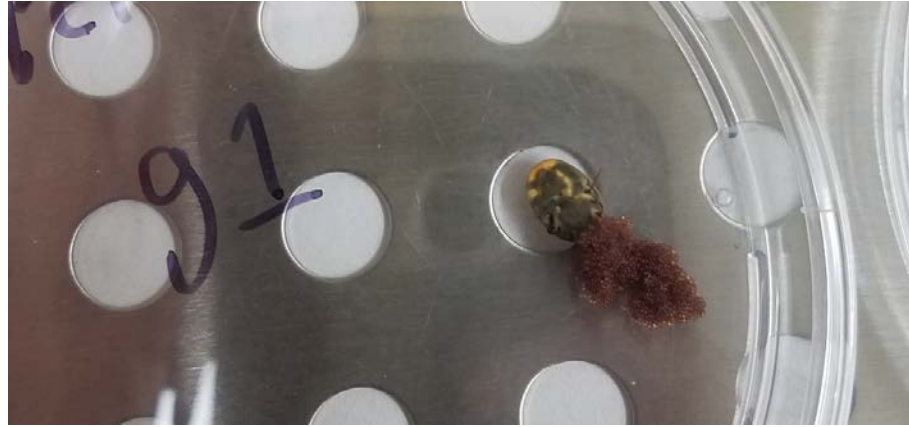
Se recolectaron hembras alimentadas adultas de 0.4 cm o más grandes, se colocaron en tubos Falcon® de 50 ml los cuales fueron tapados con una malla de nylon que permite el flujo de aire, solo compartieron tubo las garrapatas provenientes de un mismo perro. La recolección se realizó en 2 sitios; el poblado de Mesa Rica en Sonora (32.135728942290456, -114.92406730401889) y el centro de control animal municipal de la ciudad de Mexicali, Baja California (32.575386505496176, -115.41278078535838). Los tubos con garrapatas fueron colocados en gradillas dentro de una hielera para evitar cambios de temperatura drásticos durante su transporte.

Las hembras recolectadas fueron enjuagadas con solución salina, colocadas en cajas de Petri individualmente e incubados a una temperatura de  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  y  $80\% \pm 2$  de humedad relativa hasta su oviposición. Las garrapatas

hembra que terminaron su oviposición se conservaron en congelador para futuros proyectos de análisis de resistencia genética. Todos los huevos obtenidos fueron colocados en una caja de Petri, con ayuda de un pincel se mezclaron los huevos de diferentes hembras para mayor homogeneidad de la muestra, posteriormente se colocaron aproximadamente 100 huevecillos en cada tubo Falcon con una membrana de nailon que permitiera el flujo de aire. Los huevecillos se mantuvieron a  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  y  $80\% \pm 2$  de HR en incubadora hasta su eclosión  $21 \pm 2$  días, posterior a la eclosión la temperatura fue modificada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 4.** Pool de huevos



**Figura 5.** Hembra en primer día de oviposición

Lugar	Fecha	Número de garrapatas	Número de Perros
Mesa Rica	21 oct 2020	14	10
Mexicali	22 ene 2021	9	6

**Cuadro 2.** Datos de muestreo.

Cepa	Inicio de incubación (día)	Inicio de oviposición (día)	Inicio de eclosión (día)
Mesa Rica	0	5-7	21-23
Mexicali	0	5-7	22-24

**Cuadro 3.** Datos de oviposición y eclosión.

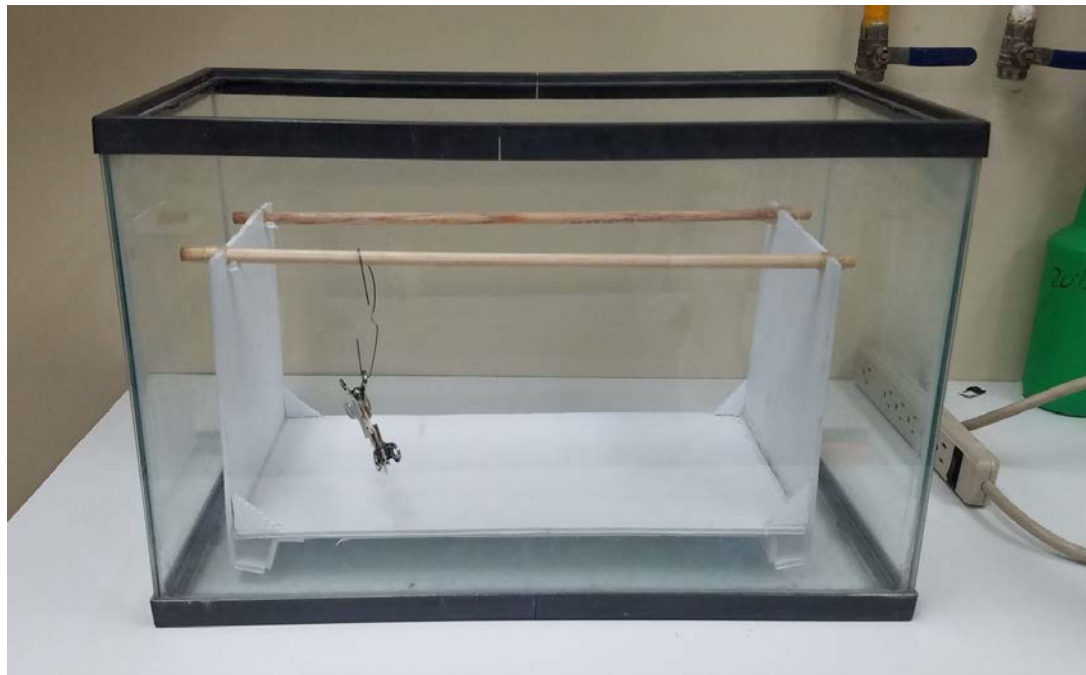
## **Metodología**

La prueba de larva en paquete fue descrita por primera vez por Stone y Haydock (1962). La prueba se realizó como lo indica la ONUAA (2004) con mínimas modificaciones, el piretroide de elección en grado técnico fue deltametrina (Butox), el acaricida se diluyó en una solución de 2 partes tricloroetileno y una parte aceite de oliva las diluciones se prepararon con la finalidad de obtener de 0 a 100 % de mortalidad en larvas. Las concentraciones utilizadas fueron 0.002629 %; 0.003988 %; 0.005982 %; 0.008974 %; 0.013461 %; 0.020192 %; 0.030288 %; 0.045432 %; 0.068148 %; 0.102222 %; 0.153333 % y 0.23 %. Se procuró incluir la concentración de 90 ppm (0.0090 %) debido a que esta es la dosis discriminatoria utilizada por SENASICA para el control de vectores.

Papeles filtro (Whatman No.1) fueron impregnados con 1 ml de solución, se realizaron 3 repeticiones por concentración, Para cada dilución un control negativo fue utilizado (solución de tricloroetileno: aceite de oliva), después de la saturación los papeles fueron colgados con pinzas para ropa, en una cuerda que fue instalada en un área ventilada, con la finalidad de dejarlos reposar 2 horas a temperatura ambiente (26 °C), a continuación fueron almacenadas en bolsas herméticas en refrigerador para su uso posterior.

Los papeles fueron doblados a la mitad y a cada lado se le colocó una pinza tipo bulldog, esto se realizó para formar un sobre, Se transfirieron a cada sobre aproximadamente 100 larvas utilizando un pincel y el paquete fue cerrado

con una tercer pinza bulldog, posteriormente se colocaron en incubación ( 27 °C y 80 % de humedad relativa), Para la incubación de los sobres se utilizaron 2 acuarios de 15 galones (60x30x30 cm) a los cuales se les agregó 5 litros de agua para mantener el porcentaje de humedad deseado, para evitar el contacto de los sobres con el agua y para asegurar que estuvieran suspendidos en el aire, se elaboró una base casera de plástico (coroplast), la cual a su vez contiene 2 barras de madera horizontales, estas sirvieron de soporte para permitir las suspensión de los sobres en el aire, en caso de que un sobre cayera no entraría en contacto con el agua gracias a la base de plástico.



**Figura 6.** Cámara de incubación.

**Figura 7.** Prueba de larvas en paquete en la cámara de incubación.

24 horas después de la incubación los paquetes se retiraron del acuario para iniciar el conteo de las larvas (vivas y muertas), el criterio de evaluación para las larvas vivas fue su respuesta a estímulos como movimiento del sobre o Co2 de aliento humano, también por medio de su capacidad para caminar, las larvas que responden a estímulos y movieran sus patas, pero no fueron capaces de desplazarse se catalogaron como muertas.

**Análisis estadístico**

Los datos de mortalidad fueron capturados en un sistema de análisis probit, utilizando el software MedCalc 19.7, con la finalidad de calcular los valores de concentración letal 50,90 y 99 con un intervalo de confianza de 95%

(IC95%), así como la pendiente en la regresión lineal para cada población. Para considerar que existe diferencia en la respuesta de las poblaciones al tratamiento, los IC95% de LC50,90 y 99 no deben sobreponerse. Para realizar el cálculo del Índice de resistencia/Factor de Resistencia se deben utilizar los valores de LC50 y LC90 siguiendo la fórmula  $LCx \text{ cepa resistente} / LCx \text{ cepa susceptible}$  (Robertson y col, Wheeler y col 2006), Debido a la ausencia de una cepa de referencia se utilizó en su lugar la cepa con la LC50 más baja en base a lo indicado por Ziapour y col 2016. La clasificación en base al valor de RR se describe de la siguiente manera; menor 1.5 se clasifica como susceptible, de 1.5 a 2 como resistencia incipiente y mayor a 2 como resistente (Castro-Janer y col. 2010).

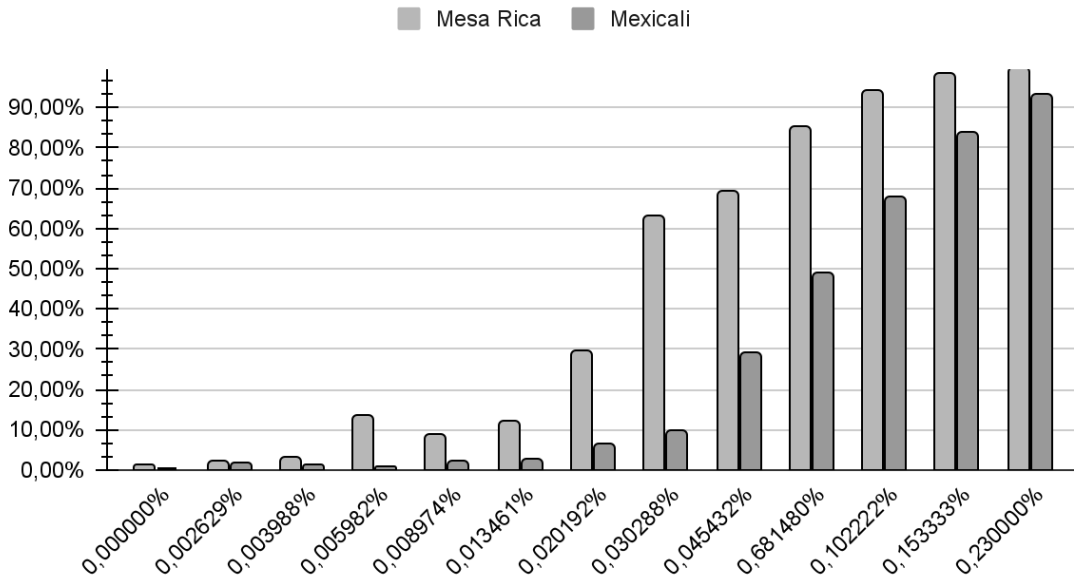
## RESULTADOS

Los resultados de la prueba de larva en paquete de las dos poblaciones se muestran en la Cuadro. Tomando en consideración el valor de RR, las garrapatas utilizadas en el estudio originarias de Mexicali presentaron resistencia a deltametrina. Aunque no podemos calcular el valor RR de las garrapatas originarias de mesa rica debido a que carecemos de una cepa susceptible, es importante mencionar que la mortalidad usando la concentración %0.008974 (90 ppm) fue baja con 9.3%. La concentración discriminante calculada (2xLC99) fue de 5436 ppm (0.5436%) para Mesa Rica y 53214 ppm (5.3214%) para Mexicali.

Origen	n	Pendiente	LC50 (95%IC)	LC90 (95%IC)	LC99 (95%IC)	RR (LC50)	RR (LC90)
Mesa Rica	4199	2384	0.027% (0.020354- 0.030671)	0.096% (0.0722- 0.1294)	0.27% (0.2349- 0.3638)	-	
Mexicali	7699	2089	0.072% (0.0583- 0.1043)	0.53% (0.3845- 0.7454)	2.66% (1.91- 3.70)	2.75	5.53

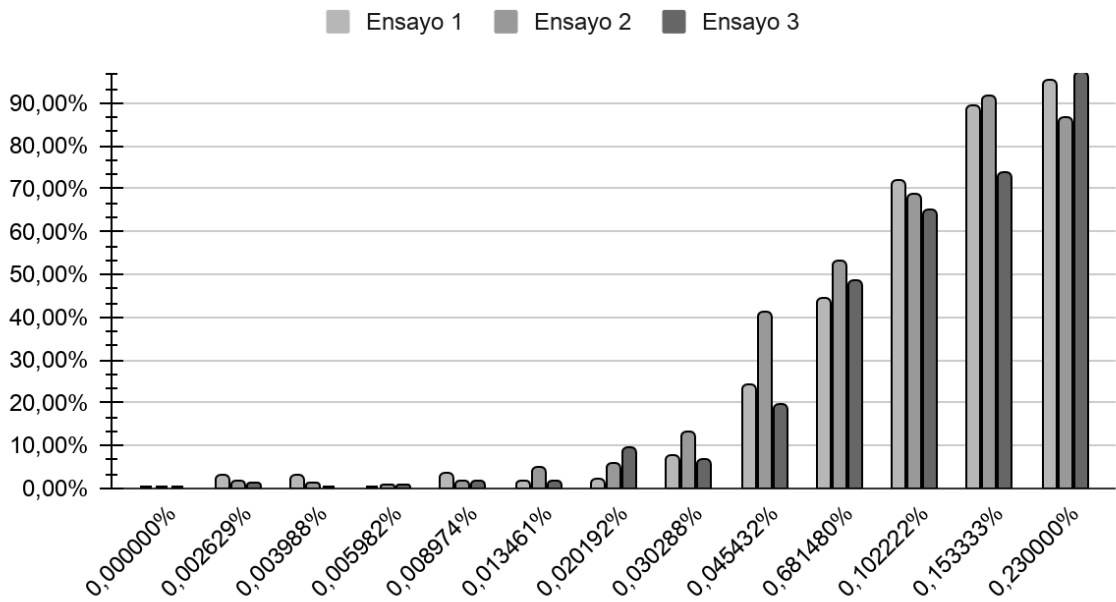
**Cuadro 4.** Resultados del análisis Probit.

## Porcentaje de Mortalidad General



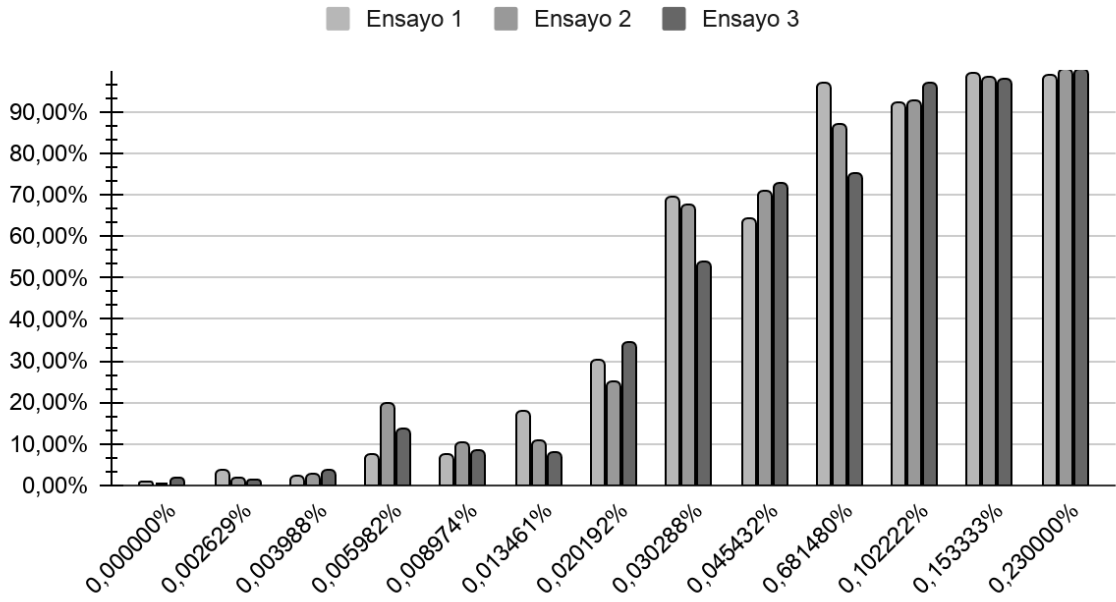
**Figura 8.** Gráfica de mortalidad por concentración (pool)

## Porcentaje de Mortalidad, Larvas Mexicali



**Figura 9.** Gráfica porcentaje de mortalidad, Mexicali

## Porcentaje de Mortalidad, Larvas Mesa Rica



**Figura 10.** Gráfica porcentaje de mortalidad, Mesa Rica

## DISCUSIONES

En este estudio se evidencia por primera vez la presencia de resistencia a deltametrina en garrapatas *R. sanguineus* de la ciudad de Mexicali, Baja California, el primer reporte de resistencia a piretroides en garrapatas *R. sanguineus* se realizó en Panamá (Miller y col 2001), en México la resistencia a piretroides ha sido reportada numerosas ocasiones en garrapatas *R. microplus* (Ortiz y col 1995, Miller y col; 1999, 2001, Gonzalez y col 2003, Diaz-Rivera 2019).

Cabe mencionar que los resultados presentados en este estudio no necesariamente representan la situación general de la ciudad de Mexicali, debido a que las garrapatas fueron obtenidas de perros en el centro de control animal municipal no podemos determinar su origen exacto, pero en base a los resultados podemos considerar que al menos en ciertos bloques de la ciudad existe una problemática relacionada al control de garrapatas y al uso excesivo de productos acaricidas, ya que se conoce que el desarrollo de la resistencia en un población de garrapatas depende de la frecuencia en la ocurrencia de individuos resistentes y la intensidad de la selección por presión química (Kunz y Kemp, 1994). Lo más sensato sería ampliar las zonas de muestreo de manera más representativa. En cuanto a los resultados de las larvas obtenidas en mesa rica es importante observar la baja mortalidad utilizando la concentración de 90 ppm, ya que esta es la concentración discriminante ( $2 \times LC_{99}$ ) utilizada y recomendada por SENASICA por lo que podríamos inferir que dicha población

también presenta resistencia a deltametrina, sin embargo, esto solo puede ser descartado comparando contra una cepa de referencia.

La resistencia a piretroides está típicamente asociada a mutaciones en los genes codificantes de los dominios I, II, III y IV del canal de sodio. En *Rhipicephalus microplus* conocemos varias mutaciones las cuales incluye, C190A la cual es una mutación en dominio II y está presente en poblaciones de Australia, África y Sudamérica. La mutación T2134A solo ocurre en México y Estados Unidos (Stone y col 2014), sin embargo, es prudente descartar inicialmente la presencia de resistencia metabólica por medio de sinergistas en la prueba de larva en paquete similar a lo realizado por Eiden y col 2017. Debido a la problemática de salud pública asociada a rickettsiosis en la ciudad de Mexicali que está presente desde el año 2008 Es importante identificar el origen de la resistencia en las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* ya que estas son el único vector de la zona, con esta información se podrán desarrollar técnicas de control adecuadas que compliquen el problema de resistencia actual.

## CONCLUSIÓN

Como conclusión los pasos a seguir serían realizar encuestas en la población para identificar los productos más utilizadas por la población con la finalidad de evaluar por medio de larva en paquete la respuesta de las garrapatas a estos productos, en conjunto con sinergistas para descartar la presencia de resistencia metabólica, asimismo por medio de técnicas moleculares determinar la presencia de mutaciones que otorgan resistencia genética. Al presentarse resistencia metabólica una solución sería implementar protocolos de rotación de productos, Friederike et tal 2007 logró evidenciar que la rotación de deltametrina con cumafos retarda el desarrollo de resistencia en poblaciones que presentan niveles bajos de resistencia. En caso de presentarse un mecanismo de resistencia genético, sería recomendable utilizar productos acaricidas los cuales su sitio de acción no esté asociado a la mutación identificada.

## LITERATURA CITADA

Aguilar-Tipacamú, G., Miller, R. J., Hernández-Ortiz, R., Rodríguez-Vivas, R. I., Vásquez-Peláez, C., García-Vázquez, Z., ... Rosario-Cruz, R. 2008. Inheritance of pyrethroid resistance and a sodium channel gene mutation in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Parasitology research*, 103(3), 633-639

Aguirre, E.J., Sobrino, L., Santamaría, V.M., Aburto, S., Roman, E., Hernandez, M., Ortiz, M., Ortiz, N.A. 1986. Resistencia de garrapatas en México. In *Seminario Internacional de Parasitología Animal, Memorias* (ed. Cavazzani, A.H., Garcia, Z.), 282–306. Cuernavaca, Morelos, México.

Armendáriz González, I. 2003. Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodicidas en *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en Tamaulipas, México. *Veterinaria México*.

Bautista-Garfias, C. R., & Martínez-Ibañez, F. 2012. Experiences on the control of cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in Mexico. *Ticks: Disease, management and control*. Moges Woldemeskkel editor. Nova Science Publishers, Inc, 205-216.

Cabrera Maldonado Anahí, Sánchez Díaz María del Rocío, Sánchez Alemán Miguel Ángel, Villa Reyes Tania, 2013, Morbi-mortalidad de las rickettsiosis en México 2002- 2011. Perspectiva a nivel nacional, en un estado endémico (sonora), y un brote comunitario (Mexicali).

Céspedes, N. S., Vargas, M. S., Sánchez, H. F., & Vázquez, Z. G. 2002. Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Técnica Pecuaria en México*, 40(1), 81-92.

Cossío-Bayúgar, R., Miranda-Miranda, E., Ibañez, F. M., Padilla, V. N., & Reynaud, E. 2020. Physiological evidence that three known mutations in the para-sodium channel gene confer cypermethrin knockdown resistance in *Rhipicephalus microplus*.

Cristina Mendes, M., Calvo Duarte, F., Ricardo Martins, J., Marcondes Klafke, G., Costa Fiorini, L., & Thadeu Medeiros de Barros, A. 2013. Characterization of the pyrethroid resistance profile of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* populations from the states of Rio Grande do Sul and Mato Grosso do Sul, Brazil. *R. bras. Parasitol. Vet.*

Diaz-Rivera, Edgar; Holguin Céspedes, Gisella and Urrea Montes, Daniel A.. New polymorphism in the sodium channel gene of *Rhipicephalus microplus* tick (Ixodida: Ixodidae) resistant to pyrethroids. *Rev. biol. trop* [online]. 2019, vol.67, n.4, pp.935-944

Drexler N.A., F.S. Dahlgren, K. Heitman, R.F. Massung., C.D. Paddock., and B.C. Barton. 2016. National surveillance of spotted fever group rickettsioses in the United States, 2008–2012. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 94(1):23–34.

Eiden, A.L., Kaufman, P.E., Ol, F.M., Dark, M.J., Bloomquist, J.R. and Miller, R.J. 2017, Determination of metabolic resistance mechanisms in pyrethroid-resistant and fipronil-tolerant brown dog ticks. *Med Vet Entomol*, 31: 243-251.

Estrada-Peña, A. J. R. S. T. 2015. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Rev Sci Tech*, 34(1), 53-65.

ONUAA. 2004. Guidelines for Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants. Animal Production and Health Division Agriculture Department Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 83-92.

Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R. I., & Alonso-Díaz, M. A. 2012. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 183(3-4), 338-342.

Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R. I., & Alonso-Díaz, M. Á. 2012. Resistance of *Rhipicephalus microplus* to amitraz and cypermethrin in tropical cattle farms in Veracruz, Mexico. *Journal of Parasitology*, 98(5), 1010-1014.

Friederike Thullner, Peter Willadsen, David Kemp, Acaricide Rotation Strategy for Managing Resistance in the Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarina: Ixodidae): Laboratory Experiment with a Field Strain from Costa Rica , *Journal of Medical Entomology*, Volume 44, Issue 5, 1 September 2007, Pages 817–821

Gindin, G., Samish, M., Alekseev, E., & Glazer, I. 2001. The susceptibility of *Boophilus annulatus* (Ixodidae) ticks to entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology*, 11(1), 111-118.

González, I. A. 2003. Report of a case of multiple resistance to ixodicides on *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) in Tamaulipas, Mexico. *Veterinaria México*, 34(4), 397-401.

Graf, J. F., Gogolewski, R., Leach-Bing, N., Sabatini, G. A., Molento, M. B., Bordin, E. L., & Arantes, G. J. 2004. Tick control: an industry point of view. *Parasitology*, 129(S1), S427-S442.

Gupta, R. C. (Ed.). 2012. *Veterinary toxicology: basic and clinical principles*. Academic press.

Hajek, A. E., & St. Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual review of entomology*, 39(1), 293-322.

He, H., Chen, A. C., Davey, R. B., Ivie, G. W., & George, J. E. 1999. Identification of a Point Mutation in the para-Type Sodium Channel Gene from a Pyrethroid-Resistant Cattle Tick. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 261(3), 558–561.

Hedimbi, M., Kaaya, G. P., Singh, S., & Chimwamurombe, P. 2006. Improvement of fungal formulations for tick control using oils and sunscreens.

Hitchcock, L. F., & Roulston, W. J. 1955. Arsenic resistance in a strain of cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) from Northern NSW. *Australian Journal of Agricultural Research*, 6(4), 666-671.

Kaaya, G. P., Mwangi, E. N., & Ouna, E. A. 1996. Prospects for Biological Control of Livestock Ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, Using the Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium Anisopliae*. *Journal of invertebrate pathology*, 67(1), 15-20.

Kunz, S. E. & Kemp, D. H. 1994. Insecticides and acaricides: Resistance and environmental impact. *Revue scientifique et technique Office International des Epizooties* 13, 1249–1286.

Melander AL, 1914, Can insects become resistant to sprays? , *Journal of Economic Entomology*, 7:167–173.

Miller Robert J., George John E., Guerrero Felix, Carpenter Larry, Welch John B., 2001, Characterization of Acaricide Resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) Collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama , *Journal of Medical Entomology*, Volume 38, Issue 2, Pages 298–302.

Montella, I. R., Schama, R., & Valle, D. 2012. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance-a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 107(4), 437-449.

Montella, Isabela Reis, Schama, Renata, y Valle, Denise. 2012. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance - A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(4), 437-449.

Ortiz, E.M., Santamaría, V.M., Ortiz, N.A., Soberanes, C.N., Osório, M.J., Franco, B.R., Martinez, I.F., Quezada, D.R., Fragoso, S.H. 1995. Characterization of *Boophilus microplus* resistance to ixodicides in México. In: Seminario internacional de Parasitología Animal Acapulco, Gro. México. Pp 58-66.

Parola Philippe y Raoult Didier. 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* 33(5):749.

Perez-Cogollo, L. C., Rodriguez-Vivas, R. I., Ramirez-Cruz, G. T., & Miller, R. J. 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 168(1-2), 165-169.

Robertson, J.L., Russell, R.M., Preisler, H.K., Savin, N.E., 2006. *Pesticide Bioassays with Arthropods*, second ed. CRC Press, Boca Raton.

Rodriguez-Vivas, R. I., Alonso-Díaz, M. A., Rodríguez-Arevalo, F., Fragoso-Sanchez, H., Santamaria, V. M., & Rosario-Cruz, R. 2006. Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the State of Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 136(3-4), 335-342.

Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., de León, A. A. P., Villela, H. S., de Jesús Torres-Acosta, J. F., Sánchez, H. F., ... Y Carrasco, D. G. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 8(1), 61-74.

Samish, M., Gindin, G., Alekseev, E., & Glazer, I. 2001. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to different developmental stages of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Journal of Parasitology, 87(6), 1355-1359.

Samish, M., Ginsberg, H., & Glazer, I. 2004. Biological control of ticks. Parasitology, 129(S1), S389.

Sheehan David, Meade Gerardene, Foley Vivienne M., Dowd Catriona A., 2001, Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. Biochem J; 360 (1): 1–16.

Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., & Dowd, C. A. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. Biochemical Journal, 360(1), 1-16.

Smith T. M.D. 1899. The etiology of Texas cattle fever, with special reference to recent hypotheses concerning the transmission of malaria. The New York Medical Journal. 50:47-51.

Soderlund, D. M., y Bloomquist, J. R. 1989. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu Rev Entomol*, 34, 77-96.

Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (Eds.). 2013. *Biology of ticks volume 1 & 2*. Oxford University Press.

Stafford, K. C. 2007. *Tick management handbook; an integrated guide for homeowners, pest control operators, and public health officials for the prevention of tick-associated disease*.

Stone, B. F. 1957. Resistance to DDT in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research*, 8(4), 424-431.

Stone, B. F., & Haydock, K. P. 1962. A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull Entomol Res*, 53(3), 563-578.

Stone, N. E., Olafson, P. U., Davey, R. B., Buckmeier, G., Bodine, D., Sidak-Loftis, L. C., ... & Busch, J. D. 2014. Multiple mutations in the para-sodium channel gene are associated with pyrethroid resistance in *Rhipicephalus microplus* from the United States and Mexico. *Parasites & vectors*, 7(1), 1-14.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. 2015. *Veterinary parasitology*. John Wiley & Sons.

Tinoco-Gracia L, Lomelí MR, Hori-Oshima S, Stephenson N, Foley J., 2018, Molecular Confirmation of Rocky Mountain Spotted Fever Epidemic Agent in Mexicali, Mexico. *Emerg Infect Dis*. 24(9):1723-1725.

Werck-Reichhart, D., & Feyereisen, R. 2000. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol*, 1(6), REVIEWS3003.

Werck-Reichhart, D., Feyereisen, R., 2000, Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol* 1, reviews3003.1 .

Wesołowski R., A. Woźniak y C. Mila-Kierzenkowska. 2014. The importance of tick-borne diseases in public health. *Medical and Biological Sciences*, 28(1):51-55.

Wheeler, Matthew & Park, Robert & Bailer, Albert. 2006. Comparing median lethal concentration values using confidence interval overlap or ratio tests. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. 25.

Whitehead, G. B. 1956. DDT resistance in the blue tick, *Boophilus decoloratus*, Koch. *Journal of the South African Veterinary Association*, 27(2), 117-124.

Whitehead, G. B. 1958. Acaricide Resistance in the Blue Tick, *Boophilus decoloratus* (Koch).—Part I. *Bull Entomol Res*, 49(4), 661-673.

WHO Scientific Group. 1965. Resistance of malaria parasites to drugs. Report of a WHO scientific group. Geneva: World Health Organization, 296.

Zhioua, E., Browning, M., Johnson, P. W., Ginsberg, H. S., & LeBrun, R. A. 1997. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *The Journal of parasitology*, 83(5), 815-818.

Ziapour, S.P., Kheiri, S., Fazeli-Dinan, M., Sahraei-Rostami, F., Mohammadpour, R.A., Aarabi, M., Asgarian, F., Sarafrazi, M., Nikookar, S.H., Enayati, A., 2016. Susceptibility status of field populations of *Rhipicephalus bursa* (Acari: Ixodidae) to pyrethroid insecticides. *Trop. Biomed.* 33, 446–461.