



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Diagnóstico de la susceptibilidad de *Rhipicephalus*
(*Boophilus*) *microplus* a ivermectinas en Unidades de
Producción Bovina de la zona centro de Veracruz, Ver.

TRABAJO RECEPCIONAL EN LA MODALIDAD DE:

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

Karina Sánchez Guillén

ASESORES:

Dr. ALVARO PENICHE CARDEÑA

MVZ. JOSÉ ALFREDO VILLAGÓMEZ CORTÉS

H. VERACRUZ, VER.

FEBRERO 2014

CONTENIDO

CONTENIDO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	iv
INDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
4. HIPÓTESIS.....	16
5. OBJETIVOS.....	17
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	17
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
8. CONCLUSIÓN.....	38
9. LITERATURA CITADA.....	39
10. ANEXO.....	43

DEDICATORIA

A **mis padres** por haberme brindado su apoyo, confianza y acompañarme en este largo camino, lleno de esfuerzos, sacrificios; gracias por sus consejos, por estar a mi lado, por enseñarme a alcanzar mis objetivos; este éxito también es suyo.

A **mi hermana** por acompañarme en esta etapa de forma incondicional, entendió mis ausencias y malos momentos, espero tomes este éxito como ejemplo, el esfuerzo y sacrificio vale la pena, recuerda que te aprecio y te quiero mucho, Samy.

A **mis amigas y amigos** que me acompañaron a lo largo de la carrera, donde compartimos experiencias y buenos momentos, gracias por todo.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme llegar hasta donde estoy el día de hoy y culminar un objetivo más en mi vida, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad, por haberme brindado esta vida llena de experiencias, aprendizajes y guiarme en los momentos difíciles. “Mi amparo, mi refugio, mi Dios, en quien yo pongo mi confianza”

Al **Dr. Álvaro Peniche Cardeña** por haberme invitado en la realización de este trabajo y confiar en mí, siendo un excelente guía; por compartir sus ideas, conocimientos y su tiempo dedicado en cada una de las asesorías. Muchísimas gracias.

Al **MVZ. Alfredo Villagómez Cortés** por las asesorías brindadas para la culminación de este trabajo, por su paciencia y comprensión en cada una de las clases.

Al **Dr. Belisario Domínguez Mancera** por el apoyo en la realización de las gráficas y las enseñanzas brindadas a lo largo de la carrera.

A la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia** por el conocimiento brindado y contribuir en mi formación académica.

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Endectocidas autorizados por SAGARPA en México.	10
Cuadro 2. Localización geográfica y caracterización climatológica de los municipios considerados para el muestreo de campo.....	18
Cuadro 3. Concentración de IV en los productos utilizados por los productores de acuerdo a las encuestas.	27

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de susceptibilidad a Ivermectina identificado en el total de las UPB muestreadas.....	29
Figura 2. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas susceptibles.	31
Figura 3. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas sospechosas.	32
Figura 4. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas no susceptibles.....	33
Figura 5. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99}\%$) por UPB encontrado en el municipio de Comapa, Ver.	34
Figura 6. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99}\%$) por UPB observado en los municipios de Huatusco y Puente Nacional, Ver.....	35
Figura 7. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99}\%$) por UPB identificado en el municipio de Tlaxicoyan, Ver.	36

RESUMEN

Sánchez Guillén, Karina, 2014. Diagnóstico de la susceptibilidad de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a ivermectinas en Unidades de Producción Bovina de la zona centro de Veracruz, Ver. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Veracruz, Ver. Asesor(es): Dr. Álvaro Enrique de Jesús Peniche Cardeña y MVZ. José Alfredo Villagómez Cortés.

El control de *Rhipicephalus microplus* en el ganado se basa en el uso de productos ixodicidas aplicados en baños de aspersión o inmersión. Su empleo intensivo ha permitido el desarrollo de resistencia. El objetivo del trabajo fue conocer la frecuencia de Unidades de Producción Bovina (UPB) con garrapatas no susceptibles al uso de ivermectina (IV) en la zona centro del estado de Veracruz e identificar mediante encuestas los factores relacionados. Se realizó un estudio epidemiológico transversal donde el tamaño de muestra se determinó por conveniencia. Se muestrearon 30 ranchos en los municipios de Ángel R. Cabada, Carlos A. Carrillo, Comapa, Huatusco, Jamapa, Puente Nacional y Tlalixcoyan. En cada UPB se colectaron 50 teleóginas y se incubaron a 27°C con 80% de humedad hasta la eclosión de la primera fase larvaria. Por bioensayos se obtuvo el diagnóstico de susceptibilidad empleando la prueba de inmersión larvaria. La frecuencia de ranchos con garrapatas no susceptibles se calculó con la fórmula propuesta por Thrusfield (2005). Para la evaluación de la susceptibilidad a la IV se utilizaron los programas Polo Plus, Probit and Logit Analysis (versión 1.0). Se calcularon las Concentraciones Letales al 99% (CL_{99%}) y el Índice de Resistencia al 99% (IR_{99%}) de cada población de garrapatas estudiada. Un IR_{99%} < 3 se consideró como susceptible, un IR_{99%} entre 3 y 5 como sospechoso y un IR_{99%} > 5 como no susceptible. Así, se encontraron 14 poblaciones de garrapatas susceptibles, 10 sospechosas y seis no susceptibles. En el municipio de Tlalixcoyan se encontraron el 50% de las UPB no susceptibles. Se identificaron errores en el manejo tales como la falta de asesoría profesional en el uso la IV así como su frecuencia en la aplicación por parte de los productores. Se concluye que en las UPB estudiadas existen poblaciones de *R. microplus* con problemas de susceptibilidad a la IV debido a su aplicación errónea como producto endoparasiticida.

Palabras claves: ivermectina, endectocidas, lactonas macrocíclicas, ixodicidas.

ABSTRACT

Sánchez Guillén, Karina, 2014. Diagnostic of the susceptibility to *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin in bovine production units in the central area of Veracruz, Ver. Thesis. Faculty of Veterinary Medicine. Universidad Veracruzana. Veracruz, Ver. Advisors: Dr. Álvaro Enrique de Jesús Peniche Cardeña and MVZ. José Alfredo Villagómez Cortés.

The control of *Rhipicephalus microplus* in cattle is based on the use of ixodicides products applied by spraying or immersion bathings. Their intensive use has allowed the development of resistance. The aim of the study was determine the frequency of Bovine Production Units (BPU) with populations ticks not susceptible to the use of ivermectin (IV) in the central zone of the state of Veracruz and identify associated factors. A cross-sectional epidemiological study was conducted where the sample size was determined by convenience. Thirty BPU was sampled in the municipalities of Angel R. Cabada, Carlos A. Carrillo, Comapa, Huatusco, Jamapa, Puente National and Tlalixcoyan. Fifty engorged ticks were collected in each BPU and were incubated in vitro at 27°C with 80% humidity in order to obtain a first tick larval phase. Bioassays for the susceptibility diagnostic was realized by the larval immersion test. The frequency of tick's non susceptible populations was calculated by Thrusfield (2005). Susceptibility to IV evaluation was calculated using Polo Plus software, Probit and Logit Analysis (versión 1.0). Lethal 99% (CL_{99%}) concentrations and index of resistance to 99% (IR_{99%}) were calculated for each tick population. A IR_{99%} <3 was considered as susceptible, an IR_{99%} between 3 and 5 was a suspect and a IR_{99%} > 5 was not susceptible. There were 14 BPU with susceptible ticks populations, 10 with ticks populations suspected and six with not susceptible ticks populations. Fifty percent of the BPU with not susceptible ticks populations were found in the municipality of Tlalixcoyan. It was found mistakes in the use of IV such as the lack of professional advice in their use and the frequency of application. It was concluded that in some BPU studied have *R. microplus* populations ticks with problems of susceptibility to IV due to mistaken for its application as endoparasiticide product.

Keywords: ivermectin, endectocides, macrocyclic lactones, ixodicides

1. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas (*Ixodoidea*: Leach, 1815) son ectoparásitos hematófagos obligados durante algunos o en todos sus estados post-embrionarios (Soulsby, 1987). Son consideradas como el grupo de vectores de patógenos más importantes dentro del *Phylum Arthropoda*, siendo comparables con los mosquitos de la Familia *Culicidae* (Hoogstraal, 1985).

Rhipicephalus microplus (*R. microplus*) causa pérdidas económicas directas al alimentarse de sangre y provocar anemia e irritación de la piel, así como pérdidas indirectas al mantener y propagar agentes patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* y *Anaplasma centrale* (Díaz, 2012).

En las últimas décadas, el control de garrapatas ha dependido básicamente del uso efectivo de productos químicos como organoclorados, organofosforados (OF), formamidinas, piretroides (PS), lactonas macrocíclicas (LM) y fenilpirazolonas (Peter *et al.*, 2005); en menor frecuencia, se emplea un control no químico mediante la aplicación de vacunas recombinantes (Gavac[®], Tickgard[®]) o bien, un control biológico en investigación con el uso de hongos entomopatógenos (*Metarhizium anisopliae*), depredadores naturales o aves garrapateras (FAO, 1987; Aguilar, 2010; Rodríguez, 2012).

La estrategia mundial más utilizada para el control consiste en la aplicación de ixodicidas sobre el cuerpo de los animales infestados, con intervalos de tiempo determinados por la región ecológica, por las especies a combatir y por la eficacia residual del ixodicida utilizado (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Aunque los acaricidas han desempeñado un papel importante en el control de *R. microplus*, su uso intensivo e inapropiado ha permitido que esta especie haya desarrollado resistencia a la mayoría de ellos volviéndolos ineficaces (Rosado *et al.*, 2008). Por ello, y debido a su eficaz efecto como acaricida, el uso con esta finalidad de las LM, donde destacan la abamectina, la ivermectina (IV), la doramectina y la moxidectina se ha visto incrementado en los últimos años (Pereira, 2009). Sin embargo, la no susceptibilidad de esta garrapata hacia la IV en México, ya ha sido reportada (Pérez-Cogollo *et al.*, 2010).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 TAXONOMÍA Y ESPECIES

Por sus características morfológicas las garrapatas se dividen en tres familias: *Ixodidae* conocidas como garrapatas duras, *Argasidae* o garrapatas blandas y *Nuttalliellidae* representada por el género monoespecífico *Nuttalliella*, que posee características intermedias de las dos familias anteriores (Domínguez-García *et al.*, 2010).

La garrapata *R. microplus* pertenece al *Phylum* Artropoda, a la Clase Aracnida, al Orden Acarina, al Sub Orden Ixodoidea y a la Familia Ixodidae (Quiroz, 2007). Posee un escudo quitinoso duro que recubre todo el dorso del macho y un tercio o menos del dorso de la hembra, según el grado de ingurgitación que presenten. Los machos miden entre 3 y 4 mm de longitud, son muchos más pequeños que las hembras que miden 10- 12 mm de longitud (Rodríguez-Vivas, 2005).

De las 77 especies de garrapatas identificadas en México, 14 son importantes para la producción animal: *R. microplus*, *B. annulatus*, *Amblyomma cajennense*, *A. americanum*, *A. maculatum*, *A. imitator*, *Dermacentor variabilis*, *D. albipictus*, *D. nigrolineatus*, *D. occidentalis*, *Anocentor nitens*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Otobius megnini* y *Argas persicus* (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

2.2 IMPORTANCIA ECONOMICA

El control de las garrapatas constituye después de la alimentación, el segundo concepto de gasto más importante en una Unidad de Producción Bovina (UPB)

pues se estiman por este rubro 7,000 millones de dólares de pérdidas al año (Bazan, 2002).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) menciona que las pérdidas económicas atribuidas a *R. microplus* por disminución en la ganancia de peso se estiman en 7.3 dólares/animal/año. En este sentido, se ha demostrado que cada garrapata adulta ingurgitada es capaz de reducir la ganancia de peso diaria en 0.6 g en ganado bovino (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011). Además, la presencia de *R. microplus* en el ganado tiene un fuerte impacto sobre la movilización y comercialización en bovinos de engorda exportados a Estados Unidos; recientemente, el costo estimado en México por pérdidas de producción, mortalidad, daños indirectos, por las enfermedades que transmite y por su control, se calculó en 48 millones de dólares americanos anuales (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2012).

2.3 IMPORTANCIA SANITARIA

Las garrapatas que integran a las familias *Argasidae* e *Ixodidae* constituyen un grupo de artrópodos hematófagos de importancia en el ámbito de la salud animal y pública; porque actúan como reservorios y vectores de organismos patógenos como hemoparásitos (*Babesia spp* y *Theileria spp*), bacterias (*Rickettsia spp*, *Ehrlichia spp* y *Anaplasma spp*), virus (*Nairovirus*, *Flavivirus* y *Asfavirus*) y nematodos (*Acanthocheilonema spp*), entre otras (Bazan, 2002; Quiroz, 2007).

2.4 CICLO BIOLÓGICO

Las garrapatas tienen cuatro estados evolutivos en su ciclo vital: huevo, larva o pinolillo, ninfa y adulto. El ciclo de vida de *R. microplus* es de un solo hospedero.

La fase no parasítica inicia desde el desprendimiento de la hembra repleta hasta la aparición de las primeras larvas en la vegetación. Esta etapa dura de 35 a 90 días y comprende las fases de ovoposición, incubación y eclosión larvaria. Al nacer, las larvas inician la búsqueda de hospederos para lo cual se desplazan hacia la punta de las hojas del pasto; este proceso, ocurre en las primeras horas de la mañana y coincide con la mayor actividad de pastoreo del ganado. Después del encuentro de hospederos, comienza la etapa parasítica que puede durar de 18 a 22 días; en ésta, todas las fases evolutivas de las garrapatas se alimentan del bovino. Los adultos sexualmente maduros copulan y posteriormente, las teleoginas se desprenden del cuerpo de los animales para caer al suelo y comenzar la oviposición (Rodríguez- Vivas *et al.*, 2011).

2.5 LACTONAS MACROCICLICAS (LM)

Las LM provienen de los micelios de la bacteria Gram (+) *Streptomyces avermitilis* (*S. avermitilis*) (Familia: *Streptomycetaceae*, Clase: *Actinobacteria*) (Cabrera *et al.*, 2012). *S. avermitilis* fue aislado por primera vez de una muestra de suelo en Japón por los laboratorios Kitasato, Merck y MSD en 1944 (Clark *et al.*, 1994).

Se les conoce como macrocíclicas por las características de su estructura química (un azúcar y una glicona) que permite relacionarlas con los macrólidos (Sumano y Ocampo, 2006). La compleja estructura química de estas sales corresponde a una LM de 16 miembros (sin efecto bacteriano) unida a un grupo benzofurano (C2 a C8) y a un anillo espiroquetal (C17 a C25), por lo que son moléculas de gran tamaño con peso molecular entre 600 kDa (milbemicinas) y 800 kDa (avermectinas) (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

De acuerdo al actinomiceto de cuya fermentación provienen existen dos familias: a) las avermectinas (*S. avermitilis*) que a su vez se dividen en: naturales (ivermectina, abamectina) y biosintéticas (doramectina, eprinomectina, selamectina y b) las milbemicinas (*S. hygrosopicus*) donde se encuentra la nemadectina y moxidectina (Botana *et al.*, 2002). Los compuestos de ambas familias poseen actividad sobre endo y ectoparásitos recibiendo por ello, la denominación de fármacos endectocidas (Botana *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008).

Las avermectinas naturales se producen como una mezcla de ocho compuestos diferentes de los cuales los cuatro componentes principales recuperados del proceso de fermentación se identifican por el subíndice _a : A_{1a}, A_{2a}, B_{1a} y B_{2a}. Los otros cuatro componentes menores se recuperan solo en cantidades muy pequeñas, y se identifican por el subíndice _b: A_{1b}, A_{2b}, B_{1b} y B_{2b} (Sumano y Ocampo, 2006).

Cada uno de los ocho componentes poseen actividad antihelmíntica; sin embargo, el componente B_{1a} se recupera en mayores cantidades; por tanto, es el derivado químico (22,23-dihidro-B_{1a}) de este componente con su homólogo (22,23-dihidro- B_{1b}), los que han sido ensayados más extensamente como antihelmínticos. La combinación de estos dos componentes han recibido el nombre de ivermectina (80% o más de B_{1a} y 20 % ó menos de B_{1b}) (Sumano y Ocampo, 2006; Rodríguez- Vivas *et al.*, 2010).

La actividad antihelmíntica de la IV fue reportado por primera vez en el año de 1979 (Burg *et al.*, 1979; Geary, 2005). Las tres avermectinas naturales que se producen en mayor cantidad son A_{2a}, B_{1a} y B_{2a} (Díaz *et al.*, 1997).

2.5.1 MECANISMO DE ACCIÓN

La principal eficacia antiparasitaria de los fármacos endectocidas se atribuye a su efecto sobre nemátodos y artrópodos al unirse a un receptor de glutamato ligado a los canales de cloro con lo que se impide el cierre de éstos y se aumenta su permeabilidad a este ion; ante esto, se desencadena la hiperpolarización de la membrana celular, cesando el estímulo nervioso y originando una parálisis flácida de la musculatura faríngea (afecta a la ingestión de nutrientes) y somática (limita la permanencia del parásito en el órgano) con su consiguiente desprendimiento y muerte (Díaz *et al.*, 2000).

En los mamíferos, los receptores de glutamato se encuentran en el sistema nervioso central, mientras que en los artrópodos y nematodos se encuentran en el sistema nervioso periférico (Õmura y Crump, 2004).

En el caso de *R. microplus*, el tratamiento con IV no origina la muerte o el desprendimiento inmediato, pero interfiere con varios procesos biológicos (disminución o supresión de la producción de huevos, aumento de la facilidad de desprendimiento, disminución del período de unión con el hospedador) que son esenciales para su supervivencia y reproducción (Díaz *et al.*, 2000).

2.5.2 FARMACOCINÉTICA

Las LM alcanzan elevadas concentraciones en tejidos de localización parasitaria como las mucosas abomasal e intestinal, la piel y el tejido pulmonar, siendo éstas concentraciones significativamente mayores a las obtenidas en el plasma (Lifschitz *et al.*, 1999).

La IV sin metabolizar presenta a los 28 días post administración, un 18% de producto residual en la grasa de los bovinos (Botana *et al.*, 2002). Esta permanencia en el tejido de los animales, ha propiciado un incremento en su uso ya que su aplicación en el ganado tiene un impacto económico positivo en la producción pecuaria por su periodo residual (Geary, 2005).

2.5.3 FORMULACIÓN FARMACÉUTICA Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

El tipo de formulación farmacéutica influye en el proceso de absorción de los endectocidas desde el sitio de la administración parenteral. Cuando la IV se administra por vía subcutánea a bovinos en una formulación acuosa, se obtiene un pico de concentración plasmática mayor y una eliminación más rápida; sin embargo, en una formulación de base oleosa se produce una absorción lenta así como un retraso en la eliminación obteniéndose con ello, un alto grado de eficacia con la dosis estándar (0,2 mg/kg) (Diaz *et al.*, 2000; Botana *et al.*, 2002).

Las formulaciones convencionales inyectables al 1% se dosifican a razón de 200µg/kg para bovinos y las de larga acción (3,15%) se aplican vía subcutánea a dosis de 0,63 mg/kg (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

La IV también está disponible en aplicación “*pour on*” que contiene 5mg/kg de producto y se aplica a razón de 1.0 ml/kg (Quiroz, 2007).

La presentación en pellet (bolo) está diseñada para liberar de 8 a 12 mg/día de IV durante 135 días tras su ingesta oral; posteriormente, el bolo se deposita y se retiene en el área retículo-ruminal originando concentraciones plasmáticas de 20ng/g a los 4 días post-ingestión manteniendo estos niveles hasta 120 días post-administración (Botana *et al.*, 2002).

La vía de administración y la naturaleza de la formulación influyen notablemente en la disponibilidad sistémica de la IV así como en su persistencia plasmática en concentraciones terapéuticas (Laffont, 2002).

Por otro lado, el retraso en el tránsito gastrointestinal puede favorecer el proceso de recirculación entero-hepática, lo cual explica la mayor disponibilidad plasmática de la IV obtenida en los animales con restricción alimenticia. En efecto, la composición corporal así como la raza animal, pueden ser elementos que influyen en el comportamiento farmacológico de los endectocidas (Botana *et al.*, 2002).

Su uso también ha revolucionado en el control de parásitos externos (pulgas, garrapatas, ácaros, etc.) debido a su modo de acción, alta eficacia a bajas dosis y disponibilidad comercial en diferentes tipos de presentación (Geary, 2005).

En este sentido, en el cuadro 1 se presentan los endectocidas autorizados para el control de garrapatas en México.

Cuadro 1. Endectocidas autorizados por SAGARPA en México.

Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Baymec prolong	Ivermectina	Inyectable	Bayer
Coopermec	Ivermectina	Inyectable	Schering- Plough
Cydectin NF	Moxidectina	Inyectable	Fort Dodge
Dectomax	Ivermectina	Inyectable	Pfizer
Dectiver Premium	Ivermectina	Inyectable	Lapisa
Ivermectina 1 %	Ivermectina	Inyectable	Ouro Fino
Ivermectina 1 % L.A	Ivermectina	Inyectable	Ouro Fino
Ivomec – F	Ivermectina	Inyectable	Merial
Ivomec Gold	Ivermectina	Inyectable	Merial
Ivomec inyectable	Ivermectina	Inyectable	Merial
Ivomec Pour On	Ivermectina	Inyectable	Merial
Rank L.A	Ivermectina	Inyectable	Intervet
Solution 3.5 % L.A	Ivermectina + Abamectina	Inyectable	Intervet
Virbamec Platinum	Ivermectina	Inyectable	Virbac
Zeramec	Ivermectina	Inyectable	Virbac

Fuente: Rodríguez- Vivas *et al.*, 2011.

2.5.4 METABOLISMO

Los endectocidas tienen procesos de biotransformación que ocasionan hidroximetil- derivados y O-desmetil-derivados; sin embargo, más del 50% de la dosis aplicada se elimina en forma no biotransformada. La IV se biotransforma principalmente en tejido adiposo e hígado siendo este órgano, el sitio de depósito del fármaco inalterado (Díaz *et al.*, 1997).

2.5.5 EXCRECIÓN

Más del 90% de la dosis administrada de LM se eliminan por bilis y materia fecal sin metabolizarse (Botana *et al.*, 2002). Debido a sus características fisicoquímicas, estos compuestos pueden sufrir circulación enterohepática, lo que contribuye a su prolongada permanencia en el organismo animal. Por su alta

lipofilia, el 5.5% de la dosis de IV administrada es excretada a través de la glándula mamaria; sin embargo, el porcentaje de la dosis eliminada por leche está influido por el contenido graso de la misma (Díaz *et al.*, 1997).

2.5.6 TOXICIDAD

La potencia antiparasitaria de las IV es alta y se basa su eficacia terapéutica en la concentración de microgramos/kg administrado; no obstante, la dosis absoluta que se requiere para obtener toxicidad en mamíferos está normalmente en el rango de las decenas de miligramos/kg. Ello, les confiere índices terapéuticos elevados con altos niveles de seguridad (Díaz *et al.*, 2000).

La IV ejerce su acción por unión a canales de cloruro dependientes del ácido gamma amino butírico (GABA) o del glutamato; aunque, estos últimos no existen en los vertebrados. El GABA es un neurotransmisor confinado al SNC en los mamíferos y es ahí precisamente, donde puede evidenciarse clínicamente signos de neurotoxicidad a dosis no terapéuticas (González *et al.*, 2010). Las LM tienen acceso restringido al SNC porque la barrera hematoencefálica actúa como una barrera parcial para su distribución debido a su elevado peso molecular (González *et al.*, 2010).

Los signos de neurotoxicidad aguda por IV son similares en las diferentes especies de mamíferos; en bovinos, dosis de 4 mg/kg pueden llegar a producir ataxia (Sumano y Ocampo, 2006).

Por otra parte, las elevadas concentraciones de IV que se eliminan por las heces mantienen su actividad biológica y ejercen su poder insecticida sobre un

gran número de especies de dípteros y coleópteros que colonizan la materia fecal de los bovinos. La IV tiene una vida media variable en mezclas de materia fecal y suelo que oscila entre 91 a 217 días en invierno y de 7 a 14 días en verano (Lifschitz *et al.*, 1999).

2.6 NO SUSCEPTIBILIDAD A LA IVERMECTINA

El Acuerdo por el que se establece la Campaña Nacional para el Control de la garrapata *Boophilus spp* define el termino de Resistencia como la: “Capacidad de una población de ectoparásitos para tolerar dosis de tóxicos que serían letales para la mayoría de los individuos en una población normal (susceptible) de la misma especie” (SAGDRPA, 2012). Así, a nivel nacional destaca la presencia de cepas totalmente resistentes a ciertas familias de ixodidas como la cepa “Tuxpan” que lo es hacia los OF (Aguirre *et al.*, 1986) y la cepa “Tempoal” que muestra una resistencia mixta a organoclorados y OF (Alonso-Diaz *et al.*, 2006).

En este sentido y aunque se ha reportado por Pérez-Cogollo *et al.* (2010) en el sureste de México la presencia de garrapatas que son afectadas por las IV, no se ha demostrado ni se tienen aún en el país cepas de referencia que muestren una resistencia total y hereditaria hacia este principio activo; por ello, a la capacidad de *R. microplus* de sobrevivir o no al contacto con la IV, se le conoce como no susceptibilidad o susceptibilidad, respectivamente.

El primer informe mundial de una cepa de *R. microplus* resistente a LM, específicamente a doramectina con resistencia cruzada a ivermectina, abamectina y moxidectina fue comunicado por Martins y Furlong (2001) en Brasil.

Esta cepa (São Gabriel) fue diagnosticada resistente a través de una prueba “*in vivo*”, en bovinos de una finca en el estado de Rio Grande do Sul (Klafke, 2006).

La resistencia de las garrapatas hacia un principio activo en particular se origina en el uso frecuente de un producto con el mismo mecanismo de acción; esto, conlleva a que los individuos que no presentan el alelo resistente hacia ese fármaco sean eliminados mientras que los que sí lo presentan, sobrevivan al contacto. Esta característica hereditaria propicia de manera paulatina, un incremento en la tasa de supervivencia de garrapatas en una UPB (Díaz, 2012).

El desarrollo de no susceptibilidad y en algunos casos resistencia a productos insecticidas o acaricidas en artrópodos depende entre otros factores, del ciclo de vida de estos organismos, del número de descendientes por generación, de las poblaciones refugio existentes en campo (individuos que no han sido puestos en contacto con plaguicidas) así como del volumen, frecuencia y condiciones de aplicación de los compuestos (Sangster, 2001).

En este sentido, *R. microplus* tiene un ciclo corto de vida y produce muchos descendientes (3,000 – 4,000 huevos) pudiendo manifestar rápidamente la no susceptibilidad a productos ixodicidas, lo cual es particularmente común en este artrópodo (Peter *et al.*, 2005). Esta situación, unida al uso intensivo de acaricidas y a las condiciones inadecuadas de preparación y aplicación, da lugar a que sus poblaciones desarrollen mecanismos que permiten la supervivencia de algunos individuos expuestos al tratamiento, mientras los susceptibles son eliminados (Díaz, 2012).

Pérez-Cogollo *et al.* (2010) informaron por primera vez la presencia de cepas de *R. microplus* no susceptibles al uso de IV en el sureste de México. En este sentido, el empleo generalizado de las LM para el control de endo y ectoparásitos en las zonas tropicales de México sin el asesoramiento técnico respectivo es motivo de preocupación, ya que esto puede originar la presencia de poblaciones de *R. microplus* no susceptibles a la IV con la consecuente problemática zoonosológica (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2012).

3. JUSTIFICACION

En las UPB ubicadas en regiones tropicales y subtropicales del mundo las afecciones parasitarias son consideradas como una de las principales causas de problemas zoonosarios y reducción en la productividad ganadera.

La ubicación geográfica de la zona centro del Estado de Veracruz y su topografía le brinda la capacidad de desarrollar los climas cálido húmedo y subhúmedo propios de las zonas tropicales, a una altura máxima de 1,000 m sobre el nivel del mar (INEGI, 2013). Estas características climatológicas propician en la entidad un ambiente favorable para la presencia de endo y ectoparásitos en el ganado durante todo el año.

Debido a la importancia sanitaria, productiva y económica que representa la resistencia de *R. microplus* hacia las diferentes familias de ixodíidas y con el antecedente de la presencia de casos de no susceptibilidad de este ectopárasito al uso de IV en el estado de Yucatán, el presente estudio pretende identificar la posible existencia de poblaciones de esta especie no susceptibles a este principio activo en UPB de la zona centro de Veracruz; lo anterior, con la finalidad de aportar información epidemiológica que permita coadyuvar en el conocimiento de esta problemática zoonosaria en el sector ganadero estatal y nacional.

4. HIPÓTESIS

Ante el uso en algunos casos indiscriminado de ivermectina en hatos ganaderos de la zona centro de Veracruz, es posible que existan poblaciones de *R. microplus* no susceptibles al uso de este principio activo.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO-GENERAL

Conocer la frecuencia de ranchos ganaderos con poblaciones de *R. microplus* no susceptibles al uso de ivermectina en la zona centro del Estado de Veracruz e identificar los factores relacionados con esta posible problemática.

5.2 OBJETIVOS- ESPECÍFICOS

1. Conocer la frecuencia de ranchos ganaderos con poblaciones de *R. microplus* no susceptibles a la IV.
2. Identificar los posibles factores de manejo del baño garrapaticida relacionados con la problemática de no susceptibilidad a IV en los ranchos ganaderos estudiados.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 POBLACIÓN EN ESTUDIO

La investigación se realizó mediante un estudio epidemiológico transversal en UPB localizadas en siete municipios de la zona centro del estado de Veracruz (Cuadro 2).

Cuadro 2. Localización geográfica y caracterización climatológica de los municipios considerados para el muestreo de campo.

Municipio	Coordenadas/ caracterización climatológica
Ángel R. Cabada	18° 36' latitud norte y 95° 27' longitud oeste; 10m sobre el nivel del mar. Clima cálido- regular. Temp. promedio: 25.3 °C
Carlos A. Carrillo	18° 22 ' latitud norte y 95° 45' longitud oeste; 6m sobre el nivel del mar. Clima tropical. Temp. promedio: 25.2 °C
Comapa	19° 10' latitud norte y 96° 53' longitud oeste; 1,040m sobre el nivel del mar. Clima templado-húmedo regular. Temp. promedio: 25.2°C
Huatusco	19° 09' de latitud norte y 96° 58' de longitud Oeste; 1,300m sobre el nivel del mar. Clima cálido-húmedo. Temp. promedio: 19.1° C
Jamapa	19° 03' de latitud norte y 96° 14' de longitud oeste; 57m sobre el nivel del mar. Clima cálido-seco-regular. Temp. promedio: 25° C
Puente Nacional	19° 20" latitud norte y 96° 29" longitud oeste; 100m sobre el nivel del mar. Clima cálido-regular. Temp. promedio: 26.5° C
Tlaxiaco	18° 48' latitud norte y 96° 04' longitud oeste; 10m sobre el nivel del mar. Clima cálido. Temp. promedio: 25.8°C

Fuente: INAFED, 2013.

Por tratarse de un estudio piloto, el tamaño de muestra de las UPB seleccionadas para la investigación, se determinó por conveniencia.

6.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se incluyeron como unidades de muestreo hatos de doble propósito con un mínimo de 20 bovinos de cualquier edad que no se hubiesen bañado con ixodicidas al menos durante los 15 días previos al muestreo y que tampoco hubiesen sido desparasitados con IV al menos 45 días antes de la colecta de garrapatas. Las teleóginas ingurgitadas para el estudio se colectaron directamente del ganado.

6.3 MUESTREO DE CAMPO

De manera conjunta con los productores y con dos semanas de anticipación se programaron los muestreos de campo al considerar los criterios de inclusión referentes al tiempo de no aplicación del baño garrapaticida y al uso de IV en los animales; asimismo, se programaron las fechas de visitas a las UPB para la colecta de garrapatas teleóginas y, mediante una entrevista con el productor, se llenaron las encuestas para el análisis de los factores que pudiesen estar relacionados a la presentación del evento de no susceptibilidad, en su caso.

6.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

En cada UPB se colectaron 50 teleóginas de *R. microplus* procedentes de diferentes animales; la identificación de esta especie se realizó conforme a las claves taxonómicas citadas por Rodríguez y Cob (2005). Cada animal seleccionado para la colecta de garrapatas se inmovilizó por sujeción y fue sujeto

a una observación y palpación cuidadosa para la identificación de las teleóginas; éstas, se colectaron de diferentes sitios del animal mediante desprendimiento manual a contra pelo (CNMVZM, 1994). En apego a las sugerencias dictadas por la FAO (1999) para el manejo de muestras de garrapatas para estudios de resistencia, los ejemplares se depositarán en cajas de Petri perforadas en su tapa para permitir la circulación de aire; bajo un ambiente de cámara húmeda, se trasladaron al Laboratorio de Parasitología de la Unidad de Diagnóstico de la Posta Zootécnica “Torreón del Molino”, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana (FMVZ-UV).

6.5 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

En el laboratorio las teleóginas se incubaron para ovopositar en una cámara oscura a una temperatura de 27°C con una humedad del 80% (FAO, 1999). A las dos semanas de la oviposición, los huevos se depositaron en viales de vidrio, se taparon con un algodón para permitir la oxigenación y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad hasta la eclosión de la primera fase larvaria o pinolillo (aproximadamente 35 días post-colección).

6.6 BIOENSAYOS

La metodología para la elaboración de los bioensayos mediante la prueba de inmersión de larvas para el diagnóstico de susceptibilidad a la IV se desarrolló acorde a lo citado por Pérez-Cogollo *et al.* (2010). Para los bioensayos se utilizaron larvas con una edad entre 7-14 días. Las pruebas se efectuaron empleando una dosis discriminante para IV a once diluciones con tres repeticiones por cada dilución (carteras de incubación) en el grupo tratado, el cual

tuvo su respectivo grupo control. Para conocer la susceptibilidad a la IV en cada bioensayo se utilizó 0.01 gr de ivermectin al 100% (sal pura) comercializada por los Laboratorios Sigma de México, S.A.

6.7 LECTURA DE RESULTADOS

La lectura del bioensayo se realizó 24 horas posteriores al tratamiento. Se inició con el conteo de las larvas vivas en los paquetes control y enseguida en los tratados. Todas las fases larvarias que caminaron se consideraron vivas. Posterior al cálculo de la sobrevivencia larvaria, se procedió a determinar la tasa (%) de mortalidad por cada población estudiada (FAO, 1999). Para la evaluación de la susceptibilidad a la IV se utilizaron los programas Probit y Polo Plus y los criterios de no susceptibilidad a esta LM, se calcularon acorde a lo mencionado por Pérez-Cogollo *et al.* (2010). Para un análisis objetivo, los niveles de susceptibilidad ($IR_{99\%}$) se graficaron mediante el paquete estadístico Polo Plus, Probit and *Logit Analysis* (versión 1.0) calculándose las Concentraciones Letales al 99% ($CL_{99\%}$) de IV y el Índice de Resistencia al 99% por cepa ($IR_{99\%}$). El $IR_{99\%}$ es el coeficiente obtenido de dividir la CL_{99} de la cepa resistente entre la CL_{99} de la cepa susceptible (Soberanes *et al.*, 2005).

6.8 APLICACIÓN DE ENCUESTAS

Con la finalidad de obtener información sobre el manejo del baño garrapaticida en cada UPB, se aplicó al propietario y/o al encargado un cuestionario en una entrevista semi-estructurada; lo anterior, para identificar las posibles variables relacionadas con el evento de susceptibilidad o no susceptibilidad, en su caso. Las variables consideradas fueron: el uso de IV, asesoría profesional para ello,

tiempo de uso, dosis, frecuencia y criterio de aplicación, rotación de ixodicidas en el hato y decisión para cambio de producto ixodicida (Anexo 1).

6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para calcular la prevalencia de UBP con poblaciones de *R. microplus* no susceptibles a IV se empleó la fórmula propuesta por (Thrusfield ,2005):

$$p = \frac{\text{Número de UPB con presencia de cepas no susceptibles}}{\text{Total de UPB muestreadas}} \times 100$$

Los intervalos de confianza al 95% (IC:95%) para las prevalencias encontradas se calcularon con el programa en línea Vassarstats®.

Se utilizó la prueba de chi-cuadrada para explorar la relación existente entre el resultado del IR_{99%} obtenido en cada UPB y las variables: uso de IV, asesoría, tiempo y frecuencia de uso del producto, así como el criterio para su aplicación. También se calculó el coeficiente de correlación (r) entre el IR_{99%} de cada UPB obtenido y las variables cuantitativas: tiempo y frecuencia de uso del producto. Se declaró la existencia de significancia estadística a un valor de $p \leq 0.05$.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El muestreo se realizó en 30 UPB localizadas en los municipios de Ángel R. Cabada, Carlos A. Carrillo, Comapa, Huatusco, Jamapa, Puente Nacional y Tlalixcoyan, Ver.

7.1 RESULTADOS DE LAS ENCUESTAS

Se observó que el 50% de los productores usan IV en el ganado para el control de garrapatas; de éstos, ocho (27%) resultaron en sus hatos con poblaciones de *R. microplus* susceptibles a la misma, tres (10%) fueron diagnosticados como sospechosas y cuatro (13%) como no susceptibles. Así, el 47% (7/15) de los productores que la emplea específicamente para su control, ya tiene en sus UPB problemas de no susceptibilidad de esta especie al endectocida.

El otro 50% de los encuestados la emplea para el combate de endoparásitos; de éstos, seis (20%) se diagnosticaron con poblaciones de garrapatas susceptibles, siete (23%) fueron sospechosos y dos (7%) no susceptibles. Así, el 60% (9/15) de los productores que la emplea sólo con esta finalidad, ya tiene en sus UPB de manera indirecta, problemas de no susceptibilidad de *R. microplus* al endectocida. Sin embargo, por el simple hecho de emplear a la IV con una u otra finalidad, el 53% de los productores (16/30) ya tienen en sus respectivas UPB, poblaciones de garrapatas que presentaron en los bioensayos, problemas de susceptibilidad a este principio activo; sin embargo, estadísticamente el valor de “p” encontrado para esta variable, no fue significativo ($p = 0.279$).

En relación con la asesoría o falta de ésta en los productores para el uso correcto de la IV en el ganado, 12 personas encuestadas (40%) no contestaron. Del resto, el 39% (7/18) no cuentan con asesoría técnica ni profesional por lo que la utilizan de manera empírica. De este grupo, cuatro UPB (57%) se clasificaron con garrapatas susceptibles, dos (29%) con poblaciones sospechosas y una (14%) resultó no susceptible; sin embargo, el 43% de los productores (3/7) que la usan empíricamente, ya cuentan con poblaciones de *R. microplus* que demuestran falta de susceptibilidad a este endectocida. En este sentido, el 61% (11/18) de ellos sí cuenta con la asesoría técnica correspondiente; no obstante, cinco UPB (46%) resultaron susceptibles, dos (18%) fueron clasificadas como sospechosas y cuatro UPB (36%) como no susceptibles. Así, el 55% (6/11) de los productores que sí tienen asesoría, ya presentan en sus hatos problemas para el control de *R. microplus* al emplear IV. En este contexto, es evidente la gran responsabilidad que recae en los técnicos y profesionistas en relación con la asesoría para el uso correcto de los endectocidas porque, ante los resultados obtenidos de la encuesta en este grupo, aparentemente la información que se brinda al productor no es la adecuada para el caso, lo cual conlleva a la aplicación de esquemas de control mal encauzados. Independientemente, el desconocimiento previo en el empleo de los endectocidas ha generado que el 50% de los productores (9/18) que contestaron esta pregunta, tenga ya en sus hatos poblaciones de *R. microplus* con problemas de susceptibilidad a la IV; no obstante, el valor de “p” encontrado para esta variable, no fue estadísticamente significativo ($p = 0.584$).

De acuerdo al tiempo de empleo de la IV en su ganado, 12 productores (40%) no contestaron. Dentro de las encuestas atendidas por los ganaderos, se observa el uso de cinco marcas comerciales de IV parenteral con un promedio de 6 años de aplicación continua en el ganado y un rango de empleo de entre seis meses y 15 años. Así, el 11% de los productores (2/18) la lleva usando al menos seis años ininterrumpidos; dentro de este grupo, una UPB resultó susceptible y otra no susceptible. Sin embargo, en el 56% de las UPB (10/18) donde su tiempo de empleo es menor a seis años, el resultado obtenido fue de seis UPB (60%) susceptibles, tres UPB (30%) sospechosas y una UPB (10%) no susceptible. En contraste, de las seis UPB donde la IV se ha utilizado por más de seis años, dos (33%) son susceptibles, una (17%) fue sospechosa y tres (50%) no susceptibles. En este sentido, se puede apreciar que el uso de la IV por seis años o más de manera ininterrumpida, ya propició en al menos cinco UPB (28%) problemas de susceptibilidad a este principio activo aunque estadísticamente, los valores encontrados no fueron significativos ($r = 0.23$, $p > 0.05$).

Al indagar sobre la frecuencia de aplicación de la IV en el ganado, 12 productores (40%) no contestaron la pregunta. Sin embargo, el 56% de los ganaderos (10/18) que sí lo hicieron, mencionaron que la ocupan al menos cada seis meses como técnicamente se aconseja; no obstante, en este grupo seis UPB (60%) resultaron susceptibles, dos (20%) fueron sospechosas y dos (20%) no susceptibles, es decir el 40% de los entrevistados a pesar de aplicarla dentro de la frecuencia recomendada, presentan ya en sus hatos poblaciones de *R. microplus* con problemas de susceptibilidad a la misma. En aquellas UPB donde

la frecuencia de uso es menor a seis meses (39%, 7/18), tres (42%, 3/7) fueron susceptibles, 2 (29%) sospechosos y 2 (29%) no susceptibles. En este contexto, sólo un productor (5%, 1/18) la aplica con una frecuencia superior a los seis meses y su UPB se clasificó como no susceptible a este endectocida. Al analizar esta variable en su conjunto, se observa que por la frecuencia de aplicación, en el 50% de las UPB (9/18) ya se tienen poblaciones de garrapatas con problemas de susceptibilidad a la IV aunque estadísticamente, los valores encontrados no fueron significativos ($r = 0.19$, $p > 0.05$).

Con base en las encuestas, el 67% (12/18) de los productores usa la IV por rutina sin considerar el periodo residual de las LM; así, seis UPB (50%, 6/12) fueron susceptibles, dos (17%, 2/12) resultaron sospechosas y cuatro (33%, 4/12) fueron no susceptibles. Con esta variable, nuevamente se aprecia que en el 50% de las UPB (6/12), ya se empiezan a tener poblaciones de *R. microplus* no susceptibles a este endectocida. En ese sentido, Arieta Román *et al.* (2010) mencionan que la frecuencia de aplicación de la IV en el ganado sin considerar la concentración del producto empleado y el período residual de la misma, son factores que pueden favorecer la presencia de poblaciones no susceptibles a esta LM en una UPB.

Por otra parte, el otro 33% de los encuestados (6/18) mencionó que no usan la IV por rutina sino que la aplican sólo cuando el ganado tiene garrapatas; en este grupo, se encontraron tres UPB (50%, 3/6) susceptibles a este principio activo, dos UPB (33%, 2/6) sospechosas y una (17%) no susceptible; sin embargo, esta variable tampoco fue estadísticamente significativa ($p = 0.638$).

En el cuadro 3 se presentan las IV empleadas por los productores así como el periodo residual de cada una de ellas de acuerdo a su concentración.

Cuadro 3. Concentración de IV en los productos utilizados por los productores de acuerdo a las encuestas.

Concentración IV (%)	Productores	Período residual IV (días)
1	8	21
2	1	30
3.5	4	42
IV (1%) + clorsulon	1	21
IV (1%)+ nitroxinil	2	21
No saben	14	-
Total	30	-

En el cuadro 3 se aprecia que el 50% de los productores (8/16) emplea IV en sal pura a una concentración que va del 1 al 3.5% aunque el 50% (8/16) la aplica a una concentración al 1% por ser ésta según indicaron, la presentación más comercial y económica del mercado.

Un dato inquietante que aportó la encuesta es que sólo el 30% de los productores (9/30) aplica la dosis de IV recomendada que es de 1 ml/50kg de peso; sin embargo, el 70% de ellos sobredosifica el producto al momento de la inyección parenteral.

En cuanto a la rotación de ixodicidas se refiere, 13 productores (43%) no contestaron la pregunta correspondiente; sin embargo, el 57% sí la realiza especialmente con AM, PS y OF. Cabe mencionar, que todos sólo cambian de

producto comercial más no de principio activo y la decisión para hacerlo, es la no eficacia del mismo. Desafortunadamente, ninguno de ellos tiene diagnóstico de susceptibilidad a ixodicidas de la población de garrapatas en su hato, que sustente la elección correcta del nuevo producto y que les permita establecer el esquema adecuado para controlar de manera eficaz la presencia de *R. microplus* en su ganado.

7.2 RESULTADOS DE LABORATORIO

Para conocer el nivel de susceptibilidad de *R. microplus* a la IV se utilizó el criterio de interpretación que marca la técnica al calcular el Índice de Resistencia al 99% ($IR_{99\%}$) el cual indica que: en una UPB con un $IR_{99\%} < 3$ la población de garrapatas de ese rancho es susceptible al endectocida; en una UPB con un $IR_{99\%}$ entre 3 y 5 se considera como una población sospechosa y en una UPB con un $IR_{99\%} > 5$ se considera a la población de garrapatas como no susceptible (Pérez-Cogollo *et al.*, 2010). En este contexto, y de acuerdo al $IR_{99\%}$ obtenido en cada una de las UPB se encontraron 14 ranchos susceptibles, 10 sospechosos y 6 no susceptibles al uso de este principio activo (Figura 1).

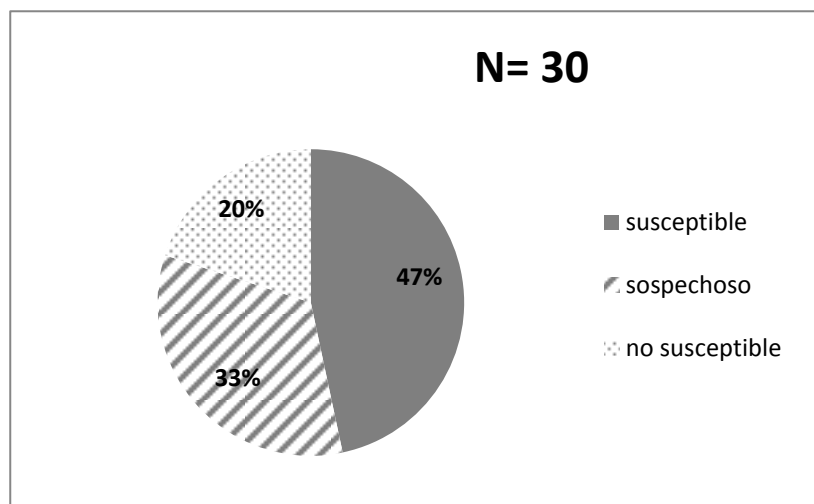


Figura 1. Porcentaje de susceptibilidad a Ivermectina identificado en el total de las UPB muestreadas.

Un dato que es motivo de preocupación es que el 53% de las poblaciones de garrapatas muestreadas que corresponden a 16 UPB, empiezan a presentar una falta de susceptibilidad al contacto con la IV; en este contexto, en el 33% (10/30) de las UPB diagnosticas como sospechosas es necesario determinar las estrategias a seguir para minimizar el riesgo del incremento paulatino de $IR_{99}\%$ hacia el nivel de no susceptibilidad. Una alternativa podría ser el uso racional de este principio activo mediante esquemas específicos de aplicación en base al tiempo de persistencia del producto en los animales; en este sentido, Arieta-Román *et al.* (2010) mencionan que las LM de larga acción (3.15%) muestran una eficacia mayor al 95% para el control de *R. microplus* con una eficacia residual de hasta 70 días post-aplicación.

La presencia de garrapatas no susceptibles a la IV en las zonas tropicales de México en una problemática zoonosaria que empieza a afectar a la producción ganadera nacional (Perez-Cogollo *et al.*, 2010) aunque esto, ya ha sido demostrado en Brasil por Klafke *et al.* (2006). La evidencia obtenida en este estudio donde se identifican seis UPB con estas características denotan el avance de esta situación en áreas con este tipo de condiciones climatológicas en nuestro país. En estas UPB, las alternativas de control de garrapatas deben incluir sobre todo, esquemas de capacitación para concientizar al productor y a los profesionistas o técnicos que brindan asesoría pecuaria a no utilizar más las LM con esta finalidad y optar por el empleo de otros productos químicos para el control de endoparásitos así como el uso de otros principios activos que conlleven a minimizar la presencia de garrapatas en los animales. Lo anterior, con la intención de evitar el incremento en los niveles de no susceptibilidad a la IV en dichas UPB que conlleven en el tiempo, al desarrollo de poblaciones de garrapatas “resistentes” a este principio activo como ya se tiene reportado en Brasil (Klafke *et al.*, 2006).

Para un análisis objetivo, los niveles de susceptibilidad ($IR_{99\%}$) encontrados en las 30 UPB muestreadas en este estudio, se graficaron mediante el paquete estadístico Polo Plus Probit. En la figura 2 se muestra el resultado obtenido en una de las 14 UPB susceptible al uso de IV.

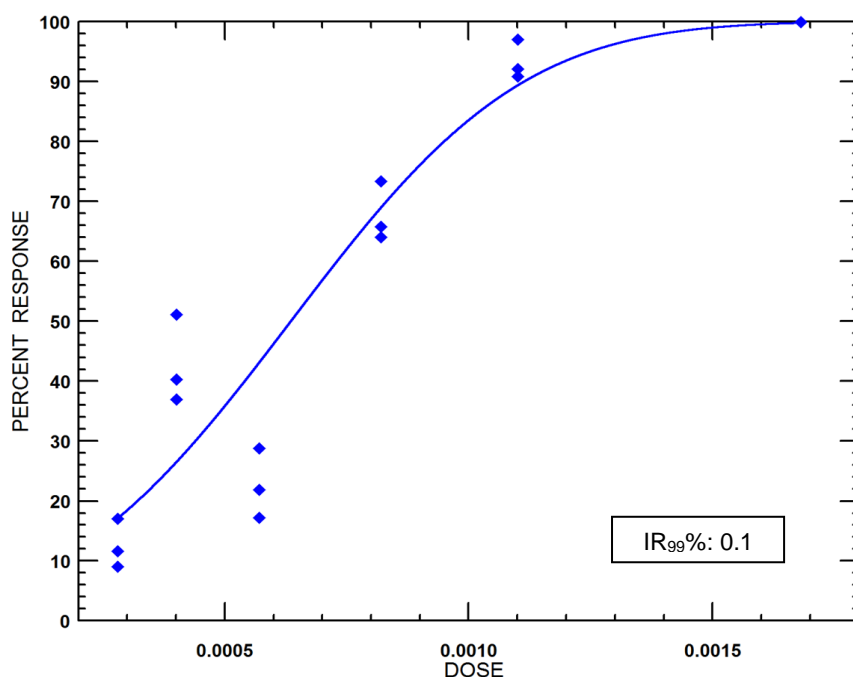


Figura 2. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas susceptibles.

Durante los bioensayos, las poblaciones de garrapatas se someten a inmersión en once diluciones de IV a diferentes concentraciones: la mayor es de 0.10 microlitros (μl) y la menor de .0028 μl . En la figura 2 se aprecia que a concentraciones muy pequeñas de IV se obtiene una alta mortalidad en las garrapatas (dosis-respuesta), situación que estima para dicha UPB un $\text{IR}_{99\%}$ de 0.1, el cual la clasifica como susceptible a este producto químico. Esto, se debe fundamentalmente a un buen manejo de la IV en cuanto al tiempo de aplicación y a la dosis empleada en los animales.

En la figura 3 se muestra el resultado obtenido en una de las 10 UPB diagnosticadas con poblaciones de garrapatas sospechosas al uso de IV, la mortalidad en las garrapatas (dosis-respuesta), es alta sólo entre las diluciones

0.10 μ l y 0.06 μ l; a partir de esta última, la mortalidad del ectoparásito disminuye directamente en proporción a la concentración de la IV empleada en la dilución.

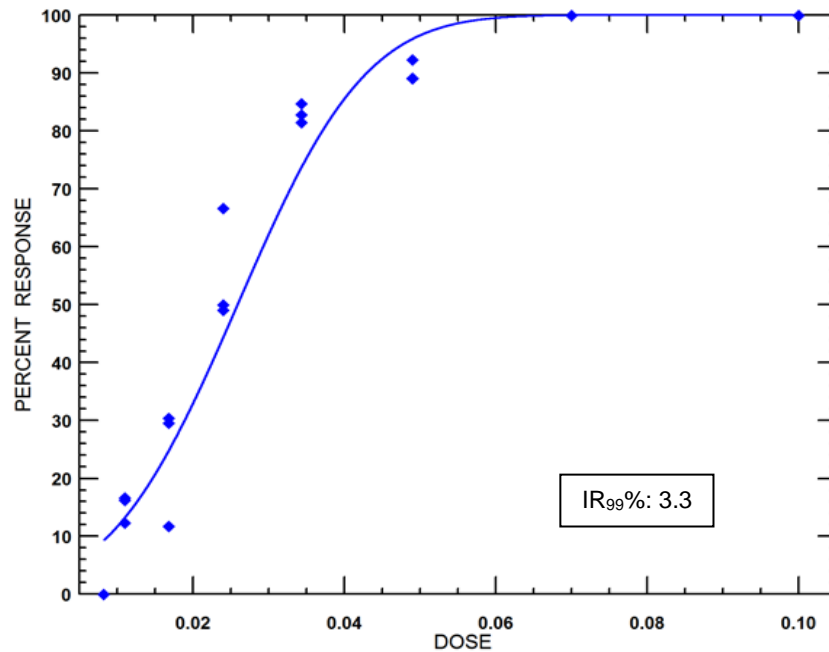


Figura 3. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas sospechosas.

El $IR_{99\%}$ estimado para esta UPB es de 3.3, el cual la clasifica como sospechosa; es decir, el 99% de la población de garrapatas de esta UPB empieza a sobrevivir al contacto con este principio activo. Esto, evidencia algún tipo de error en el manejo de la IV en cuanto al tiempo de aplicación y a la dosis empleada en los animales se refiere. En este sentido, es importante señalar que de continuar con el uso inadecuado de la IV en esta UPB, las garrapatas podrían desarrollar el evento de “no susceptibilidad” en algunos años.

En contraste, en la Figura 4 se presenta gráficamente el evento de no susceptibilidad de garrapatas a la IV en una de las seis UPB clasificadas en este nivel. La mortalidad en las garrapatas (dosis-respuesta), es alta sólo entre las diluciones 0.10 μ l y 0.08 μ l; a partir de esta última, la mortalidad del ectoparásito disminuye también directamente en proporción a la concentración de la IV empleada en la dilución.

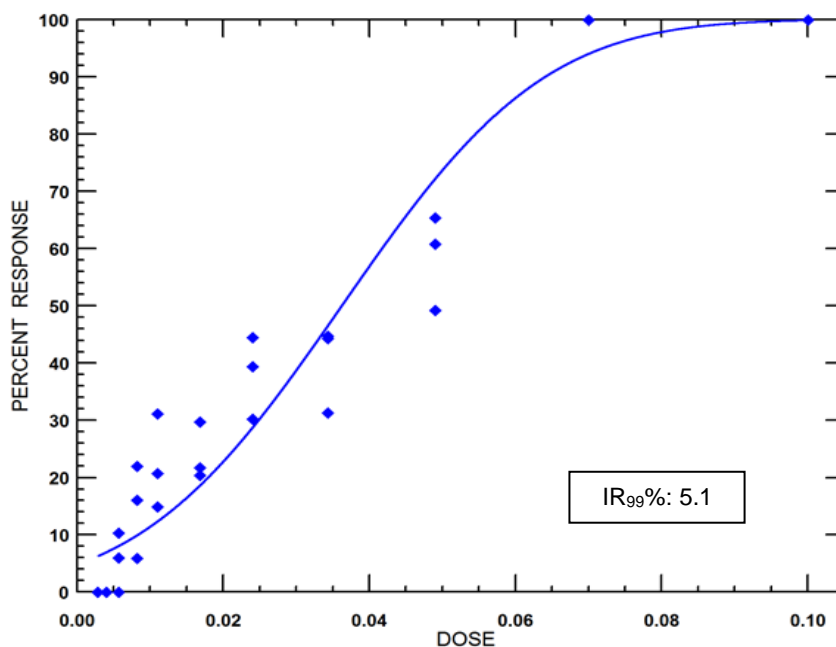


Figura 4. Porcentaje de mortalidad en relación a la concentración de ivermectina empleada en una UPB con diagnóstico de garrapatas no susceptibles.

En la Figura 4 se aprecia que El IR_{99%} estimado para esta UPB fue de 5.1 el cual la clasifica como no susceptible; es decir, el 99% de la población de garrapatas de esta UPB sobrevive al contacto con este principio activo. Esto, puede ser consecuencia de un inadecuado uso de la IV como principio activo para

el control de endo y ectoparásitos. En este sentido, es importante mencionar que en esta UPB se aconseja dejar de usar este producto y buscar esquemas alternos para el control de las endo y ectoparasitosis, con la finalidad de evitar que el nivel de no susceptibilidad a LM se incremente.

De manera particular, en la Figura 5 se presentan los niveles de susceptibilidad ($IR_{99\%}$) a la IV diagnosticados en el laboratorio para el municipio de Comapa, Ver. En este municipio se observa que una de las siete UPB muestreadas (14%) se clasificó como no susceptible al uso de IV; sin embargo, se aprecia que el 43% de las mismas (3/7), ya presentan problemas de susceptibilidad a este principio activo.

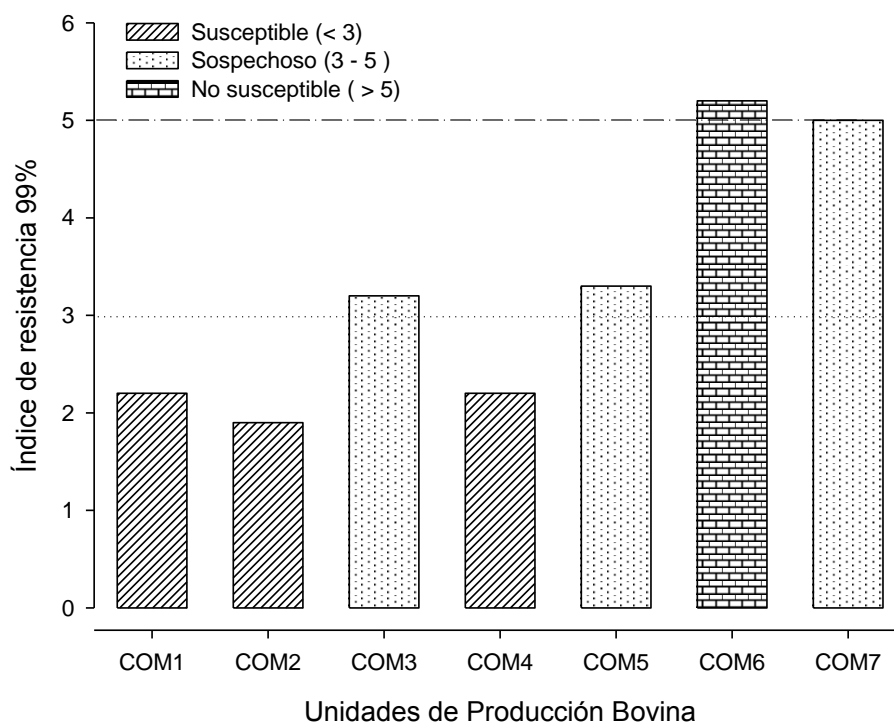


Figura 5. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99\%}$) por UPB encontrado en el municipio de Comapa, Ver.

En la Figura 6 se presentan los resultados de susceptibilidad ($IR_{99\%}$) encontrados en las UPB muestreadas en los municipios de Huatusco y Puente Nacional. El 50% de las UPB muestreadas presentan problemas de susceptibilidad a IV ya que el $IR_{99\%}$ obtenido para cada una de ellas las clasifica como “sospechosas”; no obstante, se aprecia que una UPB del municipio de Puente Nacional (PN3), se encuentra en el límite de susceptibilidad ($IR_{99\%}:3.0$) que la clasifica hasta este momento como susceptible (Perez-Cogollo *et al.*, 2010), situación que podría cambiar en un futuro si no se establece en este rancho algún esquema eficaz en el control de endo y ectoparásitos que minimice la aplicación de LM en el ganado.

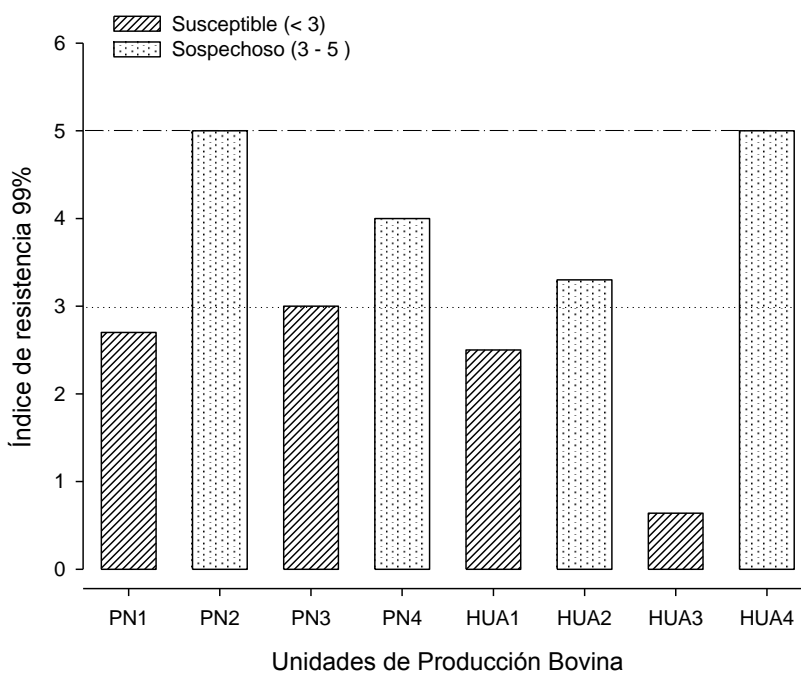


Figura 6. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99\%}$) por UPB observado en los municipios de Huatusco y Puente Nacional, Ver.

En el municipio de Tlalixcoyan se encontró una heterogeneidad con respecto al nivel de susceptibilidad a la IV ($IR_{99}\%$) en las UPB muestreadas. En este municipio se identificó a la UPB con el $IR_{99}\%$ más alto (8.6) de los 30 ranchos estudiados y de acuerdo a los resultados obtenidos. Asimismo, se pudo apreciar que sólo el 40% (4/10) de las UPB resultaron con poblaciones de garrapatas susceptibles a la IV y el 60% de ellas, ya presentan una problemática establecida al empleo de este principio activo para el control de *R. microplus* (Figura 7).

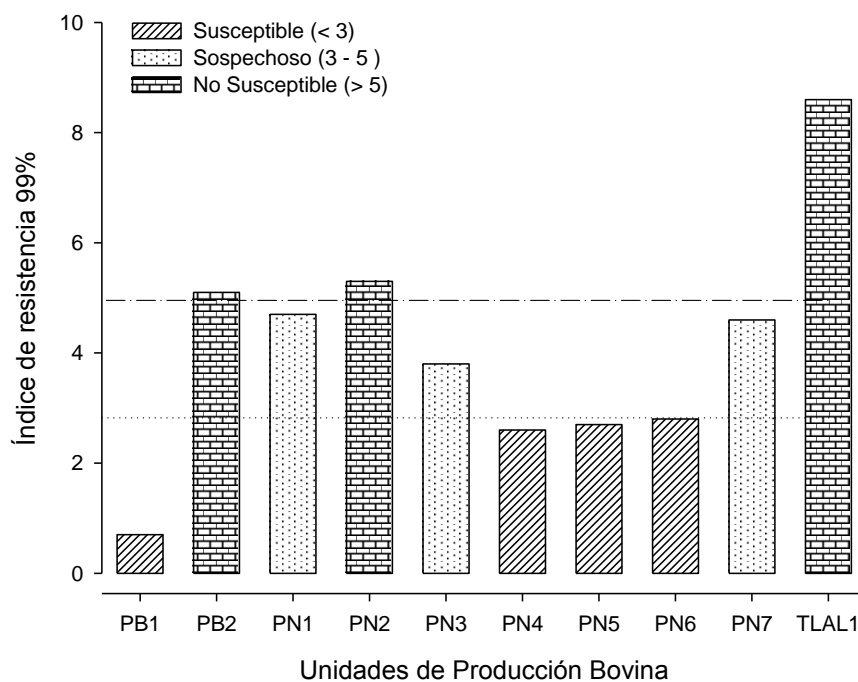


Figura 7. Nivel de susceptibilidad a ivermectina ($IR_{99}\%$) por UPB identificado en el municipio de Tlalixcoyan, Ver.

Los resultados obtenidos en las UPB de los municipios estudiados permiten identificar una tendencia regional encaminada hacia la falta de susceptibilidad al uso de la IV para el control de *R. microplus*; en este sentido, el problema se observa principalmente en los municipios de Huatusco y Puente Nacional donde se encontró un 40% de ranchos clasificados como sospechosos y en los de Tlalixcoyan y Comapa donde se observó un 30% de UPB con esta particularidad.

Por otra parte, el 50% de las UPB muestreadas en el municipio de Tlalixcoyan, el 33% de los ranchos analizados en el municipio de Jamapa y el 17% de las UPB estudiadas en el municipio de Comapa, resultaron no susceptibles al uso de este principio activo.

Los resultados de falta de susceptibilidad podrían atribuirse entre otros factores, a la cercanía que existe entre algunos de estos municipios destacando por ejemplo, la colindancia geográfica entre Huatusco, Puente Nacional y Comapa así como la del municipio de Tlalixcoyan con el de Jamapa.

8. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que en las UPB muestreadas en los siete municipios de la zona centro del Estado de Veracruz, existe la presencia de poblaciones de *R. microplus* con problemas de susceptibilidad al contacto con la ivermectina debido a su aplicación errónea y a su constante uso como producto endoparasiticida.

9. LITERATURA CITADA

Alonso-Díaz M.A, Rodríguez-Vivas R.I, Fragoso S.H, Rosario C.R. 2006 Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Archivos de Medicina Veterinaria, 38: 105-114.

Aguilar, B.J.A. 2010. Termotolerancia y eficacia in vitro del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Ma14) sobre el control de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. Veracruz, Ver. pp. 20-30.

Aguirre, J.L, Sobrino, A.V., Santamaria, S., Aburto, A.E., Roman, S.M., Hernández, C.M., Ortiz, E.A., Ortiz, N.1986. Resistencia de garrapatas en México. Seminario Internacional de Parasitología Animal. Cuernavaca, Morelos. pp. 281-306.

Arieta-Román, R.J, Rodríguez-Vivas, R.I., Rosado-Aguilar, J.A, Ramírez-Cruz, G.T., Basto-Estrella, G., 2010. Persistencia de la eficacia de dos lactonas macrocíclicas contra infestaciones naturales de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos del trópico mexicano. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias,1: 59- 67.

Bazan, T.M. 2002. Efecto de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control biológico de *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado. Tesis de Maestría en Ciencias: área de biotecnología. Universidad de Colima. Tecomán, Colima. pp. 15- 25.

Botana, L.M, Landoni, F., Martín-Jiménez, T. 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. pp. 545-558.

Burg, R.W, Miller, B.M., Baker, E.E., Birnbaum, J., Currie, S.A. 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 15: 361- 367.

Cabrera, J.A, Menjivar, R.D., Dababa, A., Sikora, R.A. 2012. Properties and Nematicide Performance of Avermectins. Phytopathology, 10: 1-5.

Clark, J.M., Scott, J.G., Campos, F., Bloomquist, J.R. 1994. Resistance to avermectins: extent mechanisms and management implications. The Annual Review of Entomology, 40: 1-30.

CNMVZM, 1994. Manual de prácticas de campo. Curso para la aprobación de Médicos Veterinarios Zootecnistas en el control de las garrapatas. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México, D.F. Pp. 3- 5.

Díaz, C.M.S, Espuny, A., Escudero, E., Cárceles, C.M. 1997. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas. Anales de Veterinaria de Murcia, 13-14: 3-22.

Díaz, C.M.S., Espuny, A., Escudero, E., Cárceles, C.M. 2000. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas (II). Anales de Veterinaria de Murcia, 16: 15-40.

Díaz, R.E. 2012. Molecular and biochemical mechanisms of acaricide resistance in common cattle tick *Rhipicephalus microplus*. Revista Colombiana de Ciencia Animal, 5: 72-79.

Domínguez-García, D.I., Rosario-Cruz, R., Almazán-García, C., Saltijeral, J.A., De la Fuente, J. 2010. *Boophilus microplus*: aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 12: 181- 192.

FAO, 1987. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten. Manual práctico de campo, FAO 1: 5-20.

FAO, 1999. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Resistance of ecto- and endo-parasite: current and future solution, 67th General session. International Committee. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Paris, France. pp. 17-21.

Geary, T.G., 2005. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. Trends in Parasitology, 21: 530-532.

González, C.A., Fernández, M.N., Sahagun, P.A., García, V.J., Díez, L.M.J, Tamame, M.P.P., Sierra, V.M. 2010. Seguridad de la ivermectina: toxicidad y reacciones adversas en diversas especies de mamíferos. Revista MVZ, 15: 2127-2135.

Gutiérrez, H.A. 2008 Eficacia comparativa de la Ivermectina, Doramectina, Moxidectina y un grupo control no tratado frente al promedio de peso y al control parasitario en bovinos *Bos indicus* de levante de 12 a 16 meses en la zona de Montería, Córdoba. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín, Colombia.

Hoogstraal, H. 1985. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. Advances in Parasitology, 24:135-238.

INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2013. Climas de Veracruz. <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/ver/territorio/clima.aspx?tema=me&e=30>

Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2013. Enciclopedia de los Municipios. México. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM30veracruz/index.html>

Klafke, M.G, Sabatini, A.G., Martins, R.J., Kemp, H.D., Miller, J.R., Schumaker, S.T. 2006. Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 142: 386- 390.

Laffont, C.M., 2002. Factors Affecting the Disposition of Ivermectin in the Target Species. *Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht. The Netherlands*. pp. 1-30.

Lifschitz, A., Virkel, G., Imperiale, P., Galtier, C., Lanusse, C., Alvinerie, M. 1999. Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition kinetics. *The Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22: 266-273.

Õmura, S., Crump, A. 2004. The life and times of ivermectin a success story. *Nature Reviews*, 2:984-989.

Pereira, J.R. 2009. The efficiency of avermectins (abamectin, doramectin and ivermectin) in the control of *Boophilus microplus* in artificially infested bovines kept in field conditions. *Veterinary parasitology*. 162:116-119.

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

Peter, R., Van den Bossche, P., Penzhorn, B.L., Sharp, B. 2005. Tick fly and mosquito control lessons from the past, solutions for the future. *Veterinary Parasitology*, 32: 205-215.

Quiroz, R. H. 2007. "Las lactonas macrocíclicas en bovinos". In: *Symposium Internacional: Garrapatas, Babesiosis y Anaplasmosis*. Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A.C. y Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas. México. pp. 170- 185.

Rodríguez-Vivas, R.I. y Cob, G.L.A. 2005. *Técnicas diagnósticas en Parasitología Veterinaria*. 2da. ed. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. pp. 125-139.

Rodríguez-Vivas, R.I., Díaz, M.O.C., Villegas, P.S.L., Ramírez, C.G.T., Hodgkinson, J.E., Trees, A.J. 2006. Frecuencia de genotipos en cepas de garrapatas *Boophilus microplus* identificadas fenotípicamente como resistentes y susceptibles a la cipermetrina. *Memoria del VII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria*. 28 al 30 de septiembre de 2006. Acapulco, Guerrero. pp. 85.

Rodríguez-Vivas, R.I., Arieta-Román, R.J., Pérez-Cogollo, LC., Rosado-Aguilar, J.A., Ramírez-Cruz, G.T., Basto-Estrella, G. 2010. Use of macrocyclic lactones to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 42:115-123.

Rodríguez-Vivas, R.I, Torres, A.J.F, Ramírez, C.G, Rosado, A.J.A., Aguilar, C.A.J., Ojeda, C.M., Bolio, G.M.E. 2011. Programa de control de parásitos

internos y externos. Manual Técnico Control de Parásitos internos y externos que afectan al ganado bovino en Yucatán, México. Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A.C. y Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. pp. 42-45.

Rodríguez, A.U.J. 2012. Evaluación de la eficacia de *Metarhizium anisopliae* para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en infestaciones naturales en bovinos de Yucatán, México. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. pp. 33-37.

Rodríguez-Vivas, R.I, Hodgkinsonb, J.E., Treesb, J.A. 2012. Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: situación actual y mecanismos de resistencia. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 3: 9-24.

Rosado, J., Rodríguez, R., García, Z., Fragoso, H., Ortiz, A., Rosario, R. 2008. Development of amitraz resistance in field populations of *Boophilus microplus* (*Acarí: Ixodidae*) undergoing typical amitraz exposure in the Mexican tropics. Veterinary Parasitology, 152: 349- 353.

SAGDRPA, 2012. Acuerdo por el que se establece la Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus spp.* Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Diario Oficial de la Federación del 10 de septiembre de 2012. México, D.F. pp. 3.

Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. Veterinary Parasitology, 98: 89-109.

Soberanes, C.N., Rosario, C.R., Santamaría, V.M., García, V.Z. 2005. Variabilidad en la actividad general de esterases de la garrapata *Boophilus microplus* y su relación con la resistencia a organofosforados. Técnica Pecuaria en México. 43 (2): 239-246.

Soulsby, E.J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Ed. Interamericana. México, D.F. pp. 453-455.

Sumano, L.H, Ocampo, C.L. 2006. Farmacología Veterinaria. 3ra ed., MacGraw-Hill Interamericana., México. pp. 481-482.

Thrusfield, M. 2005. Epidemiología Veterinaria. Edit. Acribia. Zaragoza, España. pp.177-190.

10. ANEXO.

Encuesta para determinar los posibles factores asociados a la presentación de UPB con garrapatas no susceptibles a ivermectinas

Fecha: _____

Clave: _____

I. Datos generales

Municipio _____ Nombre del rancho _____

Propietario _____

II. Uso y manejo de ivermectinas

Para el control de garrapatas: ¿usa ivermectinas? Si _____ No _____

Para el uso de ivermectinas, ¿cuenta con asesoría? Si _____ No _____

¿Qué marca comercial de ivermectina utiliza? _____

¿Cuánto tiempo lleva usando este producto? _____

¿Qué dosis utiliza? _____

Frecuencia del tratamiento _____

¿Cuál es el criterio que utiliza para aplicarlo?

a) Rutina

b) Presencia de garrapatas

Durante los dos últimos años, ¿ha realizado rotación de ixodicidas?

a) Si _____

b) No _____

¿Con qué productos ha realizado la rotación? _____

¿Cuál fue la decisión para cambiar de producto? _____