

EVALUACIÓN DE UNA MEZCLA DE CIPERMETRINA + CLORPIRIFÓS SOBRE LA GARRAPATA *Rhipicephalus(Boophilus) microplus* en PRUEBAS DE CAMPO Y DE LABORATORIO EN EL PREDIO ESTEBAN JARAMILLO ROMÁN GÓMEZ DEL POLITÉCNICO COLOMBIANO DE MARINILLA, ANTIOQUIA.

EFFECT OF CIPERMETRINA + CLORPIRIFÓS AGAINST *Rhipicephalus(Boophilus) microplus* ON CATTLE AND INVITRO TESTING IN THE FARM ESTEBAN JARAMILLO ROMÁN GÓMEZ DEL POLITÉCNICO COLOMBIANO IN MARINILLA, ANTIOQUIA.

Gustavo López Valencia¹, Cristiano Grisi do Nascimento², Jorge Gómez Oquendo³, Luis Alfonso Valencia Agudelo⁴; Diego González Carrasquilla⁴

Recibido el 29 de abril de 2009 y aceptado el 20 de noviembre de 2009

Resumen

Se realizó un estudio para determinar el efecto de una mezcla de Cipermetrina 15%+ Clorpirifós25%+ Citronela 1% para el control de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sobre bovinos en el predio Román Gómez Municipio Marinilla, Departamento de Antioquia y pruebas *in vitro* para determinar el efecto sobre oviposición y porcentaje de eclosión larvaria. Para el estudio se utilizaron 19 vacas Holstein divididas en dos grupos tratado (10 animales) y control (9 animales). Antes del tratamiento se estimó la población de garrapatas por recuento individual, considerando garrapatas entre 4 y 8 mm. Los grupos se dividieron de tal manera que hubiera uniformidad en el número de garrapatas en los dos grupos. El producto se utilizó en una dilución de 1:800 y el grupo tratado recibió el producto por aspersión con bomba de espalda con una presión aproximada de 40Lbs. por pulgada cuadrada y se utilizó 1 litro por cada 100 kg de pesos corporal. El grupo control no recibió tratamiento acaricida. Los recuentos de garrapatas se hicieron individualmente los días 0, 7, 14 y 21. Los mismos días del tratamiento se colectaron garrapatas de los dos grupos para determinar en el laboratorio el efecto del producto sobre mortalidad de adultos, oviposición y porcentaje de eclosión. Los resultados obtenidos en la aplicación por aspersión indican una efectividad sobre garrapatas del ganado *R(Boophilus) microplus* del 99,12 % a los 7 días de aplicado el producto, a los 14 días la efectividad fue del 90,19% y finalmente a los 21 de aplicado el producto la efectividad fue del 96,72%. La efectividad del producto sobre la oviposición y fertilidad de los huevos fue del 100% situación que permite concluir que el producto es muy promisorio en Colombia donde existe resistencia a la mayoría de los productos.

Palabras clave

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Cipermetrina, Clorpirifós, Control químico.

Abstract

A study was performed to determine the effect of a mixture of 15% Cypermethrin +Clorpirifós25% + 1% citronella for the control of the common cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on cattle, and invitro testing to determine the effect on oviposition and larval hatching rate in the farm Román Gómez located in the town of Marinilla, in the department of Antioquia. For the study 19 Holstein cows were divided into two groups: treated (10 animals) and control (9 animals). Before treatment the population was estimated by counting individual tick, tick recital from 4 to 8 mm. The groups were divided so that there was consistency in the number of ticks in the two groups. The product was used at a dilution of 1:800 and the treated group received the product by spray pump with a

¹Médico Veterinario, MSc. Instituto Colombiano de Medicina Tropical. E mail: glopez@ces.edu.co;

²Médico Veterinario. Laboratorios Ourofino Animal Health Gerente de Marketing / Marketing Manager.;

³Médico Veterinario Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.;

⁴Tecnólogo Agropecuario, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.; Médico Veterinario Laboratorios Ourofino.

back pressure of about 40lbs. per square inch and uses 1 liters per 100 k of body weight. The control group received no treatment acaricide. The tick count was made individually on days 0, 7, 14 and 21. The same days of treatment, ticks were collected from the two groups and were taken to the laboratory to determine the effect of the product on adult mortality, oviposition and hatching rate. The results obtained in the application by spraying indicate an effective result on ticks of livestock *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of 99.12% at 7 days of the product applied, at the 14 day the effectiveness was 90.19% and finally to the 21st day of the application of the product the effectiveness was 96, 72%. However, the effectiveness of the product on oviposition and fertility of eggs was a 100% which suggests that the product is very promising in Colombia where there is resistance to almost all the products in the market.

Key words

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Cipermetrina, Clorpirifós, chemical control.

Introducción

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* está considerada como uno de los más importantes ectoparásitos del ganado bovino en los países tropicales, debido a los daños directos que ocasiona y a los agentes infecciosos que transmite y que causan enfermedades como *anaplasmosis* y *babesiosis* ^(9, 14).

Las garrapatas se encuentran distribuidas en diferentes zonas en todo el mundo pero es principalmente en Centro y Sur América y el occidente de África donde generan las más grandes pérdidas económicas, las cuales en años anteriores fueron calculadas entre US\$ 13.9 y 18.7 billones debido a que causan disminución en la producción de leche y carne, mortalidad del ganado; además del costo derivado de su control ^(6, 18).

El control de las garrapatas se realiza comúnmente mediante sustancias acaricidas, aplicadas por los sistemas de inmersión, aspersion, aplicación dorsal (pour on) o por inyección parenteral, pero debido al desarrollo de resistencia a la mayoría de los productos, a la demanda de alimentos libres de residuos químicos y por el cuidado del ambiente, se sugiere investigar sistemas alternativos de control entre los que se pueden contar: uso de mezclas de acaricidas, el empleo de nemátodos ⁽¹⁶⁾, vacunas ⁽¹⁷⁾; bacterias ⁽¹⁵⁾ y hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* ^(1, 3, 5, 9, 14, 18).

Teniendo en cuenta que los parasiticidas químicos son un recurso no renovable y su uso continuará siendo el método más importante de control de artrópodos ^(2, 19, 27) se constituye en una herramienta que debe ser utilizada prudentemente para alcanzar el mayor beneficio posible con mayor durabilidad de la efectividad. ⁽¹²⁾.

Los programas de control de garrapatas y de las enfermedades que transmiten, deben ser adaptados en cada país, de acuerdo con sus circunstancias particulares y objetivos nacionales y se deben tener en cuenta algunos principios básicos que por lo general pueden aplicarse a cualquier esfuerzo bien definido y coordinado ⁽⁷⁾.

Estudios realizados por López y col., (1986, 1989), concluyen que en Colombia existe una gran variedad de ixodíidas y sistemas de aplicación; sin embargo, no existen criterios claros para el uso de los productos en cuanto a: concentraciones adecuadas, conocimiento sobre especies y su bioecología, intervalo entre baños y rotación de compuestos ^(20, 21, 22).

El mal manejo del problema se ha reflejado en el alto costo de los tratamientos, presencia de resistencia del parásito a la mayoría de los químicos utilizados, aumento de poblaciones de garrapatas, ineficacia de los programas de control y aparición de nuevas especies en lugares donde antes no habían sido reportadas ⁽²²⁾.

Los trabajos realizados con cepas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de varias partes de Colombia han mostrado grados diversos de resistencia a compuestos piretroides (Deltametrina, Cipermetrina; Flumetrina; Alfacipermetrina; y Lambdacialotrina); al Metilcarbamato y a uno o varios de los compuestos organoclorados y fosforados ^(4, 5).

La situación descrita no solo ha planteado la necesidad de ampliar el conocimiento sobre el espectro de los compuestos químicos a los cuales las garrapatas va desarrollando resistencia, sino sobre las cepas del parásito

afectadas por el fenómeno en diferentes regiones. Así mismo se requiere, la evaluación de nuevas estrategias de control de garrapatas y el examen de compuestos no químicos de manera que puedan ser recomendadas como alternativas de solución al problema ⁽⁵⁾.

Ante la ineficacia de la mayoría de los compuestos químicos para el control de garrapatas, varios países mencionan el uso de mezclas de principios activos para buscar sinergismo entre ellos y eliminar las cepas resistentes (Martins et al; 2008).

El empleo de mezclas de diferentes compuestos, ha sido mencionado en la literatura como una posibilidad de manejar el fenómeno de quimioresistencia de los artrópodos desde 1979, se refiere a esta estrategia dentro de lo llamado manejo por ataque múltiple ^(5, 8, 13, 26).

El único estudio reportado en Colombia fue realizado por Betancourt y col. 1999 ⁽⁵⁾. En el estudio se utilizaron cuatro cepas procedentes de igual número de fincas de diferentes regiones, Se utilizaron las mezclas: Diazinón + Cyalotrina; Ethión + Cyalotrina; Ethión + Deltametrina; Amitraz + Cyalotrina y Amitraz + Deltametrina, con más del 97% de efectividad en todas las pruebas.

El uso de mezclas de productos químicos se presenta como la más seria alternativa para el control de cepas de garrapatas resistentes en todos los países que enfrentan el problema ⁽²⁶⁾. Por tal motivo, el objeto del estudio fue determinar el efecto de una mezcla de Cipermetrina + Clorpirifós para el control de la garrapata *Rhipicephalus(Boophilus) microplus* en condiciones de campo y de laboratorio.

Materiales y métodos

LOCALIZACIÓN:

El trabajo se llevó a cabo en la Granja Román Gómez de propiedad del Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, localizada en el Municipio de Marinilla; departamento de Antioquia: La Granja se encuentra a una altura sobre el nivel del mar de 2.050 metros y registra una temperatura media de 20 °C y una humedad relativa entre 60 y 70%.

Animales experimentales:

Se utilizaron 19 vacas Holstein, con infestación natural de garrapatas. Los animales no habían

recibido tratamientos acaricidas en los últimos 90 días, esperando alta infestación y se dividieron en dos grupos tratado (10 animales) y control con 9 animales. Al iniciar la investigación los recuentos de garrapatas oscilaron entre 16 y 235 por animal.

Procedimiento:

Antes del tratamiento los grupos se formaron alternativamente buscando uniformidad en el número de garrapatas por animal. El recuento de garrapatas se hizo en todo el animal y considerando sólo hembra adultas con medición entre 4 y 8 milímetros de longitud de acuerdo con la técnica descrita por Roulston y col, 1969 para el estudio de garrapatas.

Para el estudio se utilizó una mezcla de cipermetrina + clorpirifós de acuerdo con la siguiente composición:

Cada 100 ml contiene:

Cipermetrina.....15.0 g

Clorpirifos.....25.0 g

Citronela.....1.0g

Vehículo...c.b.p.....1000 ml

El grupo tratado recibió el tratamiento con la mezcla del producto en dilución 1:800 y aplicado con bomba de aspersión con una presión de 40 lb por pulgada cuadrada y con una de cantidad de 1L de la dilución por cada 100 k de peso corporal. El grupo control no recibió tratamiento y sólo se hicieron los recuentos de garrapatas.

Los recuentos de garrapatas se hicieron el día 0 y a los 7, 14 y 21 días post tratamiento y se consideraron solamente las que tenían entre 4 y 8 milímetros de longitud, de acuerdo con la técnica descrita por Roulston y Col (1968) para este tipo de estudio.

Aanálisis estadístico:

Para el análisis de los resultados se utilizó la fórmula de Roulston y col (1968) la cual permite determinar el porcentaje de eficacia de un producto sobre garrapatas, de acuerdo al siguiente esquema:

% de supervivencia = [(a x d) (b x c)] x 100; en donde:

a = número de garrapatas del control antes del tratamiento

b = número de garrapatas del control después del tratamiento

c = número de garrapatas del grupo tratado antes de la aplicación

d = número de garrapatas del grupo tratado después de la aplicación.

Eficacia (%) = 100- % de supervivencia

PRUEBA *IN-VITRO*

Determinación del Índice de la Eficiencia Reproductiva: IER

Para determinar el índice de la eficiencia reproductiva se recolectaron 10 garrapatas completamente ingurgitadas de sangre de los grupos tratado y control y luego de estimar el peso se sometieron a incubación en condiciones temperatura del laboratorio durante treinta días para determinar el número de huevos ovipositados en cada grupo y luego estimar el porcentaje de eclosión larvaria y determinar así la eficiencia reproductiva, de acuerdo con la fórmula descrita por Drummond y col (1970), en donde:.

$$\text{IER} = \frac{\text{peso de los huevos}}{20.000} \times \% \text{ eclosión} \times \text{peso de las teleoginas}$$

Los huevos de cada lote se colocaron en tubos de ensayo con tapón de gasa y se llevaron nuevamente a incubación durante 30 días para determinar el porcentaje de eclosión.

Calculado el Índice reproductivo del grupo tratado y control se calculó la Eficiencia reproductiva en la siguiente forma:

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

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Aspectos éticos. Los procedimientos realizados para los tratamientos en el ganado bovino se rigió de acuerdo a la Ley 84 de 1989, capítulo VI, artículos 23 (literales a, b, c) y 24 del estatuto nacional de protección de los animales y que regula el uso de animales vivos en experimentos e investigación.

Así mismo para el cuidado, manejo y mantenimiento de animales se tuvieron en cuenta los protocolos y recomendaciones del IACUC (Institucional Animal Care and Use Committe) de la Universidad de Minnesota, en AVMA (American Veterinary Medical Association), para la eutanasia y las recomendaciones sobre las buenas prácticas en la administración de sustancias y sangría de animales expuestas en el artículo EFPIA(the European Federation of Pharmaceutical Industries Associations /ECVAM (the European Center for the Validation of Alternative Methods) (Anexo Concepto del Comité de ética).

En esta investigación no se trabajó con muestras biológicas humanas por lo tanto no se determinaron las categorías de riesgo en humanos y se rigió de acuerdo a la resolución No. 008430 de 1993 emanada del Ministerio de Salud de la República de Colombia Título IV, en su Capítulo I, sobre La Bioseguridad de las Investigación y el manejo de material biológico que pueda contener microorganismos patógenos en los Artículos 63, 65, 66, 67 (literal c) y 69.

La investigación debe cumplir con los aspectos éticos que figuran en la resolución 008430 de 1993 emanada del Ministerio de Salud en la cual en el Título II Capítulo 1, se establecen las normas éticas para la investigación en animales.

Una vez finalizado el experimento, los animales del grupo control recibieron tratamiento con el producto experimental y se hicieron observaciones durante tres semanas para diagnosticar la presencia de hemoparásitos, pero no se presentaron casos clínicos de enfermedad infecciosa

Resultados

En las tablas 1 y 2, se presentan los recuentos de garrapatas en el grupo tratado y control durante los 21 días experimentales.

El total de garrapatas para el grupo tratado en el día 0 fue de 780 para un promedio por animal de 78; El total para el día 7 fue de 3 garrapatas para un promedio por animal de 0,3; en el día 14 se contabilizaron en total de 55 garrapatas para un promedio de 5,5 y el día 21 el total de garrapatas para el grupo fue de 18 para un promedio por animal de 1,8 (ver tabla 1).

Tabla 1. Recuento de garrapatas estándar en el grupo tratado.

GRUPO TRATADO	DIA 0	DIA 7	Día 14	DIA 21
Identificación	Número de garrapatas	Número de garrapatas	Número de garrapatas	Número de garrapatas
255	151	0	6	1
18	169	1	10	3
236	114	2	9	1
240	107	0	14	6
254	41	0	1	2
45	75	0	6	2
253	55	0	3	0
262	33	0	3	1
259	14	0	2	0
234	21	0	1	2

Tabla 2. Recuento de garrapatas estándar en el grupo control.

GRUPO CONTROL	DIA 0	DIA 7	Día 14	DÍA 21
Identificación	Número de garrapatas	Número de garrapatas	Número de garrapatas	Número de garrapatas
17	175	64	130	130
34	117	38	62	68
237	113	34	52	80
16	95	39	45	46
43	70	35	68	70
251	65	21	62	30
42	90	95	75	68
265	20	4	43	32
252	41	15	28	30

En el grupo control el total de garrapata contabilizadas el día 0 fue de 786, para un promedio por animal de 87,3; para el día 7 el total fue de 345 para un promedio por animal de 38,3; el total de garrapatas para el grupo en el día 14 fue de 565 para un promedio por animal de 63 y el total de garrapatas el día 21 fue de 554 para un promedio por animal de 62 garrapatas (ver tabla 2).

Determinación del porcentaje de Eficacia

Aplicación de la fórmula de Roulston

$$\% \text{ supervivencia} = \frac{a \times d}{b \times c} \times 100 =$$

$$\frac{786 \times 3}{345 \times 780} = \frac{2358}{269100} \times 100 = 0,876$$

$$\text{Efectividad del producto para el día 7} = 100 - 0,876 = \mathbf{99,12\%}$$

% supervivencia día 14

$$\frac{786 \times 55}{565 \times 780} = \frac{43230}{440700} = 9,809$$

Efectividad del producto para el día 14

$$100 - 9,809 = \mathbf{90,19\%}$$

% supervivencia día 21

$$\frac{786 \times 18}{554 \times 780} = 3,274$$

Efectividad del producto día 21

$$100 - 3,274 = \mathbf{96,726\%}$$

Determinación de la Eficiencia Reproductiva

$$\text{ER tratado} = \frac{\text{peso huevos} \times \% \text{ eclosión} \times 20.000}{\text{Peso teleoginas}} = \frac{0,30 \times 0 \times 20.000}{5,4} = 0$$

$$\text{ER control} = \frac{2,010 \times 90 \times 20.000}{5,0} = 723600$$

Prueba in vitro

Efectividad del producto sobre la reproducción de las garrapatas

$$\frac{\text{ER control} - \text{ER tratado}}{\text{ER control}} \times 100 = \frac{723600}{723600} = \mathbf{100\%}$$

Discusión

Los resultados demuestran que en las condiciones del trabajo la mezcla de cipermetrina + Clorpirifós tuvo una efectividad sobre garrapatas del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* del 99,12 % a los 7 días de aplicado el producto, a los 14 días la efectividad fue del 90,19% y finalmente a los 21 de aplicado el producto la efectividad fue del 96,72%.

En los estudios *in vitro*, la efectividad del producto sobre la oviposición y fertilidad de los huevos fue del 100% situación que permite concluir que el producto es muy promisorio en Colombia donde existe resistencia a la mayoría de los productos.

El hecho de la reducción gradual de garrapatas en el grupo control puede obedecer al ciclo biológico de las garrapatas que no alcanzaron a reinfestar los animales en el período experimental y además por cuanto después del Tratamiento los dos grupos estuvieron pastando en el mismo potrero por las condiciones experimentales y pudo existir contacto entre animales tratados y controles.

Los resultados obtenidos al aplicar la mezcla de Cipermetrina + Clorpirifós sobre bovinos naturalmente infestados con garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* permitieron observar una disminución en el número de garrapatas de más del 99% a los 7 días de haber aplicado el producto. Resultados similares de efectividad fueron reportados por Betancourt et al (1999) y por da Costa et al (2001) cuando aplicaron formulaciones de mezclas de organofosforados y piretroides y de Cipermetrina y Clorpirifós respectivamente en cepas de garrapatas resistentes a cada producto individualmente.

Con respecto al efecto de la mezcla Cipermetrina + Clorpirifós sobre la reproducción de las garrapatas, en el presente estudio se observó una efectividad del 100%, es decir, la mezcla inhibe la oviposición y en caso de no ser completa la inhibición se presenta infertilidad de los pocos huevos ovipositados. Resultados similares fueron obtenidos por Betancourt, 1999 cuando utilizó diferentes mezclas de organofosforados como etión y Piretroides.

Conclusiones

Los resultados obtenidos con la mezcla de Cipermetrina + Clorpirifós demostraron que se redujo la población de garrapatas en más del 99% después de 7 días de tratamiento de bovinos por aspersión y las pruebas

in vitro lograron una eficacia del 100%, situación que permite concluir que en países donde se ha demostrado resistencia de *R(Boophilus) microplus* a la mayoría de los compuestos químicos, las mezclas de piretroides y organofosforados pueden ser la alternativa para un control efectivo y por tanto es recomendable sugerir la realización de otros experimentos en diferentes regiones

del país antes de recomendar las mezclas de productos para el control de garrapatas

El hecho de la reducción gradual de garrapatas en el grupo control puede obedecer al ciclo biológico de las garrapatas que no alcanzaron a reinfestar los animales en el período experimental.

1. BARCELOS A, FIORIN AC, MONTEIRO AC, VERISSIMO CJ 1998. Effects of *Metarhizium anisopliae* on the tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in stabled cattle J. Invertebr. Pathol. 71: 189-191
2. BENAVIDES, E.; ROMERO, A.; RODRÍGUEZ, J.L. 2000. Situación actual de resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a acaricidas en Colombia. Recomendaciones de Manejo Integrado. *Carta Fedegán*. 61:14-23.
3. BENJAMÍN M.A, ZHIOUA E, OSTFELD RS 2002. Laboratory and field evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) for controlling questing adult *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae). J. Med. Entomol. 39: 723-728.
4. BETANCOURT, E. 1993. Susceptibilidad de varias cepas de la garrapata *Boophilus microplus* a diferentes acaricidas. *Revista El Cebú*. 22: 53-55.
5. BETANCOURT, J. A.; CASSALETT, E.; ESCOBAR, A.; URIBE, L. 1999. Experiencias con mezclas de compuestos acaricidas: susceptibilidad y alternativas de control de las garrapatas. *Agricultura de las Américas*. Primera entrega. 272: 31 – 34.
6. BITTENCOURT VREP, Souza EJ, Peralva SLFS, Mascarenias AG, Alves SB 1997. Avaliação da eficácia *in vitro* de dois isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol.* 6: 49-52
7. BRAM, R. 1975. Los principios que gobiernan los programas nacionales de control de garrapatas. En : Seminario sobre Ectoparásitos. CIAT - Cali, agosto 25-30.
8. CONWAY, G.R. & COMINS, H.N. (1979). Resistance to pesticides. 2. Lessons in strategy from mathematical models. *Span* 22(2), 53-55.
9. Da COSTA GL, SARQUIS MIM, DE MORAES AML, BITTENCOURT VREP 2001. Isolation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* from *Boophilus microplus* tick (Canestrini, 1887), in Rio de Janeiro State, Brazil. *Mycopathologia* 154: 207-209.
10. DA COSTA, A.J2001. Relatório Técnico. Cipermetrina+ Clorpirifós+ Citronela en aspersión contra *Boophilus microplus*. Documento mimeografiado
11. DRUMMOND, R. O., GLADNEY, W. J., WHESTSTONE, T.M AND ERNEST, S.E. 1970 Laboratory testing of insecticides for control of the winter ticks. *J. Econ. Entom.* 64: 30: 686 – 688.
12. FAO.,s.f.FAO. Acaricide resistance test kit. Instruction for use. 10p.
13. GEORGHIOU, G.P. 1980. Implications of the development of resistance to pesticides: basic principles and consideration of countermeasures IN: Pest and pesticide management in the Caribbean. Vol II (invited papers). P: 116- 129.
14. GUEDES AP, DA SILVA I, MASUDA A, SCHRANK A, HENNING M 2000. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.* 94: 117-125.

15. HASSANAIN MA, EL GARBY MF, ABDEL-GHAFFAR FA, EL-SHARABY A, ABDEL MEGEED KN 1997. Biological control studies of soft and hard Ticks in Egypt. I The effect of *Bacillus thuringiensis* varieteis of soft and hard tick (Ixodidae). Parasitol. Res. 83: 209-213. Hill ED 1998. Entomopathogenic nematodes as control agents of developmental stages of the black legged tick, *Ixodes scapularis*. J. Parasitol. 84: 1124 – 1127.
16. HILL, ED. 1998. Entomopathogenic nematodes as control agents of developmental stages of the black legged tick, *Ixodes scapularis*. J. Parasitol. 84:1124- 1127.
17. JONSSON NN, MATSCHOSS AL, PEPPER P, GREEN PE, ALBRECHT MS, HUNGERFORD J, ANSELL J 2000. Evaluation of TickGARD^{PLUS}, a novel vaccine against *Boophilus microplus*, in lactating Holstein-Friesian cows. Vet. Parasitol. 88: 275-285.
18. KAAYA GP, ASAN S 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. Exp. Appl. Acarol. 24: 913-926.
19. KUNZ, S.E.; KEMP, D.H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. Office international des épizooties. Revue Scientifique et technique. 13: 1249- 1286
20. LOPEZ V.G., JIMÉNEZ C., C. & Vásquez R. W. Distribución de garrapatas en 46 municipios de Antioquia y efectividad de los ixodídeos comerciales sobre *Boophilus microplus*. Documento interno de trabajo. Secretaría de Agricultura de Antioquia, Instituto Colombiano Agropecuario 1986 U3P.
21. LOPEZ V. G, Jiménez C. C., Vásquez R., W y Peláez J., P Distribución de garrapatas en 61 municipios de Antioquia y efectividad de los ixodídeos comerciales sobre *Boophilus microplus*, resultados fase III. Documento interno de trabajo. Secretaría de Agricultura de Antioquia - Instituto Colombiano Agropecuario 1989 U3P.
22. LÓPEZ, V. G. 1992. Sistemas de control de garrapatas. En : Primer foro nacional sobre la situación de las garrapatas y moscas en la ganadería. Conferencias. Santa fe de Bogotá, julio. p. 32.
23. MARTINS, J. R.; FURLONG, J.; PRATA, M.C.A; DOYLE, R. L. 2008. Acaricide resistance in Brazil and the use of mixtures as chemical alternative for tick control. VI Seminario Internacional de Parasitología Animal 2008 Boca del Rio, Veracruz. 3-5 de septiembre. 5 p.
24. PARRODI, F. 2008. Estado actual de la resistencia de garrapatas en México. En I Conferencia Internacional sobre resistencia parasitaria y alternativas de control. Bogotá, Colombia, noviembre 4
25. ROULSTON, W. J. ; Stone, B.F. ; Wilson, J.T. & White, L.I. 1.968. Chemical control of organophosphorus and carbamate resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) from Queensland. Bull. Ent. Res. 58: 379-392.
26. SUTHERST, R.W.; COMINS, H.N. 1997. The management of acaricide resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) in Australia. Bulletin of Entomological Research. 69: 519-540.
27. VIAL, H.J.; TRAORE, M.; FAILAMB & RIDLEY, R.G. 1999. Renewed strategies for drug development against parasitic diseases. *Parasitology today* 15: 393- 394.