



PRIMER DIAGNOSTICO DE RESISTENCIA DE *HAEMATOBIA IRRITANS* (DIPTERA: MUSCIDAE) EN URUGUAY. DETERMINACION DE SUSCEPTIBILIDAD A CYPERMETRINA Y DIAZINON.

Marques, L.⁽¹⁾; Moon, R.⁽²⁾; Cardozo, H.⁽¹⁾; Cuore, U.⁽¹⁾; Trelles, A.¹ y Bordaberry S.⁽³⁾.

RESÚMEN

En abril de 1997 se realizó un test diagnóstico *in vitro* de resistencia con poblaciones de campo de *Haematobia irritans* en seis establecimientos de Uruguay. Se chequearon un piretroide (cypermctrina) y un organofosforado (diazinón) determinándose DL 50 y factor de resistencia, comparándolos con la cepa de referencia del Laboratorio de Kerrville (Texas, U.S.A.). Los valores hallados demostraron una alta resistencia a la cypermctrina no así al diazinón frente al cual las moscas mostraron un comportamiento similar al de la cepa patrón.

INTRODUCCIÓN

A fines del año 1991, se constata la presencia de la «mosca de los cuernos», *Haematobia irritans*, en el Uruguay (3). A partir de ese momento, el país se enfrenta a una nueva parasitosis que afecta fundamentalmente al ganado bovino.

En abril de 1992, a través de «Partness of the Americas», se solicita el asesoramiento de dos consultores extranjeros especialmente vinculados al tema: el Dr. Gonzalo E. Moya Borja de la Universidad Federal Rural de Río de Janeiro (Brasil) y el Dr. Roger Moon de la Universidad de Minnesota (EEUU). Dichos asesores enfocan el problema a nivel regional visitando Argentina, Brasil y Paraguay. En Uruguay realizan una recorrida por el interior del país, acompañados por personal de la División Parasitología de la DI. LA. VE. «Miguel C. Rubino» y de Sanidad Animal del M.G.A.P.

Una vez finalizada la visita, se realiza en Montevideo un seminario-taller sobre «La mosca de los cuernos y su combate» que cuenta con la presencia de técnicos y autoridades sanitarias de los países nombrados. En dicha oportunidad, los Drs. Borja y Moon evalúan la situación y presentan sugerencias sobre el manejo del problema.

Siguiendo estas sugerencias y previendo la aparición de problemas de resistencia, la División de Parasitología de la DI. LA. VE., envía a la Lic. Laura Marques a realizar un entrenamiento en el USDA-ARS Knippling-Bushland U.S. Livestock Laboratory de Kerrville, Texas (EEUU). El principal objetivo de dicho entrenamiento consiste en adquirir conocimientos sobre la realización de pruebas de monitoreo de resistencia a los acaricidas en poblaciones de campo de dicha mosca y poder así mantener una vigilancia

epidemiológica de este problema en el país.

A cinco años de la aparición de *H. irritans* en el Uruguay y ante reiteradas sospechas de disminución de sensibilidad de la mosca a los insecticidas usados a nivel de campo, se presenta la oportunidad de una segunda visita del Dr. R. Moon al país. La División de Parasitología de la DI. LA. VE. junto con el Dr. Moon coordinan y planifican un trabajo para determinar susceptibilidad de poblaciones de campo de *H. irritans* a dos productos: un piretroide, la cypermctrina y un organofosforado, el diazinón.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Entre el 3 y el 11 de abril de 1997 se realiza el trabajo de campo con poblaciones de *H. irritans* de seis establecimientos (32°-34°S): dos de ellos tradicionalmente libres de

⁽¹⁾ Dirección de Laboratorios Veterinarios (DI. LA. VE.) «Miguel C. Rubino» Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Ruta 8, Km. 17.500. Montevideo, Uruguay.

⁽²⁾ Department of Entomology, University of Minnesota, St. Paul, U.S.A.

⁽³⁾ Técnico contratado por el Plan Agropecuario. Montevideo, Uruguay.

garrapata, **Boophilus microplus** (Departamento de Florida) y cuatro con presencia de garrapata, en los cuales se utiliza regularmente acaricidas para su combate (tres del Departamento de Cerro Largo y uno de Treinta y Tres).

Se eligen dos principios activos de diferente modo de acción, la cypermetrina por ser el insecticida más usado dentro de los piretroides y el diazinón como fosforado por existir abundante información internacional.(2,6,10,12). Ambos productos se utilizan en grado técnico con un nivel de pureza de 91.8 % en la cypermetrina y de 94.5 % para el diazinón.

Para determinar susceptibilidad de las moscas frente a los insecticidas seleccionados, se aplica la técnica descrita por Sheppard y Hinkle (11) que consiste en exponer un número determinado de moscas a papeles de filtro impregnados con distintas concentraciones del producto diluido en acetona. Se utilizan tres repeticiones por cada concentración incluyendo papeles de filtro sólo con acetona como control. A partir de una solución stock con alta concentración del insecticida, se prepara con el agregado de volúmenes iguales de acetona como solvente, una secuencia seriada de soluciones menores hasta llegar al control. Cada solución se identifica por la cantidad de mg. de producto liberado por cada cm² de papel de filtro al utilizar 1 ml. de solución en papeles de filtro circulares de 9 cm. de diámetro. Dichos papeles se colocan en cajas plásticas de Petri perforadas en su base (orificio de 8 mm.).

En la determinación del rango de dosis a utilizar, se consideran los valores de DL50 de poblaciones de campo de moscas altamente resistentes de E.E.U.U. (referencia de valor máximo) y de la colonia susceptible de **H. irritans** del laboratorio Knippling-Bushland de Kerrville (como valor mínimo).(1,2,5,6,8,10,12). A pesar de estas consideraciones, las concentraciones de cypermetrina utilizadas al inicio del trabajo, en los dos establecimientos de Florida, no resultan suficientes para determinar DL50 de las poblaciones de moscas colectadas

por lo que es necesario incrementar considerablemente la cantidad de producto para los siguientes establecimientos. Es así que mientras en Florida se utiliza un rango de diluciones entre 0.0751-20 mg./cm², en Cerro Largo y Treinta y Tres el utilizado es de 0.625-160 mg/cm². En el caso del diazinón se aplica el mismo rango en los seis establecimientos: de 0.0751-20 mg/cm².

Las moscas colectadas del ganado con red entomológica de malla fina son transferidas a una jaula cilíndrica de plástico transparente de capacidad aproximada de un litro, cerrada en la parte superior por una malla fina y en la inferior por una «manga» del mismo material. Cuando el número de moscas es suficiente para un test, éstas son aspiradas y transferidas con un tubo de goma a las cajas de Petri conteniendo los papeles de filtros impregnados (siempre partiendo del control a la máxima concentración).

La lectura de mortalidad se efectúa 2 y 4 horas después que las moscas toman contacto con los papeles de filtro. El período transcurrido entre la colecta de moscas y la exposición de las mismas al insecticida, no supera los 20 minutos. Se trabaja a temperatura ambiente entre las 10 y 16 horas.

Se utiliza un gradiente de 10 concentraciones y se realizan 3 réplicas lo que significa 30 cajas de Petri por producto y por establecimiento. El número de moscas por caja varía de 10 a 100, aunque se trata de ajustar a 25-30. Una vez finalizada la segunda lectura de mortalidad, se colocan las cajas de Petri en freezer para inmovilizar a aquellas moscas que sobreviven a la acción del producto y así poder determinar el número total de moscas para el cálculo de porcentaje de mortalidad.

Los cálculos de las dosis letales 50 (DL50) y todos los valores de carácter estadístico que se presentan en este trabajo, son realizados por medio del Programa Polo Probit Analysis (9).

Para determinar el factor de resistencia (F.R.) de las poblaciones de campo se toma como referencia la DL50 de la cepa susceptible del

Laboratorio de Kerrville y se aplica la siguiente formula:

RESULTADOS

El número total de moscas procesadas para los 2 productos fue de 11.230 siendo el promedio de moscas por dilución entre 7 y 21.(cuadros N°1 y N°2)

Los valores obtenidos de DL50 del diazinón variaron entre 0.18 mg/cm² y 0.76 mg/cm². (cuadro N°2).

Los resultados obtenidos indican que las moscas de los seis establecimientos fueron susceptibles al diazinón. El 100 % de mortalidad de moscas se observó en dosis superiores a 2.5 mg/cm², y todos las DL50 fueron inferiores a 1 mg/cm², valor correspondiente al de la colonia de Kerrville.(cuadro N°2)

Por el contrario, hubo marcada resistencia a la cypermetrina en todos los establecimientos. El porcentaje de mortalidad rara vez alcanzó el 100%, inclusive en dosis superiores a 20 mg/cm². Los valores de DL50 fluctuaron entre 9.5 y 194.8 mg/cm².(cuadro N°1)

Con el diazinón los F.R. fueron menores a 1 lo que significa que la susceptibilidad de las poblaciones estudiadas en Uruguay fue similar a la de la cepa sensible de E.E.U.U. Mientras que con la cypermetrina los F.R. fueron muy altos entre 47.5 y 974 lo que indica una importante disminución de la susceptibilidad.

Los valores de DL50 presentados corresponden a 95 % de confiabilidad.

DISCUSIÓN

Para la elección de los establecimientos se consideró la necesidad de abarcar poblaciones de moscas que no fueran combatidas al mismo tiempo que el **B. microplus**, establecimientos de Florida (San Luis y Santo Tomás) pensando que la presión de selección sería mayor en los establecimientos de Cerro Largo y Treinta y Tres donde se trata contra la garrapata. La aparición de una gran resistencia a piretroides en las 2 regiones, estaría indicando que

CUADRO N° 1

Susceptibilidad de poblaciones de campo de **H. irritans** a la cypermetrina en seis establecimientos. (Abril 1997)

Origen de la Muestra	Tamaño de la muestra (N° Moscas)	Pendiente	DL 50 mg/cm ²	L. Inferior
				L. Superior
Treinta y Tres (Arrozal Treinta y Tres)	1274	1.671 ± 0.085	9.5	6.981
				12.686
Cerro Largo (El Manantial)	804	1.669 ± 0.103	25.8	18.276
				37.753
Florida (Sto Tomás)	702	0.838 ± 0.087	27	10.465
				227.507
Florida (San Luis)	456	0.918 ± 0.162	72.9	19.2075
				28270
Cerro Largo (Las Baskitas)	1087	1.309 ± 0.155	86.9	63.959
				130.745
Cerro Largo (Barceló)	1140	0.937 ± 0.130	194.8	80.939
				5434

Nota: L. Inferior y L. Superior corresponden a los límites inferior y superior de confianza respectivamente calculados al 95% .

CUADRO N° 2

Susceptibilidad de poblaciones de campo de **H. irritans** al diazinón en seis establecimientos. (Abril 1997)

Origen de la Muestra	Tamaño de la muestra (N° Moscas)	Pendiente	LD 50 mg/cm ²	L. Inferior
				L. Superior
Cerro Largo (Barceló)	1269	3.646 ± 0.410	0.18	0.116
				0.226
Cerro Largo (Las Baskitas)	1192	5.142 ± 0.640	0.24	0.210
				0.574
Treinta y Tres (Arrozal Treinta y Tres)	1313	4.663 ± 0.357	0.27	0.253
				0.293
Cerro Largo (El Manantial)	842	3.545 ± 0.282	0.42	0.329
				0.514
Florida (San Luis)	460	4.750 ± 0.537	0.46	0.363
				0.574
Florida (Sto Tomás)	691	3.341 ± 0.267	0.76	0.427
				1.335

Nota: L. Inferior y L. Superior corresponden a los límites inferior y superior de confianza respectivamente calculados al 95% .

Comparando las DL50 obtenidas con las poblaciones de campo de **H. irritans** de Uruguay con la DL50 de la colonia susceptible del laboratorio de Kerrville de E.E.U.U. se determinaron los factores de resistencia (F.R.) que se presentan en el cuadro N° 3.

CUADRO N° 3

Valores del Factor de Resistencia a la cypermetrina y diazinón en cada establecimiento. (Abril 1997)

CYPERMETRINA

Origen de la Muestra	DL 50 mg/cm ²	Factor de resistencia (FR)
U.S. A. Laboratorios	0.2	1
Treinta y Tres (Arrozal)	9.5	47.5
Cerro Largo (El Manantial)	25.8	129
Florida (Sto Tomás)	27	135
Florida (San Luis)	72.9	364.5
Cerro Largo (Las Baskitas)	86.9	434.5
Cerro Largo (Barceló)	194.8	974

DIAZINON

Origen de la Muestra	DL 50 mg/cm ²	Factor de resistencia (FR)
U.S. A. Laboratorios	1.0	1
Cerro Largo (Barceló)	0.18	0.2
Cerro Largo (Las Baskitas)	0.24	0.2
Treinta y Tres (Arrozal)	0.27	0.3
Cerro Largo (El Manantial)	0.41	0.4
Florida (San Luis)	0.46	0.5
Florida (Sto Tomás)	0.81	0.8

este problema aparece en el país independientemente de la lucha contra el **B. microplus**. La utilización de piretroides en Uruguay para el combate del **B. microplus**, se inicia en el año 1978, (4) época en que este grupo químico comienza a desplazar a los fosforados del mercado en los países de la región. La **H. irritans** ingresa en el norte de Brasil en el año 1978 (7) y se expande rápidamente hacia el sur, llegando a Uruguay en 1991 (3). Durante este período (1978-1991), las poblaciones de moscas fueron presionadas fundamentalmente por los piretroides debido a que los fosforados habían sido desplazados del mercado. La presencia de poblaciones de moscas altamente resistentes a la cypermetrina en el Uruguay, se debe a que las moscas que ingresaron al país, ya habían sido seleccionadas por este principio activo. Mientras que la susceptibilidad al diazinón,

se explicaría por la baja presión ejercida con este producto. Estos resultados son preliminares pero sugieren que la disminución de la susceptibilidad a la cipermetrina utilizada en el combate de poblaciones de campo de **H. irritans** en el Uruguay, es producto del desarrollo de resistencia a este principio activo. Para poder diagnosticar en forma precisa la situación, es necesario repetir este ensayo en otras regiones del país e incluir otros piretroides, fosforados, mezclas así como nuevos principios activos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 1 - La mosca de los cuernos, **H. irritans**, ha desarrollado resistencia a la cipermetrina en Uruguay.
- 2 - El diazinón como organofosforado considerado en este ensayo, demostró un efectivo control sobre las poblaciones de moscas de los 6 establecimientos.
- 3 - No se pudo establecer una correlación entre valores de F.R. y zonas libres o parasitadas con garrapatas. Consideramos importante realizar recomendaciones de carácter general para el combate de esta parasitosis tomando medidas para evitar incrementar el problema de la resistencia ya detectado en piretroides y evitar su aparición en otros principios activos:

- 1 - Realizar diagnóstico de resistencia

en diferentes regiones del país incluyendo otros piretroides, fosforados, mezclas y nuevos principios activos

- 2 - Estudiar la dinámica poblacional de la **H. irritans** en el Uruguay.
- 3 - Realizar investigación a nivel nacional para definir niveles de infestación que provocan pérdidas y determinar las categorías de bovinos más susceptibles.
- 4 - Diseñar una estrategia de tratamientos tendiente a :
 - 4.1 Presionar lo menos posible las poblaciones de moscas para evitar una selección a favor de las resistentes.
 - 4.2 Tratar solamente las categorías de bovinos más susceptibles para evitar disminución en la productividad con pérdidas económicas importantes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Guillermo Lockart quien a través de Partners of the Americas nos dio la oportunidad de realizar este trabajo. También queremos agradecer al Plan Agropecuario, al IICA, a los propietarios y personal de los 6 establecimientos visitados por el apoyo brindado.

BIBLIOGRAFIA.

1. Byford, R.L.; et al. Spectrum of insecticide cross-resistance in pyrethroid-resistant populations of

Haematobia irritans (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 768-773. 1985.

2. Byford, R.L.; et al. Organophosphorus insecticides for the control of pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 81 (6): 1562-1566. 1988.
3. Carballo, M. y Martínez, M. Hallazgo de *Haematobia irritans* en Uruguay. *Veterinaria*, 27 (112): 20-21. 1992.
4. Cardozo, H. y Franchi, M. Garrapata. Epidemiología y control de *Boophilus microplus*. EN: Nari, A. y Fiel, C. (Ed.) Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Editorial Hemisferio Sur, (18): 369-407. 1994.
5. Cilek, J.E.; Steelman, C.D. and Knapp, F.W. Hornfly (Diptera: Muscidae) insecticide resistance in Kentucky and Arkansas. *J. Econ. Entomol.* 84 (3): 756-762. 1991.
6. Cilek, J.E. and Knapp, F.W. Enhanced diazinon susceptibility in pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae): Potential for insecticide resistance management. *J. Econ. Entomol.* 86 (5): 1303-1307. 1993.
7. Honer, M.R.; Bianchin, I. e Gomes, A. Moscos-chifres: Histórico, Biología e Controle. Campo Grande, EMBRAPA - CNPQC, Documento 45. 1990, p. 34.
8. Kunz, S.E.; Ortiz Estrada M. and Fragoso Sanchez H. Status of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). Insecticide resistance in Northeastern Mexico. *J. Med. Entomol.* 32 (5): 726-729. 1995.
9. Russel, R.M.; Robertson, J.C. and Sevin, V.E. POLO: A new computer program for probit analysis. *Bulletin Entomological Society of America*, 25 (3): 203-204. 1977.
10. Scott, F.B.; Coumendouros, K. e Grisi, L. Avaliação in vitro da susceptibilidade da *Haematobia irritans* a alguns inseticidas no Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 3, 2, 83-85. 1994.
11. Sheppard, D.C. and Hinkle, N.C. A field procedure using disposable materials to evaluate hornfly insecticide resistance. *J. Agric. Entomol.* 4 (1): 87-89. 1987.
12. Sheppard, D.C. and Marchiondo, A.A. Toxicity of diazinon to pyrethroid resistant and susceptible horn flies, *Haematobia irritans* (L.): laboratory studies and field trials. *J. Agric. Entomol.* 4 (3): 262-270. 1987.

LABORATORIO
Revan

GUAYAQUI 3095 - MONTEVIDEO - URUGUAY - C.P. 11300
TELS.: 708 66 95 - 708 40 23 (FAX)