

## RESISTENCIA DE *BOOPHILUS MICROPLUS* A LOS ACARICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL URUGUAY

Nari, A.; Cardozo, H. y Petracchia, C. \*

### INTRODUCCION:

Aunque la utilización de acaricidas en el control de *Boophilus microplus* ha sido una de las mejoras tecnológicas más importantes del siglo XX, su manejo en gran escala no ha estado exento de riesgos.

La intensificación de las bañeaciones ha aumentado los riesgos de ecopolución, así como residuos acumulados en tejidos animales (13) (24) (32). La utilización de acaricidas también ha resultado en el desarrollo de resistencia de *Boophilus microplus* y otras especies de garrapatas en muchas áreas del mundo (37) (39) (18).

En general, se admite que cuando la acción de un acaricida utilizado a campo no surte el efecto obtenido en bañeaciones anteriores, es porque las garrapatas han desarrollado resistencia.

Este concepto puede resultar un tanto impreciso si se piensa que existen otros factores tales como el mal manejo de los bañaderos, que afectan la eficacia final de un acaricida.

El Comité de Expertos de la OMS ha definido la resistencia a insectos de la siguiente manera: "La resistencia contra los insecticidas es el desarrollo de la capacidad de una cepa de insectos a tolerar dosis de tóxicos que en la población normal de una misma especie resultaría letal para la mayoría de los individuos" (1). Esta definición parece estar de acuerdo con los modernos conceptos de desarrollo de resistencia en artrópodos (Sección 4), además de introducir el concepto de "medida comparativa" entre individuos de mayor y menor susceptibilidad.

La resistencia desarrollada por garrapatas se ha manifestado frente a casi todos los grupos químicos utilizados en su control; esto ha ocurrido preferentemente en áreas donde la utilización de acaricidas ha sido más sistemática (18).

La frecuencia con la cual ha aparecido resistencia de *Boophilus microplus* a muchos grupos de acaricidas, ha hecho pensar que se ha llegado a un momento crítico, en donde hay que prever resistencia de las garrapatas a los cinco o diez años de la primera aplicación de cualquier nuevo tipo de acaricida (38). Esta realidad y el hecho de que el desarrollo de nuevos acaricidas resulta cada vez más complicado y costoso, hace que sea imperioso contar con estudios que permitan alargar al máximo su vida útil (18) (33).

La resistencia en la garrapata común del ganado, *Boophilus microplus*, ha sido reportada por primera vez en Australia en el año 1937, en Sudáfrica en el año 1938, en Argentina en 1947 y en Brasil en 1950. (5) (9) (25) (35) (41).

También han existido comunicaciones de hallazgos de resistencia en otros países Sudamerica-

nos tales como, Colombia, Ecuador y Venezuela. (39)

En la mayoría de estos casos, la resistencia se ha desarrollado primeramente contra los acaricidas arsenicales, manteniendo similar secuencia de desarrollo para otros grupos químicos. (37)

En Uruguay se comprobaron cepas de *Boophilus microplus* resistentes a los arsenicales en el año 1950, aunque éstas fueron al comienzo exitosamente controladas con BHC y Toxafeno. Si bien en ese momento, no se realizaron estudios para determinar si existía resistencia cruzada con otros acaricidas organoclorados (OC), se observó que cepas BHC-Toxafeno/DDT resistentes, lo eran automáticamente contra Dieldin. (Freire, J.J. citado por Whitehead, 1965) (41). Estos datos podrían resultar poco fundamentados, en virtud de no haberse utilizado DDT en el país para el control de la garrapata, así como, no se realizaron estudios para detectar esa resistencia. (\*)

El diagnóstico de resistencia a los acaricidas organofosforados (OF) en los diversos países, comenzó para *Boophilus microplus* y *Boophilus decoloratus* a partir de la década del sesenta (18). En nuestro país, esta información ha sido muy fragmentaria y confusa hasta por lo menos el año 1975 donde el C. I. VET. "Miguel C. Rubino" comenzó a desarrollar técnicas para realizar estudios de sensibilidad a los acaricidas. La comunicación de estas observaciones, ha sido uno de los objetivos más relevantes en la presentación de este trabajo.

### 2. Características Bioquímicas y Genéticas de la Resistencia a OF.

Los primeros índices de la resistencia contra los insecticidas apenas llamó la atención académica y aunque se trató de explicar el fenómeno en base a características de comportamiento, pronto se hizo evidente que la resistencia contra los insecticidas era el resultado de un mecanismo protectorio bioquímico transmitido genéticamente (41).

La resistencia a los acaricidas sería la expresión fenotípica de un proceso de evolución acelerado por selección química (18).

Ambas apreciaciones coinciden y muestran dos factores definidos interviniendo en el fenómeno de resistencia: La transmisión genética y la selección bioquímica.

Si bien en el caso del arsénico la resistencia no ha sido estudiada genéticamente, en otros grupos químicos como ser OC (DDT, BHC-dieldrin) y OF se ha comprobado que el factor de resistencia está bajo el control de alelos ubicados en uno de los diez pares de cromosomas no sexuales del *Boophilus microplus* (30).

La acción bioquímica de los productos OF se ejerce a nivel de la enzima acetilcolinesterasa. Su efecto determina la inhibición de la mencionada enzima lo que en consecuencia produce acúmulo de acetilcolina bloqueando así los impulsos nerviosos.

Los factores bioquímicos que influyen en la aparición de resistencia serían cuatro (4):

\* Médicos Veterinarios, Técnicos del Departamento de Parasitología del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino". Ruta 8 "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja, Km. 29, Pando, Canelones. Casilla de Correo 6577, Montevideo - Uruguay.

\* Canábez, F. Comunicación personal, 1982.

### 2.1. La cantidad de colinesterasa activa en el individuo:

Cuanto más colinesterasa activa posea el individuo, habrá más oportunidad de que desarrolle resistencia. Al producirse menos acumulación de acetilcolina existe una mayor sobrevivencia y por ende una selección más activa.

Una vez conocido el mecanismo de acción de los OF se realizaron estudios de la acetilcolinesterasa de las garrapatas. Se han hallado 5 formas diferentes de la enzima, dos de las cuales se encuentran en cantidades similares en cualquier garrapata sea sensible o resistente. Esas dos formas de acetilcolinesterasa son siempre sensibles a OF; sin embargo los otros tres tipos son insensibles o potencialmente insensibles y serían las responsables de la resistencia (17).

### 2.2. El grado en el cual la colinesterasa de la garrapata sea insensible a la inhibición:

Una mayor cantidad de acetilcolinesterasa insensible, determina una mayor oportunidad de desdoblarse por la acetilcolina por lo que estamos en la misma situación del caso anterior.

### 2.3. La capacidad de la garrapata para convertir el OF en el compuesto oxigenado análogo:

El producto OF debe oxidarse para tornarse tóxico para la garrapata; este proceso que ocurre en el interior de su organismo es algo así como un mecanismo suicida ya que el parásito lleva un compuesto prácticamente atóxico a otro sumamente tóxico mediante una oxidación interna (32).

### 2.4. La capacidad de la garrapata para detoxificar el acaricida:

Químicamente los productos OF son ésteres por lo que se pueden hidrolizar. Cuando esto sucede dentro del organismo de la garrapata ellos pierden su poder tóxico ya que se produce fundamentalmente ácido fosfórico que no es inhibidor de la acetilcolinesterasa.

La relación de velocidad entre estos dos últimos mecanismos, el de oxidación y el de hidrólisis, determina en parte el nivel de toxicidad de un OF para una población. En garrapatas sensibles la oxidación es más rápida que la hidrólisis a la inversa que en mamíferos, ello determina la inocuidad para estos últimos de dosis mortales para la garrapata sensible.

La selección bioquímica por alguno o varios de estos mecanismos se verá favorecida o perjudicada según el manejo que el hombre realice con el producto que está utilizando.

Una población genéticamente en condiciones de ser resistente, se verá seleccionada intensamente si se expone a dosis menores a la DL99, lo que resalta la importancia que tiene la correcta utilización del baño.

### 3. Desarrollo de la resistencia.

La resistencia a los acaricidas está potencialmente presente en todas las poblaciones de garrapatas pero deviene, aparente, después de una selección de los individuos más fuertes (35).

El desarrollo de la resistencia a los acaricidas ocurre en tres fases: (31)

FIGURA 1. Estados en el desarrollo y diseminación de la resistencia a los acaricidas.



#### 3.1. Establecimiento:

La aparición de un alelo resistente en una po-

blación es debido a una mutación que ocurre al azar. Este es un proceso independiente de la selección e incluso puede suceder aún antes que los acaricidas sean utilizados. Se asume que en esta etapa la población de garrapatas está en estado heterocigoto.

#### 3.2. Desarrollo:

La propagación del alelo resistente se hace fundamentalmente a través de los individuos que soportan los baños acaricidas.

En esta etapa puede haber dos niveles de selección: rápida si los alelos son dominantes o lenta, si son recesivos. Los individuos heterocigotos sobrevivientes están inicialmente a baja frecuencia y por lo tanto la falla de efectividad del acaricida no es detectable por el productor.

#### 3.3. Emergencia:

En esta fase los alelos resistentes son más comunes, y la selección de homocigotos por las balanceaciones es importante. Dicha etapa es corta y la falla del acaricida en el campo es apreciada cuando el 10% de los individuos se han tornado resistentes.

#### 4. Utilización de pruebas para la detección de resistencia:

Desde el descubrimiento del fenómeno de resistencia a los acaricidas, un gran número de métodos han sido utilizados para detectar su presencia en poblaciones de garrapatas de campo, o en cepas experimentalmente presionadas en el Laboratorio.

Dentro de estos métodos, se reconocen dos grandes categorías, aquellos que estudian la acción del acaricida directamente sobre garrapatas que se desarrollan en el huésped (método *in vivo*), y aquellos que lo hacen sobre determinados estadios evolutivos de las garrapatas, en condiciones simuladas de Laboratorio (método *in vitro*).

La utilización de uno u otro de estos métodos, depende en gran medida del tipo de estudio de resistencia que se quiera utilizar. Se considera en general, que los métodos *in vivo* dan los resultados más precisos y confiables, cuando el objetivo es determinar la resistencia de una cepa de garrapatas (21). Sin embargo, estos métodos son muy costosos, más difíciles de registrar y frecuentemente imprácticos cuando el objetivo es determinar resistencia sobre una base regional (14).

Los métodos *in vitro*, tienen la ventaja de permitir procesar un gran número de cepas, lo que da la oportunidad de mantener un servicio de vigilancia y de realizar estudios epidemiológicos. En el caso específico de garrapatas de un solo huésped, tales como *Boophilus microplus*, los métodos *in vitro* proveen resultados sólo sobre estadios no parasitarios de la garrapata (neolarva y teleógina).

En esta sección, sólo se intentará enumerar aquellos métodos más comúnmente utilizados y hacer un cuadro comparativo de las pruebas actualmente en uso por el Departamento de Parasitología, del C.I.VET. "Miguel C. Rubino".

Los métodos *in vivo*, como la "Prueba de Establo" descrita por Roulston y Wilson (1964) y la "Mini prueba" de Downing, Stubbs y Bowyer (1977) que originalmente fueron desarrollados para la evaluación de eficacia de un acaricida, pueden ser utilizadas en la determinación de resistencia (21) (7).

En similares circunstancias, se encuentra la "Técnica de Campo" originariamente descrita por Wharton, *et al* (1970) (36).

Los métodos *in vitro*, que utilizan garrapatas adultas, se han realizado desde que Whithall y Bradford (1947) en Sudáfrica, sumergieron hembras de *Boophilus decoloratus* en soluciones aca-

ricidas. Sobre estas pruebas, se han utilizado gran cantidad de variaciones tales como, la inmersión total de la teleógina en acaricidas (40); aplicación de la droga sobre la cutícula (12) o la inyección directa del compuesto dentro del cuerpo de la teleógina (27). Para trabajos de rutina, nuestro Laboratorio ha seleccionado la prueba originariamente descrita por Graham y Drummond (1964) y posteriormente utilizada por Drummond *et al* (1976) en estudios de resistencia (8) (10).

En todas las pruebas anteriormente mencionadas, el efecto del acaricida sobre las teleóginas es medido en términos de su habilidad en prevenir la producción de huevos viables, más que en su efecto letal.

Las pruebas sobre teleóginas, tienen la ventaja de utilizar un estadio del *Boophilus microplus* que es el menos delicado y sensible a sufrir variaciones inducidas por el Laboratorio. Otra ventaja de las pruebas de teleóginas, es la relativa rapidez con que se pueden obtener resultados preliminares (11 días). Esto puede ser de gran importancia práctica, cuando es necesario tomar una decisión sobre el cambio de un acaricida en un área en particular.

Se considera una grave desventaja de estos métodos, el necesitar una muestra de garrapatas que sea uniforme y numerosa (Sección 7).

Las pruebas de larvas más comúnmente utilizadas en este momento, son la prueba descrita por Slaw (1966); la técnica descrita por Grillo To-

rrado y Gutiérrez (1969) y la prueba del "sobre impregnado" primeramente descrita por Stone y Haydock (1962) y posteriormente modificada por la FAO (3) (11) (23) (29). Las dos primeras técnicas se basan en la inmersión de larvas y la tercera consiste en ponerlas en contacto con acaricidas impregnados en papeles.

La ventaja de los métodos *in vitro* que utilizan larvas, es que disponen un número casi ilimitado de individuos lo que facilita la comparación de muchos acaricidas y la utilización de un gran número de diluciones con sus respectivas repeticiones. Todo esto facilita el análisis de una cepa y eventualmente la realización de estudios estadísticos.

Una de las mayores desventajas imputable a estos métodos, es su extrema sensibilidad a variaciones introducidas en el Laboratorio. Esto los hace más sofisticados, en el sentido de que para obtener una buena repetibilidad es necesario mantener estrictas condiciones de trabajo (tipo de papel, temperatura, humedad, etc.) (15).

Finalmente es necesario enfatizar, que no existe ningún método que por sí solo, pueda dar altos valores predictivos para un gran número de compuestos. Se hace necesario entonces, desarrollar en el Laboratorio, varios tipos de métodos, que utilizados combinadamente den una estimación más precisa y completa del fenómeno resistencia (26).

En el cuadro N° 1, se resumen las principales características de los métodos *in vitro* e *in vivo* utilizados en nuestro departamento.

CUADRO 1. METODOS UTILIZADOS POR EL CIVET "MIGUEL C. RUBINO" EN LA DETERMINACION E INVESTIGACION DE RESISTENCIA

| Métodos  | Técnica                | Tipo                 | Estadios Evolutivos | Origen de la Muestra               | Obtención Resultados                    |
|----------|------------------------|----------------------|---------------------|------------------------------------|---|
| In-vivo  | Prueba de Establo      | Baño Inmersión       | Todos               | Infestación Artificial             | 12 Semanas                              |
|          | Prueba de Campo        | Baño Inmersión Spray | Todos               | Infestación Natural y/o Artificial | 4 - 12 Semanas                          |
| In-vitro | Prueba de Drummond     | Inmersión            | Teleoginas          | Muestra Campo y/o Laboratorio      | Preliminar 2 Semanas<br>Final 6 Semanas |
|          | Prueba Stone y Haydock | Contacto             | Larvas              | Repique en Laboratorio             | 6 Semanas 1/2                           |

##### 5. Estudios Realizados en Uruguay.

##### 5.1. Utilización de una cepa patrón susceptible:

Una vez adoptada una técnica para medir resistencia, es necesario caracterizar una cepa susceptible para tomarla como patrón de medida.

Esta cepa fue traída al Laboratorio desde el

Departamento de Cerro Largo en el año 1973 y se le denominó "Mozo". Desde ese entonces fue mantenida sin ninguna presión de acaricida sobre su población.

Utilizando la técnica de Stone y Haydock (1962) se determinó la dosis letal 50% (DL50) y la dosis letal 99% (DL99) para poder usarla como referencia de cepa sensible. (Cuadro 2) (6).

CUADRO 2. PORCENTAJE DE CONTROL (DL 50 Y DL 99) DE ALGUNOS ACARICIDAS OF UTILIZADOS EN EL PAIS

| Producto        | Dosis 50% * | Lim. Inf. | Lim. Sup. | Dosis 99 % |
|-----------------|-------------|-----------|-----------|------------|
| Coumaphos       | 0.02517     | 0.0247    | 0.0257    | 0.0624     |
| Ethion          | 0.19026     | 0.1853    | 0.1952    | 0.0520     |
| Diazinon        | 0.00930     | 0.00905   | 0.00956   | 0.0808     |
| Cloorfenvinphos | 0.0236      | 0.0229    | 0.0244    | 0.07692    |

(\*) Concentraciones expresadas en p.p.m.

Las concentraciones de acaricidas en partes por millón (p.p.m.) son utilizadas en dos sentidos:

- Para detección del problema de resistencia por el uso de una dosis discriminativa. En nuestro Laboratorio esta dosis ha sido fijada como la que mata el 99 % de las larvas de la cepa Mozo (24) (43).
- Para medir resistencia de cepas problemas de campo. El resultado se da como factor de resistencia (F.R.) que es igual al cociente entre la dosis letal 50 % (DL50) de la cepa problema y la dosis letal 50 % (DL50) de la cepa sensible:

$$\text{F.R.} = \frac{\text{DL50 Problema}}{\text{DL50 Sensible}}$$

## 5.2. Diagnóstico de cepas resistentes en el Uruguay.

El estudio del problema de resistencia a los garrapaticidas OF en el Laboratorio de Parasitología del C.I.VET. "Miguel C. Rubino", se puede dividir en dos periodos diferentes; uno hasta el año 1979 y el otro de 1980 en adelante.

En el primero se utilizó la técnica de Drummond para teleóginas como elemento de diagnóstico, luego desde 1980 se puso a punto la técnica de Stone y Haydock para larvas por lo que se ha intentado trabajar con las dos técnicas en forma simultánea.

Durante el período 1976-1979 se realizaron quince chequeos orientativos de cepas con sospecha de resistencia provenientes de diferentes áreas de los Departamentos de Artigas y Rivera. Durante dicho período se detectó resistencia a por lo menos el 50 % de los siguientes acaricidas OF: chlorpyrifós, diazinon, pirimifós ethyl, chlorfenvinfos, ethion y coumaphos. (Cardozo, H. Observaciones no publicadas, 1979).

Los resultados obtenidos por el método de Drummond sugirieron en su momento, que la mayoría de los más importantes principios activos se encontraban en peligro de empezar a fallar masivamente en la lucha contra la garrapata. Esto estimuló la búsqueda de técnicas más sofisticadas, que permitieran el estudio de las cepas frente a un mayor número de drogas e incluso determinar su perfil de sensibilidad.

A partir de 1980 se comenzó a utilizar la técnica de Stone y Haydock propiciada por FAO (3).

Aplicando dosis discriminatorias o de separación se estableció una técnica sencilla para el diagnóstico. Las dosis de separación permiten identificar rápidamente las muestras que contienen larvas resistentes y hacen innecesario seguir investigando sobre aquellas en las cuales no hubo sobrevivientes (43).

Así, durante los años 1981 y 1982 se procesaron sesenta y cinco muestras de campo cuyos detalles de origen y resultados aparecen en el cuadro N° 3 (20). De él surge que se obtuvieron 41 resultados que mostraron resistencia total; 7 resistencia parcial; 7 fueron susceptibles y 10 no se pudieron estudiar por resultar las muestras insuficientes o por no haber completado su ciclo no parasitario. Es decir, que realmente fueron sometidos a las dosis discriminatorias un total de 55 muestras.

Conviene destacar que los envíos al Laboratorio procedieron en la gran mayoría de casos de sospecha de resistencia por fallas en el campo, por lo que por tratarse de un muestreo sesgado sería erróneo inferir que un 74 % de la población de *Boophilus microplus* del Uruguay es resistente o

que el 100 % de la población del parásito en Artigas lo es.

En cambio, sería válido decir que de las 48 muestras en las que se evidenció resistencia, 41, o sea un 85 % mostraron resistencia total.

Esto hablaría de una característica casi general del *Boophilus microplus* en Uruguay se podría afirmar que si un producto OF de nuestro mercado falla comprobadamente, difícilmente pueda ser sustituido con éxito por otro con el mismo núcleo químico.

Del mismo cuadro se extrae que se analizaron 27 muestras de Paysandú, 13 de Tacuarembó, 7 de Salto, 5 de Artigas, 5 de Cerro Largo, 5 de Florida, 1 de Río Negro y 1 de Lavalleja. Dado que el envío de material requerido por el Laboratorio estuvo condicionado a la iniciativa de los colegas en el interior, no sería acertado decir que el problema es más grave en Paysandú que en Rivera por ejemplo.

Pero estos datos permitieron confeccionar un mapa (Fig. 2) donde se evidencia que existen zonas donde la resistencia está instalada (20).

No se representaron en dicho mapa los casos hallados susceptibles ya que los movimientos de ganado, incluso caballar, entre zonas garrapatas hacen que la susceptibilidad de hoy pueda ser resistencia mañana.

Como conclusión se puede decir que:

- Existe resistencia a los garrapaticidas OF diseminada en una amplia extensión del Uruguay.
- En la mayoría de los casos la resistencia es global, es decir que a todos los productos OF del mercado.
- Hay zonas donde se desconoce la situación.

## 6. Envío de muestras al Laboratorio frente a una sospecha de resistencia:

La observación del fenómeno de resistencia en condiciones de campo, comienza casi siempre en establecimientos donde se ha hecho un manejo incorrecto de los bañaderos. Esta situación, ha llevado a confundir muchas veces un mal manejo del baño con un problema de resistencia.

Es responsabilidad del profesional actuante, el descartar si la sospecha de resistencia es bien fundada o no. Para esto, existen algunos pasos importantes:

6.1. Realizar una correcta anamnesis del sistema de balneaciones y estado del baño utilizado por el productor. Esto incluye todos los movimientos de bovinos realizados en el establecimiento y acaricidas utilizados en temporadas anteriores.

6.2. Realizar una observación directa de los animales, recordando que la primera indicación a campo, es una *alta* y *anormal* presencia de teleóginas de los 9 a los 16 días del baño. (Sobrevivencia de las metaniúfas). Una evidencia más fuerte, puede resultar en la observación de una *alta* y *anormal* presencia de teleóginas, entre los 4 a los 7 días después del baño. (Sobrevivencia de adultos) (2).

6.3. Extraer una correcta muestra de garrapatas.

Los problemas relacionados a envíos incorrectos de las muestras, parecen estar bastante generalizados. Solomon *et al* (1978) indican que en Sudáfrica durante el período 1977-1978, los problemas asociados con muestras defectuosas fueron debidos a: muy pocas garrapatas 23,4 %; hembras no repletas 8,6 %; garrapatas muertas al arribo 7,2 %; garrapatas desovando 4,9 % (25). Esto demuestra el hecho que, casi el 50 % de las garrapatas enviadas no pudieron ser utilizadas en pruebas de adultos. Este hecho, debe ser considerado

por el profesional que envía la muestra y necesita un resultado rápido del Laboratorio.

Cuando la muestra es poco numerosa (eg menor de teleóginas) estas garrapatas no podrán ser procesadas por el método de Drummond y tendrán que ser puestas a desovar para realizar la prueba de larvas. Esta circunstancia, ententece el resultado en por lo menos 6 semanas (ver cuadro 1).

Por otra parte, si bien una prueba de larvas puede ser teóricamente realizada con la producción de larvas de una sola garrapata, sus resultados estarían invalidados por un muestreo deficiente. Las garrapatas tienen que ser extraídas de varios bovinos y la muestra tiene que ser lo más numerosa posible. A continuación se resumirán algunos puntos importantes en el envío de muestras:

—**MOMENTO DE EXTRACCION:** El mejor momento para tomar la muestra, es 4-7 días luego del baño. Si esto no es posible, es aconsejable sacar garrapatas inmediatamente antes que los bovinos sean bañados.

—**VOLUMEN DE LA MUESTRA:** Un envío correcto, está comprendido entre las 50 a 100 teleóginas. Esto permite hacer un "screening" previo de drogas con la prueba de Drummond y mantener el resto de la muestra para cría y posterior utilización en la prueba de larvas. Para la obtención de muestras más numerosas, hay que recordar que la mayor parte de las teleóginas, caen al suelo en las primeras horas de la mañana.

—**ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA:** Es necesario evitar en lo posible poner las teleóginas con algodón u otro material humedecido. Esto solo ayuda a la formación de hongos que pueden afectar la sobrevivencia de la teleóquina. Una pequeña caja de cartón, es suficiente para enviar la muestra deseada.

—**OPORTUNIDAD DE LA MUESTRA:** Para que una muestra sea oportuna, se entiende a aquella que llega al Laboratorio dentro de las 24 horas de extraída. Esto se debe al hecho de que si se intenta hacer una prueba con teleóginas, éstas no podrán ser bañadas si están desovando. Actualmente, se han realizado algunos intentos para sincronizar las muestras con las necesidades del Laboratorio a través de la refrigeración (16).

6.4. *Extraer una correcta muestra de baño:* La mayoría de los acaricidas que se utilizan actualmente, son emulsiones o suspensiones que tienden a sedimentar. Esta condición impide muchas veces tomar una correcta muestra del baño. El homogeneizado total del baño se logra en las siguientes circunstancias:

—**DURANTE EL BAÑO.** Inmediatamente luego del pasaje del último animal.

—**LUEGO DEL BAÑO.** Haciendo pasar no menos de 30 bovinos grandes. Si no se dispone de animales, el baño tiene que ser agitado completamente a lo largo y de arriba abajo hasta el fondo.

Inmediatamente de homogeneizado el baño, es necesario extraer 5 muestras de aproximadamente 1 litro cada una. Dos de las muestras se toman en la caída del baño, una en la superficie y otra próxima al fondo. El mismo procedimiento se repite en la salida del baño. Finalmente, se toma la última muestra en el centro, a una profundidad media.

En un recipiente limpio, se mezclan los 5 litros extraídos sacando luego una muestra promedio de un litro. Esta, acondicionada en una botella limpia, puede ser enviada al Departamento de Química, del C.I.VET. "Miguel C. Rubino".

## 7. Control de la Resistencia.

Se ha pronosticado un futuro desalentador para el control del *Boophilus microplus*, a no ser que

se pueda proporcionar una información práctica sobre la manera de usar los productos químicos para minimizar los problemas de resistencia (22).

La aparición y dispersión de la resistencia en una población de garrapatas depende de muchos factores que vamos a analizar a continuación, considerando las medidas de control que se podrían tomar.

7.1. *Control natural:* Existe la posibilidad de que, así como aparecen genes resistentes por mutación, aparezcan de la misma manera genes susceptibles.

La introducción de individuos susceptibles en una población resistente hace que su composición genética cambie, y por lo tanto, cabe la posibilidad de volver a usar acaricidas ya descartados.

La frecuencia de los genes resistentes así como su dominancia influyen en la rapidez de aparición de los problemas en el campo. Así tenemos que; la resistencia al DDT es incompletamente recesiva; al B.H.C. dieldrin completamente dominante; y a los OF es incompletamente dominante e intermedia (28) (35) (42).

7.2. *Acaricidas:* Una cepa de garrapatas aumenta su resistencia cuando por presiones de baños sobreviven los individuos portadores de los alelos resistentes. Esta selección estará determinada por: la frecuencia de los baños y la concentración de los acaricidas usados.

Hay varias estrategias de manejo de los acaricidas a los efectos de evitar altos niveles de selección.

7.2.1. *Estrategia de moderación:* Es cuando se utilizan los acaricidas de manera de evitar una gran presión de selección por menor contacto con ellos. Los genes resistentes se mantienen mezclados en una gran población de individuos susceptibles y la resistencia dilata su aparición.

Esto se logra de dos maneras:

— Bañando cuando hay grandes poblaciones de garrapatas adultas y a baja frecuencia (EJ: cada 6 semanas).

— Bañando únicamente a los bovinos que sobrepasen un número arbitrario de teleóginas (EJ: 20).

En una estrategia de moderación se tienen las ventajas de que, se disminuyen los gastos por acaricidas y las posibilidades de que la resistencia se haga aparente.

Por otro lado, los daños causados por las garrapatas son mayores.

7.2.2. *Estrategia de saturación:* En una población de garrapatas pueden existir individuos sensibles (rr, rR) y resistentes (RR, rR). Las dosis de un acaricida que mata los individuos sensibles, puede estar muy próxima a la que mata a heterocigotos resistentes. Por lo tanto, tenemos que utilizar los productos químicos a concentraciones altas, como para matar todos los susceptibles y la mayor cantidad posible de heterocigotos resistentes.

De esta manera se disminuyen los individuos heterocigotos, bajando al máximo las posibilidades de que se combinen entre ellos dando individuos altamente resistentes. Estos genes al estar en una frecuencia muy baja, demoran más en manifestarse.

Cabe entonces la posibilidad de eliminarlos o diluirlos en poblaciones de garrapatas susceptibles.

El control se tendría que realizar en baños cada tres semanas y a concentraciones altas.

Para obtener un buen control de cepas resistentes habría dos factores de importancia a considerar:

— La concentración de los acaricidas.

— El poder residual.

— Si se calcula la dosis de un garrapaticida en

el nivel mínimo aceptable que controle un 95 % de la población, se corre el riesgo que con su uso se trate a las poblaciones de garrapatas a dosis subletales para muchos de sus individuos. Esta concentración estará afectada por problemas de stripping, lluvias, polución, mal control, refuerzos mal hechos, etc.

— El uso del poder residual puede tener cabida únicamente en una estrategia de moderación. Cuando se la utiliza en una estrategia de saturación, se ve que, en la etapa residual del producto se trata a las poblaciones de garrapatas a dosis subletales. Esto favorece la selección de individuos heterocigotos resistentes.

En altas concentraciones de acaricidas no residuales y el uso de mezclas con diferente modo de acción, se favorece la prolongación de la vida útil pues no permiten la sobrevivencia de alelos medianamente resistentes.

Sutherst, (1979), no descarta la posibilidad de que con esta estrategia de control se desarrollen individuos resistentes a las mezclas químicas utilizadas (31).

7.2.3. *Estrategia de máximo control*: Los baños acaricidas a concentraciones de saturación pueden ser aplicados a altas frecuencias de manera de afectar a las poblaciones de *Boophilus microplus* sobre el bovino en las etapas de mayor susceptibilidad. (Baños cada 9 días).

De esta manera se logra un mayor control de los alelos resistentes.

Es posible erradicar una cepa resistente siempre que se siga una estrategia de baños repetidos a intervalos frecuentes (19).

Los principales problemas para la aplicación de un máximo control son:

- La utilización del acaricida es antieconómica.
- La localización y documentación de una cepa resistente se hace dificultosa.
- En la práctica, resulta difícil establecer áreas de cuarentena con la necesaria rapidez.

### 7.3. Otras medidas:

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, se debería pensar en la integración de otras posibilidades para el control de la garrapata:

- Utilizar razas de bovinos resistentes.
- Manejo de pasturas.
- Utilizar datos de la ecología para la aplicación más racional de los baños acaricidas.

Por último, es necesario decir que para el control de la resistencia tendría que haber una cooperación regional a los efectos de evitar su diseminación.

Esto podría lograrse con:

- Centros para el diagnóstico de resistencia.
- Aislamiento eficiente de las zonas afectadas.
- Utilización de acaricidas efectivos.
- Control de la entrada y salida de bovinos a nivel de establecimiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANON. Expert Committee on Insecticides Seventh Report. (Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser. 125). Genova, 1957.
2. ANON. General Instructions to staff. Department of Agriculture Board of tick control Lismore, N.S.W. Australia, p. 23, 1968.
3. ANON. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative method for larvae of cattle ticks *Boophilus* spp. FAO Method N° 7. FAO Plant Protection Bulletin. 19: 15 - 18, 1971.
4. ANON. Rural Res. CSIRO 75: 28 - 30, 1972.
5. BOERO, J.J. Avances en el conocimiento y lucha contra la garrapata durante los últimos 30 años. Gac. 31: 461 - 467.
6. CARDOZO, H., et al. Perfil de sensibilidad de

una cepa de *Boophilus microplus* susceptible a los acaricidas organofosforados. Veterinaria 20 (86-87) 17-21, 1964.

7. DOWNING, F.S.; STUBBS, V.K.; BOWYER S.A. Technique for localizing infestations of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.) on small areas of the host aid subjecting each area to dip treatments. In proceedings of the international Conference on the evaluation of Biology, Wageningen, The Netherlands, 16 - 18 April 1975, pp. 609 - 622.
8. DRUMMOND, R.O.; et al. Tests of acaricides for control of *Boophilus microplus* and *Boophilus annulatus*. Econ. Entomol. 69:37-40, 1976.
9. DUTOIT, R.; GRAF, H. y BEKKER, P.M. Resistance to arsenic as displayed by the single host blue tick *Boophilus decoloratus* Koch in a localized area of the Union of South Africa. South African. Vet. Med. Assoc. 12: 50 - 58.
10. GRAHAM, O.H. y DRUMMOND, R.O. Laboratory screening of insecticides for the prevention of reproduction of *Boophilus* ticks. Econ. Entomol. 57: 335 - 339, 1964.
11. GRILLO TORRADO, J.M. y GUTIERREZ, R. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapatas. Evaluación de sensibilidad. Rev. Patol. Anim. 6: 135 - 158, 1969.
12. KITAOKA, S. y YAJIMA, A. Comparison of effectiveness between pesticides against *Boophilus microplus* by topical application and spraying. National Institute.
13. MORIARTY, F. The sublethal effects of synthetic insecticides on insects. Biol. Rev. 44: 321 - 357, 1969.
14. NARI, A. Precisión y correlación de métodos *in vivo* para medir resistencia de *Boophilus microplus*. Curso sobre manejo de baños y estudio de resistencia de garrapatas. FAO, Uruguay, 1981.
15. NARI, A. The evaluation of *in vitro* methods of testing for acaricidal resistance in *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Tesis Med. Vet. (Parasitología). Universidad de Pretoria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Pretoria, Sudáfrica, 1981.
16. NARI, A. et al. Utilización de la refrigeración de *Boophilus microplus* en estudios de resistencia. Su efecto en la reproducción estimada y reacción a los acaricidas. Veterinaria (en prensa) 1982.
17. NOLAN, J., SCHNITZERLING, H.J., SCHUNTER, C.A. Multiple forms of Acetylcholinesterase from resistant and susceptible strains of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Can.). Pest. Biochem. Physiol. 2: 85 - 94, 1972.
18. NOLAN, J. & ROULSTON, W.J. Acaricide resistance as a factor in the management of acari and veterinary importance. Rec. Adv. Acarol. 2: 3 - 13, 1979.
19. NOLAN, J. Acaricides. Past, present and future. 1-19-1-1-19-6. In Special Group Course in Ticks and Tick-borne Diseases. Australia, 1980.
20. PETRACCIA, C.A. et al. Estudios de resistencia a garrapaticidas organofosforados en *Boophilus microplus*. Resultados obtenidos en cepas de campo llegadas al C.I.VET. "Miguel C. Rubino", durante los años 1981 y 1982. Veterinaria (en prensa).
21. ROULSTON, W. J. & WILSON, J. T. Chemical control of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). Bull. Entomol. 55: 617 - 635, 1964.
22. ROULSTON, W.J. The history of acaricide resistance in Australia. 1.15.1 - 1.15.7. In Special Group Course on Ticks and Tick-borne Diseases, Australia, 1980.
23. SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. Bull. Entomol. Res. 56: 389 - 405, 1966.
24. SMITH, R.F. Pesticides: their use and limitations in pest management. In proceedings of a Conference held at North Carolina State University, Raleigh. North Carolina, USA, 1970, p. 227-242.
25. SOLOMON, K.R. et al. Pesticide resistance in larval, nymphal and adult ticks with special reference to the future of resistance in South Africa. In Annual Report 1977-1978, Entomology Section, Veterinary Research Institute, Onderstepoort, 18 p.
26. STENDEL, W. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. South African Vet. Assoc. 31: 147 - 152, 1980.
27. STONE, B.F. & WEBBER, L.G. Cattle ticks, *Boophilus microplus* resistant to DDT, BHC and Dieldrin. Austr. Agric. Res. 11: 108 - 119, 1960.
28. STONE, B.F. Inheritance of DDT resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. Austr. Agr. Res. 13: 984 - 1007, 1962.
29. STONE, B.F. & HAYDOCK, K.P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). Bull. Entomol. Res. 53: 563 - 578, 1962.
30. STONE, B.F. The genetics of resistance by ticks to acaricides. Austr. Vet. 48: 345 - 350, 1972.
31. SUTHERST, R.W. and COMINS, H.N. The mana-

- gement of acaricide resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. Bull. Entomol. Res. 69: 519-537, 1979.
32. TAHORI, A. Acaricides and resistance of ticks to acaricides. In proceedings of a Workshop on the Ecology and Control of Ectoparasites on Bovines in Latin America. Series CE-13, Cali, Colombia, CIAT, 1978.
  33. VAN RENSBURG, S. J. J. The importance and need for tick control what it means to the industry. In proceedings of an International Conference on the Tick Biology and Control, Grahamstown, South Africa, 1981.
  34. WHARTON, R.W. Acaricide resistance and cattle tick control. Austr. Vet. 394 - 398, 1967.
  35. WHARTON, R.H. & ROULSTON, W.J. Resistance of ticks to chemicals. Ann. Rev. Entomol. 15: 381 - 404, 1970.
  36. WHARTON, R.H. et al. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. Austr. Agr. Res. 21: 985 - 1008, 1970.
  37. WHARTON, R.H. Ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. In Pal, R. and Wharton, R. H. (ed.). Control of Arthropods of Medical Importance. New York, Plenum Press, 1974, p. 35-52.
  38. WHARTON, R.H. Tick-borne livestock diseases and alternative methods of tick control. World Anim. Rev. 20: 8-15, 1976.
  39. WHARTON, R.H. & NORRIS, K.R. Control of parasitic arthropods. Vet. Parasit. 6: 135-164, 1980.
  40. WHITEHEAD, G.B. Acaricide resistance in the blue tick, *Boophilus decoloratus* (Koch). Part I. Bull. Entomol. Res. 40: 661-673, 1958.
  41. WHITEHEAD, G.B. Resistance in the Acarina: ticks. Adv. Acarol. 2: 53 - 70, 1965.
  42. WILSON, J.T.; STONE, B.F. and WHARTON, R. H. Inheritance of Diazinon resistance in the Barra train of the cattle tick (*Boophilus microplus*) in Australia. Austr. Agric. Res. 22: 169-175, 1975.
  43. WILSON, J.T. El empleo de dosis de separación. Primer curso sobre Manejo de Baños y Estudio de Resistencia de Garrapatas, FAO, Uruguay, 1981.

**GARRAPATICIDAS EFICACES Y ECONOMICOS:**  
**GARRASEN CERTUS A BASE DE ARSENICO.**  
**BUTOX y BUTOX P A BASE DE DECAMETRINA**

(PIRETROIDE SINTETICO)  
(EN TRAMITE DE REGISTRO)

**J. B. & R. A. VIDOVIK S. A.**  
**Eduardo Acevedo 1629** **Teléf. 4 42 75**

**TETRAMIT® "L"**  
**Injectable - Tabletas**  
**TETRAMIT®**  
**Oral**

HOY, UN VACUNO,  
MAÑANA, UN LANAR,  
PASADO, UN CERDO,  
FIN DE SEMANA, UN AVE...

**BUEN PROVECHO.**

Ud. a qué se dedica?  
a criar lombrices o ganado?

Decídase y evite definitivamente  
que su ganado alimente a parásitos.

TETRAMIT, elimina y evita al mismo tiempo las formas maduras e inmaduras de lombrices gastrointestinales y pulmonares.

Su acción sistémica y su rápida absorción extermina más del 90% de los nematodos en las 24 horas y sus efectos se prolongan por más de dos días.

Aplique TETRAMIT administrándolo en animales de toda edad, tamaño y estado, incluso preñados y no tendrá riesgos ni se manifestarán fenómenos secundarios.

Su médico veterinario sabe y confía en la investigación DISPERT.

