

DESARROLLO DE BIOENSAYOS IN VITRO PARA EL ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD TOXICOLÓGICA DE *Cochliomyia hominivorax* A CIPERMETRINA Y ETHION

Remedios, M.¹, Roth, L.¹, Miraballes, C.², Saravia, A.², Castro-Janer, E.^{1,2*}

¹Departamento de Parasitología, Facultad de Veterinaria, Av. Lasplacas 1620, Montevideo, Uruguay.

*Autor de correspondencia: elinorcastro59@gmail.com

²Plataforma de Salud Animal, INIA La Estanzuela, Ruta 50, Km 11, Colonia, Uruguay.

RESUMEN

Cochliomyia hominivorax es el principal agente de miasis primaria de Uruguay, constituyendo una grave enfermedad para los ovinos y bovinos, que si no se trata lleva a la muerte. Su control se basa en el uso de insecticidas y endectocidas. Hasta la fecha, no se conocen ensayos *in vitro* que permitan el diagnóstico de resistencia a los mismos. El objetivo del presente trabajo fue padronizar un bioensayo *in vitro* para la determinación de la susceptibilidad toxicológica de *C. hominivorax* a cipermetrina (CPM) y ethion, y establecer una dosis discriminadora (DD) que permita identificar, tanto en campo como en laboratorio, poblaciones resistentes a cada uno de ellos. Se usó una colonia de laboratorio (6^a generación), dieta artificial e insecticidas de grado técnico. Se realizaron 10 ensayos con 3 repeticiones para cada insecticida, usando larvas de tercer estadio. La determinación de la mortalidad, para ambos productos, se hizo a diferentes tiempos de exposición (1, 2, 3 y 4 horas). Se sugiere realizar la lectura a las 2 horas. La DD para CPM fue 231,2 ppm y para ethion de 240 ppm.

SUMMARY

Cochliomyia hominivorax is the main cause of primary miasis in Uruguay producing a serious illness in cows and sheep that if not treated, causes death. The control is based on the use of insecticides and endectocides. Until now, is not known *in vitro* test that allowed the diagnosis of resistance to this. The objective of the present work was to standardize an *in vitro* bioassay to determine the toxicological susceptibility of *C. hominivorax* to cypermethrin (CPM) and ethion, and establish a discriminatory dose (DD) that allows identify, in field as well as in laboratory, resistant population to

each one. A colony of laboratory (6th generation) was used, as well as an artificial diet and insecticides (technical grade). Ten assays with three repetitions were performed for each insecticide, using third instar larvae. The determination of mortality for both products was realized at different times of exposure (1, 2, 3 and 4 hours). It was suggested count at 2 hours. The DD for CPM was 231.2 ppm and for ethion 240 ppm, respectively.

INTRODUCCIÓN

Cochliomyia hominivorax es un díptero parásito al estado larvario conocido como "bichera" que afecta hospederos de sangre caliente. En Uruguay, las miasis que produce en ovinos son debidas principalmente a lesiones podales y en bovinos a lesiones umbilicales (Carballo et al., 1990). El método más utilizado para el control de *C. hominivorax* son los insecticidas principalmente a base de piretroides sintéticos y organosoforados y los endectocidas (avermectinas). El monitoreo de la susceptibilidad insecticida es una actividad importantísima en los programas de control. Hasta el momento no se han padronizado bioensayos *in vitro* para el estudio de susceptibilidad de la mosca a los insecticidas. El objetivo del presente trabajo fue poner a punto una técnica para determinar la susceptibilidad toxicológica de *C. hominivorax* a organofosforados y piretroides sintéticos mediante bioensayos *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron larvas de tercer estadio (L3) de *C. hominivorax* (6^a generación) criadas en laboratorio a 37 °C y 70 % Humedad Relativa (INIA La Estanzuela) y como insecticidas, cipermetrina (93,2% pureza) y ethion (95,9%).

Para cada insecticida se realizaron 10 bioensayos con 3 repeticiones cada uno. Grupos de 30 L3 se expusieron a 9 concentraciones decrecientes de dichos productos (200-6,3 ppm) a 37°C. Cada concentración de insecticida fue mezclada con una dieta artificial siguiendo los protocolos de COMEXA (2008-MGAP). Se usó un grupo control sin el agregado del insecticida a la dieta. La exposición de las L3 se realizó durante 4 horas, registrándose el número de larvas vivas y muertas para cada dosis, a cada hora. Se usó un modelo de regresión múltiple donde la variable respuesta fue la mortalidad y las explicativas la dosis, ensayo, repetición y tiempo. Se realizó la transformación logarítmica de la dosis de insecticida y se trazó la curva dosis-mortalidad. Se estimó la concentración letal 50 (CL₅₀) y CL₉₀ así como la dosis discriminadora DD (2xCL₉₀), para cada insecticida (Programa STATA10).

La mortalidad de las larvas se vio influenciada por la concentración del insecticida y el tiempo de exposición al mismo ($p < 0,001$). Para el caso de ethion, además hubo variación en los ensayos, debida a la dificultad para determinar en algunas larvas, su viabilidad. En las Figuras 1 y 2 se representa la curva dosis-respuesta de *C. hominivorax* para CPM y ethion, respectivamente, para los diferentes tiempos de exposición. Los resultados de las CL_{50/90} para CPM y ethion se presentan en las Tablas 1 y 2, respectivamente. La lectura a las 4 hs no permitió estimar la CL_{50/90} para ninguno de los 2 insecticidas usados, ocurriendo mortalidad total con ambos a partir de la concentración 25 ppm. Con la lectura en la primera hora no se logró la mortalidad total de las larvas a la máxima concentración de CPM ni de ethion. Se sugiere comenzar con la determinación de la mortalidad, para ambos insecticidas, a las 2 hs y usar como menor dilución 12,5 ppm.

Tabla 1. Concentración letal 50 y dosis discriminadora de cipermetrina para *C. hominivorax* para diferentes tiempos de exposición

Tiempo (hs)	N	n	Slope ± SE	t	R ²	CL ₅₀ ppm (IC95%)	DD ppm (2xCL ₉₀)
1	30	300	0,49±0,009	52,3	0,90	74,4 (72,2-76,7)	404,7
2	30	300	0,55±0,012	46,7	0,88	56,3 (54-58,5)	231,2
3	30	300	0,55±0,016	33,8	0,79	43,8 (41,5-46,1)	205

N: número de ensayos; n: número de observaciones; SE: error típico; t: test de Student; R²: coeficiente de regresión; ppm: partes por millón; IC: intervalo de confianza; DD: dosis discriminadora.

Tabla 2. Concentración letal 50 y dosis discriminadora de ethion para *C. hominivorax* en diferentes tiempos de exposición

Tiempo (hs)	N	n	Slope ± SE	t	R ²	CL ₅₀ ppm (IC95%)	DD ppm (2xCL ₉₀)
1	30	300	0,50±0,01	48	0,88	71,5 (69,4-73,7)	373,6
2	30	300	0,55±0,013	41,1	0,85	51,9 (49,6-54,3)	240,6
3	30	300	0,54±0,017	30,6	0,76	40,8 (38,5-43,2)	180

N: número de ensayos; n: número de observaciones; SE: error típico; t: test de Student; R²: coeficiente de regresión; ppm: partes por millón; IC: intervalo de confianza. DD: dosis discriminadora.

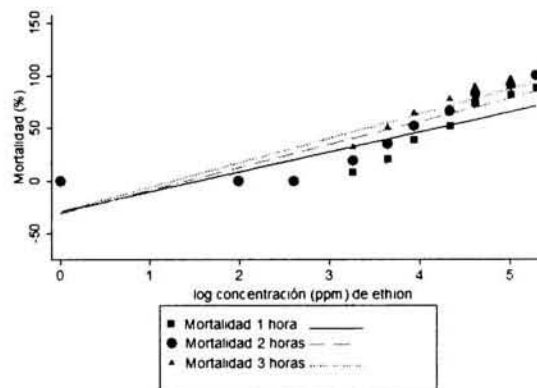
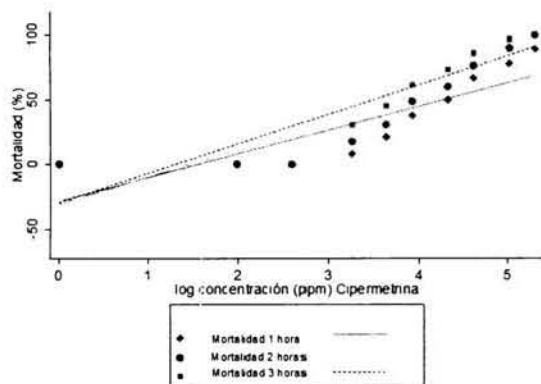


Figura 1. A. Curvas dosis-respuesta de *C. hominivorax* a cipermetrina (A) ya ethion (B) a diferentes tiempos de exposición

La información aportada por este estudio constituye una importante herramienta para monitorear la susceptibilidad de poblaciones de *C. hominivorax*, contribuyendo a la elaboración de programas para su control. Este bioensayo también podría aplicarse a campo, sin mayores exigencias de materiales o equipamientos, usando la DD determinada para cada insecticida.

CONCLUSIONES

Se cuenta con protocolos para la realización de bioensayos *in vitro* para la determinación de resistencia de *C. hominivorax* a cipermetrina y ethion, tanto para laboratorio como para campo.

Financiamiento: CSIC, INIA

BIBLIOGRAFÍA

- Carballo, M.; Colombo, A.; Heinzen, T. 1990. Presencia de especies de dípteros califóridos causantes de miasis cutáneas en Uruguay. Relevamiento de larvas parasitarias (instar III) en rumiantes. *Veterinaria*, 26 (109): 4-6.
- Comexa- Colecta de líneas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) Diptera: Calliphoridae para la formación de una cepa. 2008 pp.3

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA PARANFISTOMOSIS BOVINA EN ESTABLECIMIENTOS DE LA REGIÓN NORTE DE URUGUAY

Pablo Castro¹, Serafin Ceriani², Matias Gonzalvez Brum³ y Zully Hernández⁴

¹Ejercicio liberal de la profesión, Tacuarembó. ²Departamento de Rumiantes y Suinos, Facultad de Veterinaria, CENUR Litoral Norte, UdelaR, Paysandú. ³Ejercicio liberal de la profesión, Salto. ⁴Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, CENUR Litoral Norte, UdelaR, Salto.

RESUMEN

La paranfistomosis es una parasitosis causada por *Paramphistomum* spp. y se encuentra distribuida en todo el mundo, pero las más altas prevalencias se registran en zonas tropicales y subtropicales. El objetivo del presente tra-

bajo fue estudiar los aspectos epidemiológicos de la paranfistomosis bovina. El periodo de estudio comprendió las cuatro estaciones del año. Se llevó un registro meteorológico de la región. Se constató una prevalencia general de un 14,5%, encontrando diferencias significativas entre los bovinos menores y mayores a los 18 meses de edad. Se registró