



## ESTUDIO DE SENSIBILIDAD IN VITRO DE LAS POBLACIONES DE HAEMATOBIA IRRITANS EN LA CUENCA LECHERA DE CANELONES, SAN JOSÉ Y FLORIDA.

*Cuore, U.<sup>1</sup>, Solari, M.A.<sup>1</sup>, Cardoso, H.<sup>1</sup>,  
Mautone, G.<sup>1</sup>, Trelles, A.<sup>1</sup>, Gil, A.<sup>1</sup>  
& Alza, D.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>DILAVE "Miguel C. Rubino" MGAP  
dilave@adinet.com.uy

<sup>2</sup>PROLESA, Dpto. Técnico  
dalza@prolesa.conaprole.com.uy

### RESUMEN

Se estudió el perfil de sensibilidad de la *Haematobia irritans* con la prueba de Sheppard y Hinckle 1987, en muestras de 16 establecimientos asignados por los antecedentes de tratamiento, siendo representativos cuatro diferentes zonas de la cuenca lechera tradicional. En la prueba in vitro se trabajó con la cipermetrina y diazinon como representantes de los grupos de piretroide y fosforado respectivamente.

Se encontró que todas las poblaciones fueron resistentes a la cipermetrina y sensibles al diazinon (con un factor de resistencia de 12,3 a 105,5 y 0,11 a 0,86 respectivamente), independientemente de los tratamientos previos. A pesar de existir variaciones de los valores de factor de resistencia, las poblaciones de moscas se comportan homogéneas.

### INTRODUCCIÓN

La *H. irritans* ingresó por el norte del país en diciembre de 1991, extendiéndose hasta el sudoeste en febrero de 1993.(1)

En los últimos años la *H. irritans* ha presentado serios problemas en su control. Existen indicadores de comportamiento resistente a algunos principios activos utilizados en su combate. En 1997, en Uruguay se realizó el primer diagnóstico de resistencia in vitro, encontrándose valores de factor de resistencia para la cipermetrina entre 47,5 y 974, siendo la misma población sensible al diazinon con valores de dosis letal 50 (DL50) inferiores a la cepa de referencia (departamentos de Cerro Largo, Florida y Treinta y Tres, 32,2° y 35° Lat. Sur).(2)

A nivel regional e internacional en países como Argentina, Brasil, México, EEUU, se diagnosticó resistencia in vitro principalmente a insecticidas del grupo piretroide (cipermetrina).(3)(4). En Uruguay, estudios previos del comportamiento fueron realizados fundamentalmente en la zona centro norte del país, en ganado de carne con frecuentes tratamientos acaricidas, lo que justificaría el estatus de resistencia.

Dentro de este contexto se plantea la hipótesis de enfrentar a una población homogénea de *H. irritans* desde el punto de vista de su perfil de susceptibilidad frente a los insecticidas. Esta suposición se basa en las características geográficas del país, al manejo de los rodeos y fundamentalmente a la biología. Se propone la realización del presente trabajo en la zona sur, en sistemas de producción diferentes, donde no existe la misma presión de los acaricidas y en una ubicación distante a donde se realizaron los otros estudios.

### Los objetivos del estudio fueron:

- Determinar el factor de resistencia a cipermetrina y diazinon en la población de *H. irritans* de la cuenca lechera tradicional;
- Conocer si los tratamientos previos tienen incidencia en el perfil actual de sensibilidad;
- Comprobar el grado de uniformidad de la población desde el punto de vista de una técnica in vitro.

### MATERIALES Y MÉTODO

#### Ubicación

Se designaron cuatro zonas geográficas distanciadas entre sí, Canelones (Sec. Pol. 3ª, 10ª), San José (Sec. Pol. 3ª, 9ª) y Florida (Sec. Pol. 13ª).

#### Establecimientos

Se asignaron de manera sesgada dieciséis establecimientos distribuidos en las cuatro zonas establecidas. En base a datos suministrados por PROLESA, se ubicaron por zona cuatro establecimientos distanciados entre sí al menos en 5 Km. y con los siguientes antecedentes históricos (dos últimos años) de tratamiento de grupos insecticidas (cuadro 1):

- Piretroide
- Fosforado
- Mezcla
- Alternado, alterna anualmente un fosforado y un piretroide

### CRONOGRAMA DE TRABAJO

- La captura de moscas se realizó sobre animales en producción y ganado seco de la raza Holando, utilizando una red entomológica, una trampa de insectos y dispositivos para realizar la transferencia de los ejemplares a las placas de petri.

- La técnica utilizada para el diagnóstico in vitro es la de Sheppard y Hinckle. (5)

- Discos Whatman Nº 1 de 9 cm de diámetro, impregnados con diluciones crecientes de cipermetrina y diazinon (grado técnico), fueron ubicados en placas de petri plásticas previamente preparadas para la prueba.

- El tiempo empleado desde el inicio de la captura hasta el plaqueado (aproximadamente 30 moscas), no fue mayor a los 30 minutos. La lectura fue realizada a las 2 horas, considerándose ejemplares muertos a los que no se movían o estaban visiblemente afectados.(6)

- La DL50 para cada uno de los ensayos fue hallada utilizando el programa POLO-PC (LeOra 1987).

- El factor de resistencia se obtiene relacionando las DL50 de la muestra problema con la cepa de referencia susceptible del laboratorio Knipping-Bushland de Kerrville-EEUU.

- A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de varianza (ANOVA) para ver si hay diferencias significativas entre los valores promedio de los diferentes tratamientos. Se convalida el valor ANOVA mediante el test de Bartlett.

**Cuadro 1.** Distribución de establecimientos muestreados por zona de acuerdo a los antecedentes

Establecimiento	Propietario	Ubicación	Antecedentes
1	Mackinnon	Canelones – Cerillos	Piretroide
2	Maya	Canelones – Cerillos	Fosforado
3	Salgado	Canelones – Cerillos	Mezcla
4	Abioso	Canelones – Cerillos	Alternado
5	Falero	Canelones – San Ramón	Piretroide
6	Chury	Canelones – San Ramón	Fosforado
7	Fernandez	Canelones – San Ramón	Mezcla
8	Marrero	Canelones – San Ramón	Alternado
9	Chiappa	San José - Chamizo	Piretroide
10	Mascheroni	San José - Chamizo	Mezcla
11	Montesano	San José - Chamizo	Mezcla
12	Don Alfredo	San José - Chamizo	Alternado
13	Labandera	Florida - Goñi	Piretroide
14	Revello	Florida - Goñi	Fosforado
15	Goitiño	Florida - Goñi	Mezcla
16	Mesa	Florida - Goñi	Alternado

**Cuadro 2.** Resultados de las DL 50 y factor de resistencia (F.R.) hallados para cipermetrina (cip.) y diazinon (diaz.) por establecimiento.

Fecha	Antecedentes	Ubicación	DL50 cip.	F.R. cip.	DL50 diaz.	F.R.diaz.
5-12-02	Piretroide	Canelones – Cerillos	18,6	93	0,48	0,48
5-12-02	Fosforado	Canelones – Cerillos	14,4	72	0,28	0,28
4-12-02	Mezcla	Canelones – Cerillos	20	100	0,86	0,86
4-12-02	Alternado	Canelones – Cerillos	18,1	90,5	0,81	0,81
10-12-02	Piretroide	Canelones – San Ramón	21,2	106	0,44	0,44
10-12-02	Fosforado	Canelones – San Ramón	13,7	68,5	0,37	0,37
10-12-02	Mezcla	Canelones – San Ramón	11,8	59	0,27	0,27
10-12-02	Alternado	Canelones – San Ramón	13,7	68,5	0,31	0,31
17-12-02	Piretroide	San José - Chamizo	21,1	105,5	0,56	0,56
17-12-02	Mezcla	San José - Chamizo	12	60	0,57	0,57
17-12-02	Mezcla	San José - Chamizo	6,7	33,5	0,32	0,32
17-12-02	Alternado	San José - Chamizo	8,1	40,5	0,22	0,22
19-12-02	Piretroide	Florida - Goñi	2,45	12,3	0,14	0,14
19-12-02	Fosforado	Florida - Goñi	7,2	36	0,11	0,11
19-12-02	Mezcla	Florida - Goñi	10	50	0,11	0,11
19-12-02	Alternado	Florida - Goñi	11,2	56,5	0,27	0,27

El valor referencia (Laboratorio Kerville - EEUU) DL 50 cipermetrina: 0,2

El valor referencia (Laboratorio Kerville - EEUU) DL 50 diazinon: 1

## RESULTADOS

En una primera observación (cuadro 2), las poblaciones estudiadas se comportaron con una tendencia similar, altamente resistentes a la cipermetrina y sensibles al diazinon.

**Estos valores fueron sometidos al estudio estadístico y merecen los siguientes comentarios:**

### 1. Comportamiento frente a la cipermetrina

No existen diferencias de comportamiento entre los tratamientos (antecedentes de drogas utilizadas), por lo que no hay un efecto del uso de las drogas en relación a la resistencia a la cipermetrina. Se podría estar frente a una población homogénea de H. irritans. En segunda instancia se analizan los resultados entre las zonas y si bien existe la misma tendencia de resistencia, hay un comportamiento significativamente diferente en una de las regiones. Comparando las poblaciones analizadas de Cerrillos y de Florida, ésta última es menos resistente.

### 2. Comportamiento frente al diazinon

Con respecto al órgano fosforado, el comportamiento de sensibilidad entre los tratamientos fue similar, resultando ser todas las poblaciones sensibles al diazinon. No se encontró diferencias significativas e igualmente que para el análisis de la cipermetrina, la población se comportó como homogénea.

Así mismo, se corrobora una mayor sensibilidad con diferencias significativas en la población de Florida comparada con la de los Cerrillos.

#### Discusión - Conclusión

· Si bien los resultados son contundentes, su interpretación debería ser cautelosa, ya que fueron obtenidos a partir de pruebas in vitro y se deberían complementar con estudios in vivo de eficacia.

· Se debe tener en cuenta, que los resultados fueron obtenidos en base a la utilización de dos principios activos (cipermetrina y diazinon) los que no necesariamente se pueden repetir con otras formulaciones del mismo grupo químico.

· A nivel internacional existen varias referencias relativas al factor de resistencia límite (0,8 a 2), donde la eficacia de los productos comienza a disminuir. Schmidt et al utilizaron un kit de diagnóstico in vitro y asignaron

**Cuadro 3:** Valores de FRs para cipermetrina y diazinon en la zona centro este

Ubicación	Establecimiento	FR cipermetrina	FR diazinon
Referencia	Kerville (USA)	1	1
Treinta y Tres	Arrozal	47.5	0,3
Cerro Largo	El manantial	129	0,4
Cerro Largo	Las Baskitas	434	0,2
Cerro Largo	Barceló	974	0,2
Florida	Sto Tomás	135	0,8
Florida	San Luis	364	0,5

(Fuente: Marques L. et al 1997)

el factor de resistencia límite igual o mayor de 3. (7). De acuerdo a este indicador se está frente a una población resistente a la cipermetrina.

Los resultados concuerdan con otros FRs hallados en el país (cuadro 3).

En 1999 y 2001, resultados similares fueron encontrados en poblaciones de Salto y Tacuarembó (Cuore, U. y Solari, M.A. sin publicar, 2001).

A nivel regional, en Argentina, se hallaron valores de DL50 de 26 a 3560 veces más alta que la cepa de referencia para la cipermetrina (8). En Brasil, analizaron 19 poblaciones de campo, las cuales eran sensibles al diazinon (9), mientras que en otro estudio se encontró resistencia a la cipermetrina con valores de FR 34 a 95.9. (10)

Dado que la población estudiada en el presente trabajo se comportó igual, indistintamente a los tratamientos previos, se podría asumir que cuando ingresó la mosca al país, ya estaba genéticamente seleccionada para resistencia a piretroides. Esta información debería ser corroborada utilizando técnicas de biología molecular. (4)

Existe la posibilidad de que sub. poblaciones de *H. irritans* tengan tendencias de sensibilidad diferentes como en el caso de Florida. A nuestro juicio sería interesante confirmar estos resultados, pues de no haber influido factores de manejo (sistema de producción, ambiental y/o climático), sería importante mapear las poblaciones.

En una segunda etapa se plantea determinar a nivel nacional, la interpretación de los valores de resistencia obtenidos con diferentes técnicas de diagnóstico in vitro y en consecuencia, predecir la eficacia de los productos en el campo.

**Participaron por PROLESA, Drs. Ana Curbelo, Walter Pandolfi, Gustavo Rivas, Sandra Reberon.**

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los productores que cedieron sus rodeos para la captura de muestras, a las industria farmacéutica (Laboratorio Uruguay, Ciencia, Bayer, Grapiollo & Cía, Rosembuch, Santa Elena, Intervet, Cibeles, Konig, MC Asociados, Elanco y Universal Lab), por el aporte técnico - económico y a la Directiva de PROLESA por el apoyo a la investigación a nivel nacional.

## SUMMARY

A susceptibility profile on *H. irritans* was carried out

with Sheppard and Hinckle test 1987. Samples from 16 farmers were assigned according to previous treatment, being representative of 4 different areas of the traditional dairy farm zone.

In vitro tests were performed on cypermethrin and diazinon as depicting synthetic pyrethroids and organophosphates groups respectively.

The whole population was found resistant to cypermethrin and susceptible to diazinon (with a resistant factor from 12,3 to 105,5 and 0,11 to 0,86 respectively). Previous treatment did not influence these results.

Even though resistant factor values showed variations, the behaviour was homogeneous.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carballo, M. et al. (1994) Introducción, propagación y situación inicial de *Haematobia irritans* en el Uruguay. *Veterinaria*, vol 29 (124) octubre - diciembre.
- Marques, L. et al. (1997) Primer diagnóstico de resistencia de *Haematobia irritans* (diptera: muscidae) en Uruguay. Determinación de susceptibilidad a la cipermetrina y al diazinon. *Veterinaria*, vol 33 (133) enero - marzo.
- The FAO Working Group and FAO-Industry Contact Group Annual Meeting, DILAVE "Miguel C. Rubino", MGAP, Montevideo, Uruguay, 2002.
- Guerrero, F. et al. (2002) Use of the Polymerase Chain reaction to investigate the Dynamics of the pyrethroid resistance in *Haematobia irritans irritans* (Diptera Muscidae). *J. Med. Entomol.* 39(5):747-754.
- Sheppard, D.C.; Hinckle, N.C. (1987) A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. *Journal of Agricultural Entomology*, 4:1. 87-89.
- FAO guidelines for resistance management and integrated parasite control in ruminants. FAO Working Group on Parasite Resistance (to be published). 2002.
- Schmidt, C.D. et al. (1985). Resistance of horn flies (Diptera: Muscidae) to permethrin and fenvalerate. *Journal of Economic Entomology*, 78, 402-406.
- Guglielmo, A. et al (2001) Survey conducted in Argentina and southern Brazil. *Vet. Paras.*, 2001.
- Barros, T. et al. (2002) Susceptibility to diazinon in Central Brazil. *Mem. Inst. Osw. Cruz*.
- Martins, J.R. (2002) Pruebas in vitro y diagnóstico de resistencia de *H. irritans*. Curso Taller Regional FAO - DILAVE "Miguel C. Rubino".