

## Intoxicación por larvas de *Perreyia flavipes* en bovinos y ovinos, caracterización de la enfermedad y biología del insecto

Primer Premio Academia Nacional de Veterinaria 1997

Fernando Dutra<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se describe la intoxicación por larvas de *Perreyia flavipes* (Hymenoptera; Pergidae; Perreyiinae) en bovinos y ovinos. Entre junio y octubre de 1993, 1994 y 1995, se observaron 46 brotes de una enfermedad altamente letal en la región central del Uruguay. Durante 1995 murieron más de 1000 bovinos y mortalidades de hasta 28% ocurrieron en algunos establecimientos. Los ovinos fueron afectados con menor frecuencia que los bovinos. La mayoría de los animales eran encontrados muertos. Los animales con signos clínicos presentaban debilidad, depresión y temblores musculares, otros excitación y agresividad, muriendo la mayoría antes de los 2 días. Ictericia y fotosensibilización se observaron en los bovinos que sobrevivían por más días. Las lesiones macroscópicas y microscópicas se caracterizaron por necrosis hepática aguda, periacinar o masiva, y edema de la vesícula biliar. También se observó hemorragias de las membranas serosas, ascitis y contenido seco de omaso y recto. Restos de larvas de *P. flavipes* se encontraron en los pre-estómagos de los 10 bovinos necropsiados. El diagnóstico se confirmó por la intoxicación experimental de 3 ovinos y 2 bovinos, con dosis de 9 a 40 g de larvas frescas por kg de peso vivo. Los estudios epidemiológicos mostraron una correlación negativa ( $P < 0.05$ ) entre la dotación animal y la morbilidad. En los 3 años en que ocurrió la enfermedad, las lluvias fueron abundantes en la primavera y verano y escasas en otoño e invierno. Los mapas de superposición mostraron que los establecimientos afectados se localizaban en suelos de Cristalino, entre 100 a 300 metros de altitud, donde el crecimiento de las pasturas naturales es muy sensible a las lluvias, la dotación animal y la relación lanar/vacuno. Se describe el ciclo biológico de *Perreyia flavipes*. Los adultos se observaron entre febrero y marzo. Las hembras mueren inmediatamente luego de la postura, viviendo entre 16 a 30 horas. Los huevos se depositan en grupos de 200 a 700, en el suelo, abajo de la vegetación y eclosionan en 27-70 días. La falta de humedad destruye los huevos en 10 días. La presencia de vegetación en descomposición es importante para la alimentación de las larvas jóvenes. Las larvas desarrolladas se alimentan de pasto verde, pasto seco y heces bovinas secas; son de color negro y presentan hábito gregario, desplazándose sobre la pastura en grupos compactos de hasta 188 individuos. En los meses de septiembre y octubre penetran hasta 10 cm bajo el suelo para pupar. El acúmulo de pasturas en el otoño favorece la sobrevivencia de gran número de larvas y explica la ocurrencia de los brotes.

**Palabras clave:** *Perreyia-flavipes* Pergidae necrosis-hepática-aguda bovinos ovinos.

### SUMMARY

Intoxication by a sawfly larvae identified as *Perreyia flavipes* (Hymenoptera; Pergidae; Perreyiinae), is reported in Uruguay. From June to October of 1993, 1994 and 1995, 46 outbreaks of a highly lethal disease occurred in cattle and sheep in the central region of the country. During 1995 total losses of cattle exceeded 1000. The reported mortalities were 1.6%, 7.0% and 1.3% for calves, yearlings and adults, respectively, but mortalities up to 28% occurred on some farms. Sheep were less frequently affected than cattle. Most animals were found dead. Cattle with clinical signs showed weakness, muscular tremors, depression, stupor and death. Others became highly excited and aggressive. Most affected cattle died in two days. Jaundice and mild photosensitization were also observed in some cattle that survived up to 7 days. Gross and microscopic lesions were characterized by severe peri-acinar or massive necrosis of hepatocytes with prominent edema of the gallbladder wall. Edema, ecchymosis and petechiae on serous membranes, ascites and dry content of the omasum and rectum were also observed. Invariably larval body fragments and heads of *P. flavipes* were found in the forestomach of 10 cattle necropsied. Diagnosis of sawfly poisoning was confirmed by experimental poisoning of three sheep and two calves with 9 to 40g of sawfly larvae per kg body weight. Epidemiological studies showed a significant ( $P < 0.05$ ) negative correlation between stocking rate and morbidity. During the 3 years of occurrence of the disease the rainfalls were excessive in spring and summer and scarce in autumn and winter. Spot maps showed that affected farms were located on superficial Crystalline soils, between 100 and 300 meters of altitude, where the growth of native grasses is very sensitive to summer rainfall. The life history of *Perreyia flavipes* is also described. Adults were seen in February and March, soon after the summer rains. Females died immediately after oviposition, living only 16-30 hours. The eggs are deposited in clusters, of 100 - 500 eggs each, on the soil, under dead vegetation. Egg hatching occurs in 27-70 days. Dead and decaying vegetation in autumn are important for eggs and young larvae to survive. Last instar larvae feed either on green, dry grass leaves or dry cattle feces. They have an unusual gregarious habit, crawling along the ground in compact masses containing up to 188 larvae, each larva about 2.5 cm long and of glossy black in color. In September and October pupation take place at 0-10cm under the soil surface. The accumulation of senescent vegetation in autumn probably explains the large increase of larvae population and the occurrence of outbreaks.

**Key Words:** sawfly-larval-poisoning *Perreyia-flavipes* Pergidae acute-liver-disease cattle-poisoning

<sup>1</sup>DILAVE "Miguel C Rubino", Laboratorio Regional Este Rincón 203. Treinta y Tres, Uruguay

## INTRODUCCIÓN

La intoxicación por larvas de mosca sierra ("sawfly") es una enfermedad hepatóxica aguda de los bovinos y ovinos, caracterizada porque las toxinas responsables se encuentran presentes en las larvas de insectos del orden Hymenoptera. En Australia, donde la intoxicación es causada por la ingestión de la larva de *Lophyrotoma interrupta* (Pergidae), los brotes están limitados a aquellos distritos de Queensland donde existen grandes bosques de *Eucalyptus melanophloia*, el árbol huésped de la larva.<sup>12</sup> La enfermedad es un serio problema dado que grandes pérdidas de animales pueden ocurrir en cada brote. En Australia, los brotes de intoxicación se presentan casi todos los años, siendo la enfermedad una causa importante de pérdidas económicas para la ganadería de la región. El costo de la enfermedad, calculado por el número de muertes que ocurren, la menor dotación que resulta y las medidas de control usadas, se ha estimado en 1.100.000 dólares Australianos anuales (valores de 1981).<sup>6</sup>

Históricamente, la segunda mosca sierra reportada como tóxica fue *Perreyia lepida* (Pergidae). Importantes pérdidas de cerdos han sido atribuidas a este insecto en Río Grande del Sur y Santa Catarina, Brasil, donde las larvas se conocen popularmente con el nombre de "mata porco". Las larvas son de color negro, miden hasta 2.5 cm de largo y muestran un inusual hábito gregario. En los días fríos y nublados del invierno grupos compactos de larvas se observan desplazándose sobre la pastura, momento en el cual pueden ser ingeridas por los cerdos.<sup>20</sup> No se conoce los hábitos alimentarios de esta especie, aunque las larvas han sido vistas alimentándose de hojas de gramíneas y de plantas arbustivas como *Eryngium* sp ("cardilla"), así como en heces secas bovinas.<sup>5, 20</sup>

En Dinamarca se describió por primera vez la intoxicación por larvas de la mosca sierra *Arge pullata* (Argidae), en el cual murieron 50 de un total de 250 ovinos mantenidos sobre pasturas donde habían bosques de abedules (*Betula pendula*, Betulaceae), fuertemente infestados con larvas de *Arge pullata*.<sup>23</sup>

Insectos adultos identificados como *Perreyia flavipes* (Pergidae) han sido reportados en Argentina, en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos, y en Brasil en los estados de Río Grande del Sur, Santa Catarina, Espírito Santo y Distrito Federal. El adulto es de color totalmente negro que contrasta con patas de color naranja.<sup>21</sup> No existen estudios sobre la biología y el ciclo biológico de *Perreyia flavipes*. Las larvas, previamente desconocidas, son de color negro, miden hasta 2.5-3cm de largo y tienen el mismo hábito gregario de desplazamiento que las larvas de *Perreyia lepida*. Entre junio y septiembre, período de máxima actividad, grupos de larvas de aproximadamente 20-50 g de peso promedio se observan desplazándose sobre la pastura, formando una columna ordenada de hasta 15-20 cm de largo y 8 cm de ancho (Figura 1).

En este trabajo se describe por primera vez la epidemiología, sintomatología y la patología de casos espontáneos de intoxicación por larvas de *Perreyia flavipes* ocurridos en bovinos y ovinos en Uruguay. Se describen también la obtención de adultos en el laboratorio para su identificación, así como el ciclo biológico, los hábitos alimenticios de las larvas y la dinámica poblacional de la especie.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Los insectos y su vegetación huésped

Los insectos del orden Hymenoptera cuyas larvas son tóxicas para los anima-



Figura 1. Grupo de larvas de *Perreyia flavipes* moviéndose sobre la pastura. Durazno, Uruguay, 1995.

les pertenecen a las familias Pergidae (*Lophyrotoma interrupta*, *Perreyia lepida*, y *Perreyia flavipes*) y Argidae (*Arge pullata*). La familia Pergidae es originaria de Australia y América del Sur y secundariamente se ha extendido en América del Norte. Se conocen alrededor de 150 especies de moscas sierras de la familia Pergidae en Australia y más de 250 en América del Sur. Especies de la familia Argidae se encuentran presentes tanto en Europa como en América del Sur.<sup>21</sup>

*Lophyrotoma interrupta* (Pterygophorinae; Pergidae) (Figura 2) es nativa de Australia, donde su distribución geográfica sigue casi con exactitud la de su principal árbol huésped, el *Eucalyptus melanophloia*.<sup>6,12</sup> Ella ha sido reportada principalmente en Queensland, Nueva Gales del Sur, Victoria, Australia del Sur y Tasmania. En la literatura veterinaria se la ha conocido también con los nombres de *Pterygophorus analis* (Costa), *Pterygophorus interrupta* (Klug) y *Platysectra interrupta*.<sup>12,19</sup> *L. interrupta* presenta una gran variedad de formas, por lo que posteriores estudios podrían demostrar varias especies separadas dentro de la actual, de las cuales solamente una resulte ser la causa de la enfermedad. Dado que no existen claves para las larvas, la obtención de adultos es imprescindible para la correcta identificación de la especie. Sin embargo, es bastante difícil obtener moscas adultas en el laboratorio, aún alimentando numerosas larvas bajo condiciones controladas. Esta situación determina que la identificación de las larvas en el campo sea solo tentativa, lo que ha dificultado

los estudios sobre la distribución y dinámica poblacional de este insecto.<sup>12</sup>

La mosca adulta tiene el tórax de color azul oscuro con los lados amarillos, mientras el abdomen es amarillo con pequeñas manchas azules. Las patas son de color amarillo pálido, excepto en la base donde son azul oscuro. Como otros Hymenoptera, el adulto tiene 4 alas,



**Figura 2.** Larvas de *Lophyrotoma interrupta* sobre hojas de *Eucalyptus melanophloia* Queensland, Australia. (Foto cedida por el Dr. Peter Oelrichs).

que son oscuras y aparecen negras cuando están totalmente plegadas. La hembra mide 15-20mm de largo y sus antenas son negras y segmentadas similar a un collar de cuentas. El macho es fácilmente reconocible por ser más pequeño (10mm) y por sus antenas típicamente pectinadas, similares a una pluma.<sup>4,14</sup> *L. interrupta* tiene una definitiva preferencia por cierto tipo de vegetación, siendo el *Eucalyptus melanophloia* su principal árbol huésped.<sup>12</sup> La mayor población de *E. melanophloia* crece entre 150 y 450 m sobre el nivel del mar en la costa este de Australia (22°-33° S).<sup>6</sup> El hallazgo de larvas en otras especies de árboles ocurre únicamente luego de haber consumidas totalmente las hojas de los *E. melanophloia* y el traspaso consiguiente de las larvas hambrientas a los árboles vecinos.<sup>4</sup> En áreas muy infestadas, *E. melanophloia* totalmente desnudos de hojas pueden ser vistos a lo largo de varios kilómetros a fines del invierno.<sup>12</sup> En esas condiciones, las larvas han sido vistas alimentándose, también, en el *Eucalyptus crebra*, *E. fibrosa*, *E. rostra*, *E. gummifera*, *E. mollucana*, *E. populnea* y el *E. scabra*, e incluso en árboles tan diferentes como la *Acacia melanoxilum*. Sin embargo, *L. interrupta* depende bastante estrechamente del *E. melanophloia* ya que la hembra deposita los huevos sólo en esta especie.<sup>12</sup>

*Arge pullata* (Argidae) (Figura 3) fue reportada en 1974 en el sudeste de Dinamarca, donde se cree fue introducida desde las islas ubicadas sobre el mar Báltico.<sup>9,23</sup> Las larvas de *Arge pullata* mues-

tran, también, una definitiva preferencia por cierto tipo de árboles, siendo su huésped específico el abedul (*Betula pendula*).<sup>23</sup> Los bosques de abedules son comunes en las tierras marginales de Dinamarca donde se practica la cría extensiva de ovinos y bovinos.<sup>18</sup>

*Perreyia lepida* es un Hymenoptera perteneciente a la familia Pergidae,

subfamilia Perreyiinae. Esta subfamilia se encuentra exclusivamente en América del Sur. La taxonomía de este grupo se basa casi exclusivamente en los individuos machos, que son colectados más frecuentemente que las hembras, las cuales son más grandes y robustas que los machos, de hábitos más sedentarios y de poco vuelo. *P. lepida* ha sido reportada en Argentina (Corrientes), Paraguay, Brasil (Matto Grosso, Paraná, Río Grande del Sur, Santa Catarina, Río de Janeiro, San Pablo, Pernambuco, Espírito Santo), Bolivia y Venezuela.<sup>21</sup> La hembra mide 1.1 cm de largo y las antenas, los tarsos y la cabeza son de color negro. Esta especie tiene multitud de sinónimos (*Lophyroides dorsuaria* y *Paraperreyia dorsuaria*, entre otros) atribuible a la variación de color que presenta, especialmente la extensión del rojo y blanco en el tórax.<sup>21</sup> Esta es la única especie de *Perreyia* que las antenas del macho son segmentadas simples, sin ningún tipo de proyecciones en los segmentos (no pectinadas).<sup>20</sup> A diferencia de las especies anteriores, no se conocen los hábitos alimentarios de *P. lepida* ni los lugares donde la hembra realiza la postura de los huevos. La mosca adulta ha sido

observada sobre pequeñas plantas arbustivas como *Senecio* sp., *Baccharis* sp. y *Eryngium* sp., y se ha sugerido estas puedan ser las plantas huéspedes de los primeros instares de las larvas.<sup>20</sup> Las larvas más grandes parecen alimentarse de hojas de gramíneas,<sup>5</sup> así como de heces secas bovinas.<sup>20</sup>

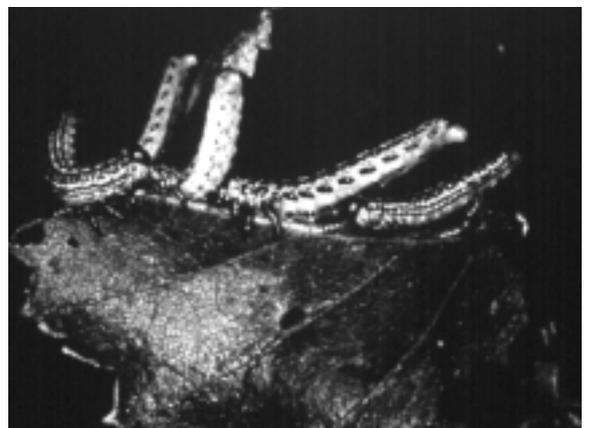
### Ciclo biológico de las moscas sierras tóxicas

Como en la mayoría de los insectos, se reconocen 4 diferentes fases en el ciclo biológico de las moscas sierras: huevo, larva, pupa y adulto.

#### *Lophyrotoma interrupta*

Los adultos aparecen inmediatamente luego de las lluvias de fines de verano y su periodo de actividad se extiende de febrero hasta abril (Hemisferio Sur). Tienen una vida muy corta y son muy susceptibles a las bajas temperaturas, causando unas pocas horas de frío la muerte de gran cantidad de individuos.<sup>4</sup>

La hembra deposita los huevos en las hojas jóvenes pero bien formadas del *E. melanophloia*. Los huevos son de color verde pálido y de forma oblonga. Cada hembra deposita hasta 12 huevos en una sola hoja, uno al lado del otro, en pequeños cortes que realiza en el borde de la misma con su órgano de oviposición en forma de sierra. El periodo de incubación de los huevos es de aproximadamente



**Figura 3.** Larvas de *Arge pullata* sobre hojas de *Betula pendula*, Dinamarca. (Foto cedida por el Dr. Peter Oelrichs).

3 semanas, pero la falta de humedad retarda la eclosión y los destruye en grandes cantidades si se prolonga.<sup>4</sup>

Las larvas son de color verde pálido o amarillo, con numerosas manchas circulares blancas en el dorso, mientras la cabeza es de color rojo oscuro o marrón; el cuerpo se adelgaza paulatinamente hacia posterior, finalizando en un apéndice alargado semejante a una espina de color rojizo (Figura 2). Inmediatamente luego de eclosionar, las larvas forman pequeños grupos o colonias y comienzan a alimentarse en los bordes de las hojas donde nacieron. Las larvas se alimentan vorazmente, pudiendo unas cuantas larvas grandes consumir una hoja en pocas horas. A medida que las larvas crecen, los grupos tienden a dispersarse y las larvas más grandes pueden encontrarse entonces aisladamente. En condiciones normales, su período de desarrollo se extiende desde julio a septiembre (invierno, hemisferio sur), finalizando su crecimiento entre agosto y comienzos de octubre. Las larvas que completan su desarrollo, pierden su apéndice posterior y descienden al pie de los árboles para pupar. La exposición directa al sol a medida que las hojas de los árboles son consumidas, y el aumento de temperatura de inicios de primavera se cree estimulan el descenso de las larvas.<sup>4, 12, 14</sup>

Las larvas pupan bajo la superficie del suelo, generalmente al pie del mismo árbol que les sirvió de alimento. La larva evoluciona a la fase de prepupa, produce una secreción viscosa que adhiere las pequeñas partículas de tierra, y forma una cáscara oval, compacta, de aspecto coriáceo. La profundidad a la que ocurre la pupación depende en gran medida del tipo de suelo. En suelos arenosos, las pupas pueden encontrarse individualmente hasta 25 cm bajo el suelo, mientras que en suelos compactos se encuentran más superficialmente, generalmente agrupadas o adheridas unas a otras.<sup>4, 14</sup> La mayor parte del tiempo bajo tierra transcurre en el estado de prepupa, estadío en el que puede incluso permanecer por más de un año a la espera de condiciones favorables para eclosionar.<sup>12</sup> Eventualmente la prepupa evoluciona a la fase de pupa, formándose entonces las alas y las otras estructuras de la fase adulta.

Una vez formado, el adulto rompe la cáscara que lo protegía y se libera a través de una galería que horada en el suelo.<sup>4, 14</sup>

#### *Arge pullata*

El ciclo biológico de *Arge pullata* es muy similar al de *L. interrupta*. Sin embargo, debido al largo invierno del norte de Europa, el período de permanencia de las pupas bajo el suelo es más prolongado, permitiendo que los adultos y las larvas tengan su período de actividad en los meses más benignos de verano.<sup>18</sup> Los adultos emergen en junio (verano, hemisferio norte), y la hembra deposita los huevos en los bordes de las hojas jóvenes de los abedules. Las larvas eclosionan en julio y agosto y son de color amarillo con líneas negras punteadas en el dorso. Ellas se alimentan hasta fines de setiembre, cuando descienden al suelo para pupar bajo la superficie del suelo, cerca del árbol que les sirvió de alimento.<sup>18, 23</sup>

#### *Perreyia lepida*

Los adultos emergen entre noviembre y abril. No existe información sobre el lugar de postura de las hembras ni sobre los hábitos de los primeros instares de las larvas.<sup>20</sup>

Las larvas desarrolladas son de color negro, miden hasta 2.5 cm de largo y muestran un inusual hábito gregario. Entre junio y septiembre, grupos de larvas se observan desplazándose sobre la pastura, formando una columna alargada. Los grupos son particularmente numerosos los días lluviosos y nublados. Esta forma tan característica de desplazamiento es probablemente usado con éxito por la especie para buscar más alimentos. Hábitos de desplazamiento similares han sido reportados en otros miembros de la familia Pergidae en América del Sur, incluyendo a la mosca sierra *Syzygonia cyanocephala* en Río de Janeiro, Brasil, y a una especie no identificada, perteneciente posiblemente a la subfamilia Perreyiinae, observadas en Guyana y Bolivia. Las larvas de esta última se desplazaban sobre el suelo en grupos compactos de unos 200 individuos, de forma elíptica-elongada y de aproximadamente 25x10x5cm.<sup>21</sup>

La larva totalmente desarrollada sufre una metamorfosis, en la cual la piel se rompe en una abertura antero-posterior que alcanza al primer segmento del tórax. Por esta abertura sale la prepupa, de color blanco-amarillo y de 12,5 mm de largo. Una vez bajo la superficie del suelo la prepupa expele una sustancia clara y viscosa, con la que adhiere pequeñas partículas de tierra y forma una cáscara de protección, de textura coriácea y color negro. La pupa se forma aproximadamente 5 cm bajo la superficie del suelo, donde pasa la mayor parte del tiempo en la fase de prepupa. En un período de alrededor de 6 meses la prepupa se transforma en pupa y 15 días después emerge el insecto adulto.<sup>20</sup>

### La intoxicación por larvas de mosca sierra

#### *Epidemiología*

La intoxicación por larvas de *Lophyrotoma interrupta* ha sido observada desde fines del siglo XIX en Queensland, Australia. Los bovinos se introdujeron en esta región en 1862 y la primera sospecha de casos se reportó en 1887, realizándose su confirmación definitiva en 1911.<sup>12</sup> Brotes de la enfermedad se han comunicado periódicamente desde entonces, registrándose casos en 1911, 1913, 1914, 1917, 1921, 1922, 1924, 1926-28, 1931, 1936-38, 1940, 1954, 1955, 1959, 1961-63 y en 1972-81.<sup>6, 12</sup>

La enfermedad es un serio problema en la región dado que numerosas pérdidas de animales ocurren en cada brote. En 1911 se reportaron 100 muertes de bovinos, 200 en 1913, 556 en 1914, "miles" en 1921, 60 en 1954 y 150 en 1962.<sup>12</sup> En 1979 más de 1800 bovinos murieron en 16 propiedades afectadas, y pérdidas de más de 800 cabezas se presentaron en 1980 en un sólo establecimiento.<sup>14</sup> Un estudio más reciente reportó 5254 animales muertos en 37 predios entre 1972-81, siendo 1975 y 1979 los peores años, en los cuales murieron 956 y 1895 bovinos, respectivamente.<sup>6</sup>

Casos espontáneos de la enfermedad en bovinos y ovinos se han observado únicamente en los distritos ganaderos de Maranoa, Warrego y Leichhardt, en áreas donde existen grandes bosques de

*Eucalyptus melanophloia*.<sup>4,6</sup> Hay una relación directa entre la intoxicación y la densidad de árboles de *E. melanophloia*. Dadswell y col. (1985) reportaron casos de enfermedad en el 22%, 50% y 65% de los predios con densidades de *E. melanophloia* de 0-30%, 30-60% y 60-100%, respectivamente. Los mismos autores mencionan también que la enfermedad nunca fue observada en otros distritos donde se encuentran larvas de *L. Interrupta*, ni en el 52% de los predios de los distritos donde la intoxicación está presente.<sup>6</sup> En base a esto se ha sugerido que algunas áreas pueden catalogarse de seguras, aún cuando existan árboles de *E. melanophloia* infestados.<sup>14</sup>

La mayoría de las muertes ocurren entre julio y comienzos de octubre.<sup>6</sup> La enfermedad se presenta en años de infestación severa, cuando las larvas consumen totalmente las hojas de los eucaliptos antes de madurar lo suficiente para pupar. Las larvas hambrientas descienden prematuramente en busca de más alimentos, y se acumulan en grandes cantidades al pie de los árboles en grupos de hasta 60 cm de largo y 30 cm de profundidad.<sup>4, 12</sup> Muchos de estos grupos de larvas mueren y se transforman en una masa gelatinosa, de color negro y olor desagradable. Estas masas de larvas, vivas o muertas y en descomposición, son buscadas e ingeridas ávidamente por el ganado. La competencia entre los bovinos por este tipo de alimento es intensa, al punto de observarse los animales luchando entre árbol y árbol para obtenerlo.<sup>4</sup> No se conoce la razón de la avidez que muestran los animales por las larvas. Se ha sugerido una deficiencia de fósforo y/o proteínas para explicar esa atracción, especialmente teniendo en cuenta que los brotes ocurren en un período del año cuando la pastura está seca y madura.<sup>4</sup> El alto contenido de proteína cruda de las larvas, de hasta 40%, podría hacerlas aún más atractivas para los animales; sin embargo la suplementación con fósforo, calcio y proteínas ha sido ineficaz para prevenir los brotes, siendo lo más probable que los animales ingieran las larvas simplemente porque ser palatables.<sup>12</sup> Los animales trasladados de áreas donde ocurren brotes a las áreas donde existen larvas, pero no brotes de enfermedad, pierden el hábito de ingerir

las larvas. Esto sugiere la existencia de un factor químico en las larvas del área problema que las hace palatables para el ganado.<sup>14</sup>

No se conocen los factores que regulan la dinámica poblacional del insecto y que pudieran servir para predecir los años de gran cantidad de larvas. No se ha encontrado ninguna relación entre la pluviosidad anual o mensual y la ocurrencia de la enfermedad. De 21 brotes examinados, 13 ocurrieron en años de pluviosidad normal, 4 en años secos y 4 en años lluviosos.<sup>6</sup> Otras variables que podrían influenciar la población de larvas, tales como la temperatura y humedad del suelo o la tasa de infección por hongos, no fueron examinados.<sup>6</sup>

Casos espontáneos de intoxicación por larvas de *Arge pullata* se describieron en Dinamarca, en ovinos<sup>23</sup> y en un perro<sup>3</sup>. Experimentalmente la toxicidad de *Arge pullata* se comprobó también en cabras.<sup>23</sup> Al igual que los brotes en bovinos en Australia, el brote en ovinos se caracterizó por una alta mortalidad, muriendo 50 borregos y ovejas de un total de 250 en un período de 4 días. La enfermedad ocurrió en la isla de Sjaelland, sobre el mar báltico, luego de que los animales fueran movidos a un potrero donde existían gran cantidad de árboles de abedules (*Betula pendula*), fuertemente infestados con larvas de *A. pullata*. El brote se produjo luego que las larvas consumieron totalmente las hojas de los abedules y descendieron de los árboles en busca de más alimentos.<sup>23</sup> A diferencia de *L. interrupta*, en Dinamarca las larvas de *Arge pullata* no se congregan en grandes masas al pie de los árboles, sino que permanecen dispersas entre la pastura en gran número, aumentando así el riesgo de exposición de los animales.<sup>17</sup> En Dinamarca, todas las larvas de *A. pullata* son tóxicas, no existiendo evidencia de áreas "tóxicas" y "no tóxicas" como en Queensland.<sup>17</sup>

Hasta la introducción de los métodos más modernos de producción porcina, las larvas de *P. lepida* causaban grandes pérdidas económicas a los criadores de cerdos de Río Grande do Sul y Santa Catarina, Brasil. Las muertes se producían en los días fríos y lluviosos o nublados de invierno, cuando aumentan considerable-

mente el número de grupos de larvas desplazándose sobre la pastura.<sup>5, 20</sup> En tales circunstancias, los cerdos ingieren las larvas que causan la muerte de numerosos animales. Debido a esto, las larvas son conocidas popularmente en la región con el nombre de "mata porco".<sup>20</sup>

### Signos Clínicos

Clínicamente los animales intoxicados con larvas de *Lophyrotoma interrupta* presentan síntomas variables y poco específicos. Algunos muestran excitación y fasciculaciones musculares, seguidos por convulsiones y agresividad. Otros pierden estado corporal rápidamente y presentan debilidad, acentuada depresión del sensorio y temperatura elevada, mayor a 40,2 °C, un hallazgo poco frecuente en una enfermedad tóxica.<sup>4, 13</sup> La mayoría de los animales mueren dentro de las 48 horas de enfermar, siendo frecuentemente los animales encontrados muertos. Los que sobreviven por varios días presentan ictericia leve y fotosensibilización. Los animales pueden también recuperarse, aunque una vez en decúbito generalmente evolucionan al coma y la muerte.<sup>4, 13</sup> Otros síntomas que han sido descritos son poliuria persistente, heces secas, rechinar de dientes y dolor abdominal, ceguera, opistótonos y movimientos de pedaleo previo a la muerte.<sup>4, 12, 13, 14</sup>

Los signos clínicos de los ovinos y cabras intoxicados por larvas de *Arge pullata* son muy similares a los observados en bovinos intoxicados por larvas de *L. Interrupta*, observándose depresión, anorexia, dolor abdominal, incoordinación y decúbito. En ninguno de los animales se observó ictericia y los animales que sobreviven tienen un prolongado período de convalecencia.<sup>23</sup>

No existen datos detallados sobre el cuadro clínico de los cerdos intoxicados con las larvas *Perreyia lepida* ("mata porco"), ni referencias de intoxicación de otras especies animales. En condiciones naturales, la muerte se produce 8 a 12 horas o más luego de ingerir las larvas, mostrando previamente los animales signos de debilidad, decúbito y movimientos de pedaleo.<sup>20</sup>

### Patología

Las primeras descripciones de los hallazgos de necropsia de bovinos intoxicados

por larvas de *L. interrupta* resaltaban la congestión y hemorragias del tracto digestivo.<sup>4, 19</sup> Más recientemente McKenzie y col. (1985b) caracterizaron la enfermedad como una necrosis hepática tóxica. En los casos severos el hígado se presenta de color rojo oscuro y de bordes redondeados, con un edema prominente de la vesícula biliar y el hilio hepático. En casos menos severos el hígado es pálido, con un moteado oscuro en la superficie de corte, lo que le confiere un aspecto característico de "nuez moscada". Restos de larvas, especialmente las cabezas, se encuentran siempre en los pre-estómagos de los animales muertos de la enfermedad. Otros hallazgos macroscópicos menos consistentes son petequias subepicárdicas y subendocárdicas, hemorragias generalizadas de serosas y subcutáneo, e ictericia.<sup>13</sup>

A la histopatología, la principal lesión encontrada es una necrosis hemorrágica de distribución periácinar a panácinar (masiva), presentándose los hepatocitos peri-portales sobrevivientes con degeneración y vacuolización citoplasmática. Otros hallazgos que le dan cierta especificidad a la histopatología de la intoxicación son la necrosis y depleción de linfocitos en la pulpa blanca del bazo y ganglios linfáticos y desaparición casi completa de los centros germinales.<sup>13</sup> En casos experimentales se describen también vacuolización del epitelio de los túbulos renales proximales con presencia de cilindros hialinos. Esta nefrosis, aunque leve, podría ser importante, en condiciones de campo, donde es más probable que la deshidratación condicione la supervivencia de los animales. Experimentalmente, la nefrosis es una lesión más importante en pollos que en bovinos.<sup>12</sup>

En la necropsia de ovinos intoxicados con larvas de *Arge pullata* se encuentran hemorragias petequiales subepicárdicas y en la serosa del esófago, así como edema y hemorragias en la región ventral del cuello. Los animales presentan, también, líquido sero-hemorrágico en las cavidades abdominal y torácica y congestión y edema pulmonar. En todos los casos se encuentran restos de larvas, especialmente las cabezas, en el tracto gastrointestinal. El órgano más afectado es el hígado, que presenta hemorragias y un aspecto

característico en "nuez moscada". A la histopatología se encuentra necrosis hepática aguda masiva, degeneración de los túbulos renales y necrosis de linfocitos en la pulpa blanca del bazo y ganglios linfáticos.<sup>23</sup>

No existen datos sobre la patología de los casos espontáneos de la intoxicación por larvas *Perreyia lepida*, ni reproducciones experimentales de la enfermedad.

### Reproducción Experimental

Los hallazgos clínicos y la patología de terneros intoxicados experimentalmente con larvas de *L. interrupta* en dosis de 0.75, 1.5 y 3g de materia seca por kg de peso vivo (g MS/kg), son idénticos a los observados en los casos de campo.<sup>12</sup> Excepto los animales que recibieron 0.75 g/kg y uno que recibió 1.5 g MS/kg, que se recuperaron, el resto evolucionó al coma y la muerte dentro de las 72 horas. Todos los animales presentaron a la necropsia hígados pálidos con áreas oscuras y hemorrágicas y aspecto típico en "nuez moscada" y a la histopatología se encontró necrosis periácinar hemorrágica de grado variable.<sup>12</sup> La dosis letal media en bovinos es de 1.8 g MS/kg, y los límites superior e inferior de confianza con 95% de probabilidad son 1.3 y 2.5 g MS/kg. El contenido de materia seca de las larvas es de 30%.<sup>13</sup>

La concentración de bilirrubina, fosfatasa alcalina, gama-glutamyltransferasa (GGT), transaminasa glutámico oxalacética (GOT) y creatinina en suero y amonio en plasma, aumentan en los animales intoxicados experimentalmente. Estas alteraciones son explicadas por una severa lesión hepática y una leve alteración de la función renal. Los niveles reducidos en la concentración de fibrinógeno plasmático, y los tiempos de protrombina y tromboplastina alargados, explican las hemorragias severas observadas en los casos de campo. La concentración elevada de amonio y glutamina en el líquido cefaloraquídeo y los bajos niveles de glucosa en sangre, indican un cuadro de encefalopatía hepática.<sup>13</sup>

La intoxicación con larvas de *Arge pullata* se reprodujo experimentalmente en ovinos con dosis de 1.6 y 4.5g de larvas frescas por kg de peso vivo, y en cabras en dosis de 7.5 g/kg.<sup>23</sup> El cuadro clínico y la pa-

tología son similares a los casos de campo. Las alteraciones bioquímicas y hematológicas muestran que el hígado es también el principal órgano afectado. La actividad sérica y plasmática de la aspartato aminotransaminasa (ASAT), alanina aminotransaminasa (ALAT), fosfatasa alcalina (AP) y gama glutamiltransferasa (GGT) se incrementan entre 50 y 100 veces. El aumento significativo observado en los niveles de ALAT no corresponden a una severa necrosis hepática en rumiantes y se deben probablemente a una lesión muscular severa causada por las convulsiones. Los niveles de bilirrubina también aumentan de 2.9 a 25.8 mol/litro 36 horas luego de la dosificación, mientras los niveles de urea plasmática, hemoglobina y hematócrito no muestran variación. Una neutrofilia y linfocitopenia moderada se observa en todos los animales previo a la muerte.<sup>18, 23</sup>

Experimentalmente se ha demostrado un antagonismo entre la intoxicación por larvas de *Arge pullata* y la parasitosis aguda por larvas de *Fasciola hepatica*.<sup>18</sup> El estudio de tal interacción podría tener no solo importancia teórica sino también relevancia práctica, ya que ambas enfermedades ocurren conjuntamente en la misma región de Dinamarca. El efecto antagónico de la *Fasciola hepatica* es probablemente debido a su acción inhibidora de las enzimas oxidativas microsomales del hígado, que serían las responsables de la transformación del principio activo de las larvas en metabolitos tóxicos.<sup>18</sup>

Recientemente, la toxicidad de las larvas de *Perreyia flavipes*, fue comprobada en cerdos dosificados con 5 y 10 g de larvas por kg de peso vivo. En ese trabajo se demostró también que el principio activo de las larvas no tiene un efecto acumulativo.<sup>22</sup>

### La Toxina

Un octapéptido hepatotóxico conteniendo 4 D-aminoácidos y denominado lophyrotomina, ha sido aislado de las larvas de *L. interrupta* y de *A. pullata* en concentraciones de hasta 0.07% de la materia seca.<sup>9, 16</sup> La DL50 de la lophyrotomina es de 2 mg/kg por inyección intraperitoneal en ratones.<sup>16</sup> El efecto hepatotóxico de la lophyrotomina se ha comprobado además en pollos, ratas y

terneros.<sup>25</sup> La toxina, soluble en agua y en alcohol, es estable a 100 C hasta por 3 días y, en solución acuosa neutra, su toxicidad puede conservarse por varios meses.<sup>25</sup> La lophyrotomina esta compuesta por 6 aminoácidos en relación molar de 1:1:1:1:2:2, y su fórmula es:

C6H5CO

- (D)Alanina - (D)Fenilalanina - (L)Valina - (L)Ileoluecina - (D)Asparagina - (L)Asparagina - (D)Glutamina - (L)Glutamina.<sup>25</sup> La presencia de 4 ácidos dicarboxílicos en el extremo C-terminal de la molécula (2 asparagina y 2 glutamina) explica sus propiedades fuertemente ácidas. Los 4 D-aminoácidos y el grupo benzoico bloqueando el extremo N-terminal le confieren a la molécula una gran resistencia frente a enzimas hidrolíticas, como la papaína, quimiotripsina, carboxipeptidasa-A, carboxipeptidasa-Y, termolisina y combinaciones de diversas proteasas y aminopeptidasas no específicas.<sup>25</sup> Se ha sugerido esto sea la razón por la que el péptido no sea degradado en el tubo digestivo y mantenga su toxicidad luego de ingerido.<sup>17</sup>

La presencia de D-aminoácidos en un péptido aislado de un animal es un hecho único y sin precedentes. Existen diversos péptidos tóxicos naturales con D-aminoácidos, pero todos ellos provienen del reino vegetal (como los ciclopéptidos hepatotóxicos de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* o los péptidos hepatotóxicos del hongo *Amanita*.<sup>25</sup> Los estudios biosintéticos realizados sugieren que la lophyrotomina no es sintetizada por los microorganismos que viven simbióticamente con la larva o concentrado por ésta de su fuente alimenticia, sino que las larvas elaboran el tóxico de *ново*.<sup>17</sup> Es probable que la lophyrotomina se haya desarrollado con fines defensivos ya que, cuando agredidas, las larvas de *L. interrupta* secretan un fluido oleoso conteniendo 10 veces la concentración de lophyrotomina. El carácter fuertemente ácido de este fluido es suficiente para disuadir la mayoría de los predadores.<sup>17</sup> La resistencia a las enzimas hidrolíticas y el efecto hepatotóxico de la lophyrotomina probablemente sirvan también para detener o matar los grandes predadores.<sup>9, 17</sup>

Pequeñas cantidades de lophyrotomina y grandes cantidades de otro polipéptido hepatotóxico, compuesto por 7 aminoácidos y un grupo fosfato terminal, fueron identificados recientemente en las larvas de *Perreyia flavipes* provenientes del departamento de Durazno, Uruguay, una zona donde ocurren brotes de intoxicación.<sup>15</sup> A este nuevo heptapéptido altamente hepatotóxico se lo se ha denominado *pergidina*.<sup>15</sup>

El sitio y el mecanismo de acción de estos péptidos tóxicos en la célula no se conoce. La lophyrotomina tiene efecto directo sobre los hepatocitos, el epitelio tubular renal y los linfoblastos de los centros germinales del bazo y ganglios linfáticos.<sup>13</sup> La estructura de la lophyrotomina sugiere que el extremo N-terminal, hidrófobo y liposoluble, interacciona con la membrana celular, mientras que la porción C-terminal hidrofílico lo hace con los iones metálicos dentro del citoplasma.<sup>25</sup> La lophyrotomina probablemente ejerce su efecto sobre el hepatocito a través del sistema microsómico de oxidasas de función mixtas.<sup>18</sup> El mecanismo de acción de la pergidina es aparentemente similar, aunque su acción es más severa.<sup>15</sup>

La administración oral a terneros de dosis crecientes de lophyrotomina no induce una respuesta inmune significativa.<sup>13</sup> Este escaso poder inmunógeno es debido al bajo peso molecular de la toxina.<sup>17</sup> Para desarrollar un toxoide con fines de protección a campo, la toxina se debería unir a una molécula portadora de mayor peso molecular,<sup>12</sup> lo que probablemente sea demasiado costoso.<sup>6</sup>

#### Control de la intoxicación

En Queensland para controlar o prevenir los brotes, el 21% de los ganaderos trasladan los animales a potreros donde no existen o son escasos los *E. melanophloia*. La mayor dificultad de este método es que los animales no regresan a los potreros hasta principios de octubre, por lo que los potreros quedan sin pastorear justo en un período del año con escasez de forraje.<sup>6</sup> Otros productores (29%) eliminan parcial o totalmente los árboles, pero problemas de erosión severos pueden ocurrir al exponer el suelo, y en algunas áreas la deforestación no

es posible.<sup>6</sup> El 17% de los productores suministran suplementos conteniendo fósforo, calcio y proteínas, pero ésta medida ha resultado ser poco efectiva en la práctica ya que no existe evidencia que compruebe que las larvas son ingeridas por carencia nutricional.<sup>6</sup> Los datos disponibles sugieren, por el contrario, que los bovinos simplemente apetecen las larvas.<sup>12</sup> Aunque todos estos métodos han sido efectivos en algunos establecimientos, las pérdidas totales de animales no han disminuido desde que la enfermedad fue investigada por primera vez. Una de las razones de esto, es la poca viabilidad económica del área endémica y el escaso incentivo y recursos económicos de los ganaderos para aplicar métodos de prevención. Así, hasta el 48% de los productores que reportaron tener muertes de animales no toman ninguna acción.<sup>6</sup>

Otro método de control sugerido ha sido el uso de antidotos similares a los usados en la intoxicación por *Amanita* spp. Las toxinas de *Amanita* spp. son octapéptidos hepatotóxicos, similares a la lophyrotomina.<sup>14</sup> A pesar de existir resultados experimentales promisorios con el antidoto silymarina, un compuesto aislado de la planta *Silybum marianum*,<sup>24</sup> su uso es impracticable en condiciones de campo, ya que cuando los animales muestran signos de intoxicación la lesión del hígado es severa e irreversible.<sup>12</sup>

La inmunización de los bovinos con la toxina purificada y unida a una molécula de gran tamaño es técnicamente posible, pero probablemente muy costosa. El mercado potencial para una vacuna de tal tipo sería, en Australia, de sólo 16 a 20 establecimientos ganaderos con 40.000 a 50.000 cabezas de ganado.<sup>6, 12</sup> La efectividad de tal vacuna es también cuestionable dado el repentino y elevado nivel de toxina en sangre que se da en los animales intoxicados y que fácilmente sobrepasaría la inmunidad lograda (Ross A. McKenzie, comunicación personal, 1996).

Como mejor forma de controlar los brotes y disminuir el impacto económico de la enfermedad, en Australia se ha propuesto profundizar el estudio de la dinámica poblacional de las larvas y los fac-

tores que las afectan, a los efectos de predecir los años cuando el número de larvas aumenten.<sup>6</sup>

Según Rodrigues Camargo (1955) el combate sistemático de las larvas de *Perreya lepidia* sería difícilmente realizable, ya que las mismas se encuentran en pequeños grupos dispersos y nunca en grandes aglomeraciones. El control de los adultos tampoco sería posible dado que los mismos siempre aparecen en escaso número y son raramente observados.<sup>20</sup>

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Estudio de los casos espontáneos

Entre junio y septiembre de 1993, 1994 y 1995, numerosos brotes de una enfermedad altamente letal ocurrieron en la región centro-sur del Uruguay en ovinos y bovinos. La información presentada en este trabajo se obtuvo de 6 establecimientos visitados en los que ocurrieron brotes de la enfermedad en los años de 1994 y 1995, y en los cuales se realizó como mínimo 1 necropsia para confirmar el diagnóstico. Se realizaron un total de 10 necropsias y muestras de diferentes órganos se fijaron en formol bufferado al 10%, se incluyeron en parafina y cortes de 5 micras de espesor se colorearon por la técnica de hematoxilina y eosina.

### Intoxicación experimental

#### Experimento 1

En agosto de 1995, larvas vivas se recogieron de dos predios donde estaba ocurriendo la enfermedad. Las larvas se mantuvieron refrigeradas a aproximadamente 5° C hasta su administración. Las larvas vivas fueron administradas por vía oral, en dosis de 40 g por kg de peso vivo (g/kg), a un ternero Hereford destetado (N° 1) de 70 kg de peso. Otro animal (N° 2), cruce Brahman x Charolais, de 1 año de edad y 100 kg de peso, recibió 9 g/kg de larvas, las que al momento de la administración se encontraban muertas; 7 días luego de la administración se obtuvo del animal una biopsia hepática.

#### Experimento 2

Este experimento se realizó con las mismas larvas del experimento anterior. Tres ovinos (N° 3, 4 y 5) de 15, 35 y 32 kg de

peso fueron dosificados por vía oral con 40, 20 y 10 g/kg de larvas, respectivamente. El animal N° 3 recibió larvas vivas. Las larvas administradas a los animales N° 4 y 5 se conservaron a 5° C por 72 horas y estaban muertas al momento de la administración.

Todos los animales experimentales se observaron por lo menos 2 veces al día, controlándose la frecuencia respiratoria, cardíaca y ruminal hasta la muerte o eutanasia. Los animales muertos espontáneamente o sacrificados *in extremis* fueron necropsiados. Muestras de diferentes órganos, así como la biopsia del animal N° 2, se fijaron en formol bufferado al 10% y se procesaron para estudio histopatológico de la misma forma descrita para los casos espontáneos.

### Estudio epidemiológico de la enfermedad

Para estudiar la relación de la enfermedad con algunos factores geográficos, climáticos y de manejo, se usó la información disponible sobre cinco brotes de intoxicación ocurridos en 1993, tres en 1994 y seis en 1995. Para el análisis se dispuso también de la información epidemiológica obtenida en una encuesta realizada sobre 32 predios afectados en 1995, y que fuera amablemente cedida por Díaz y col. (1995).

La asociación entre la ocurrencia de la intoxicación y la presencia de bosques de *Eucaliptus* spp., se estudió a través de un mapa de superposición. Los brotes de la enfermedad (N=41) se superpusieron sobre las secciones judiciales de los departamentos de Durazno, Flores y Florida, discriminadas según superficies forestadas de 0, 1-200, 201-500, 501-1000, 1001-3000 y 3001-6500 hectáreas. Las representaciones cartográficas y la información de las áreas forestadas se obtuvo de la Dirección Forestal, División Planeamiento, del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.

Para estudiar la relación de la enfermedad con la topografía y el tipo de suelos, los focos (N=37) se superpusieron en un mapa hipsográfico del Uruguay en escala 1:500.000, con curvas de nivel cada 50 metros, así como en un mapa de suelos del Uruguay en escala de 1:1.000.000 (N=40). La carta geográfica usada se ob-

tuvo del Servicio Geográfico Militar, Ministerio de Defensa Nacional, y el mapa de suelos de la Dirección de Suelos del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.

Los datos de temperatura mensual media y de precipitaciones mensuales totales de los años 1993, 1994 y 1995, de los departamentos de Durazno y Florida, se obtuvieron de la Dirección Nacional de Meteorología. Los datos se compararon con los promedios mensuales de los 10 años previos a la ocurrencia de la enfermedad (1982 - 1992), y se examinaron buscando alguna correlación que explicara los brotes.

La dotación animal de los predios afectados, calculada en unidades ganaderas por hectárea (UG/Ha), se comparó con la dotación respectiva de los departamentos de Durazno y Florida. La influencia de la dotación y de la relación lanar/vacuno en la morbilidad de la enfermedad (N° bovinos enfermos/total de bovinos en el predio), se analizó por regresión lineal simple y cuadrática en el software EPIINFO6, siendo la morbilidad la variable dependiente. Los datos de dotación y la relación lanar/vacuno al 30 de junio de 1995, tanto de los predios afectados como de los departamentos de Durazno y Florida, fueron proporcionados por la Dirección de Contralor de Semovientes (DICOSE) del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.

### Identificación del insecto

En septiembre de 1996, grupos de larvas se colectaron en un predio ubicado a 50 km del área donde el año anterior se produjeron casos de intoxicación. La toxicidad de las larvas vivas se comprobó por su administración oral a un ovino adulto en dosis de 30 g/kg, que murió 24 horas más tarde con un cuadro clínico y patológico similar al observado en los casos de campo.

En el laboratorio las larvas se colocaron en recipientes de un m<sup>2</sup>, conteniendo césped de campo de 20 cm de espesor de tierra. Con el fin de que las larvas dispusieran de abundante vegetación, tanto verde como seca y en descomposición, los cultivos se recortaron y regaron periódicamente para mantener la altura de la pastura en 10-15 cm. Los recipientes

se cubrieron con una malla de nylon fina para evitar el escape de los adultos luego de la emergencia y se mantuvieron siempre a la intemperie. De los adultos obtenidos, 6 machos y 6 hembras se enviaron para su identificación al Dr David R. Smith del Systematic Entomology Laboratory, National Museum of Natural History, MRC 168, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20560, USA.

### Observaciones sobre la biología y ciclo biológico de *Perreyia flavipes*

Las observaciones de campo se realizaron en el mismo potrero del que se obtuvieron otras 12 moscas adultas (6 machos y 6 hembras) identificadas por el Dr. D. R. Smith como *Perreyia flavipes*. En el mes de septiembre de 1996, esta área se visitó cada 3 ó 4 días para coleccionar y observar el comportamiento de las larvas. En febrero y marzo de 1997 se realizaron nuevamente visitas periódicas para observar y coleccionar los individuos adultos.

Para obtener datos cuantitativos, se coleccionaron 31 grupos de larvas que se transportaron rápidamente al laboratorio en bolsas de nylon para evitar su desecación. Los grupos se pesaron por separado y se contabilizó el número de larvas de cada uno. Las larvas de 10 de los grupos se pesaron individualmente hasta una exactitud de 0.01 g. Se calculó la media y la desviación estándar del peso de las larvas, peso de los grupos y N° de larvas por grupo, y se calcularon los coeficientes de correlación respectivos y sus límites de confianza al 95%.

Para estudiar las fuentes alimenticias, 10 grupos de 30 larvas totalmente desarrolladas (2-2,5 cm) se colocaron en recipientes conteniendo 10 cm de tierra suelta. A cada cultivo se agregó un substrato alimenticio diferente: 1) hojas secas de pastura (gramíneas), 2) hojas verdes, 3) heno de alfalfa, 4) heces bovino secas desmenuzadas y 5) restos vegetales en descomposición. Se realizaron 2 repeticiones y los substratos se renovaron cada 2 días. Los cultivos permanecieron a la intemperie y se les agregó agua periódicamente para mantener su humedad, aunque se evitó su encharcamiento. Las larvas se observaron todos los días en su vitalidad y se pesaron cada

3 hasta 0.01 g de exactitud. El alimento se consideró apropiado para el desarrollo de las larvas cuando se encontró, al menos, 1 capullo, y si además no hubo diferencia significativa en su curva de crecimiento ( $P < 0.05$ ). Luego de la pupación de las larvas, se contaron los capullos, registrándose la profundidad en que la fueron encontrados (0-5 cm o 5-10 cm).

En febrero y marzo de 1997 se recogieron en el campo, 19 hembras y 56 machos, registrándose el tipo de vegetación y altura de la pastura sobre la que fueron encontradas las hembras.

Para lograr la cópula y la oviposición, 18 grupos, de 1 hembra y dos o tres machos, se colocaron recipientes de vidrio. En cada recipiente se colocaron verticalmente varias hojas verdes de gramíneas, de 10-15 cm de altura, lo suficientemente rígidas para sostener el peso de la hembra y el macho durante la cópula. Fueron fertilizadas hembras coleccionadas tanto en el campo como en el laboratorio. Para favorecer la postura se colocó, en el fondo de cada recipiente, tierra suelta y restos vegetales secos. Los cultivos se cubrieron con malla fina de hilo para evitar el escape de los insectos.

Una vez realizado el desove, los huevos se colocaron en cajas de Petri conteniendo tierra fina suelta ( $N=16$ ). Cinco de esos cultivos se humedecieron periódicamente e incubaron en estufa a 25-27 °C; 10 se humedecieron y se dejaron dentro del laboratorio a temperatura ambiente; el cultivo restante se mantuvo a temperatura ambiente sin humedad. Los huevos se observaron diariamente bajo lupa binocular ( $\times 10$ ), y el período de incubación se estimó cuando se observó la primera larva.

Pasto seco, pasto en descomposición, pasto verde y heces secas bovinas, en diferentes proporciones y cantidades, se ofrecieron a las larvas jóvenes recién eclosionadas con el fin de encontrar el mejor alimento para su desarrollo. Las larvas se observaron bajo lupa diariamente, y la longitud de 3-8 individuos obtenidos al azar del cultivo se midió en milímetros cada 5 días. El período de tiempo que demoran en alcanzar el tamaño que tienen cuando están total-

mente desarrolladas y se observan en grupos en el campo (2-2.5 cm), se estimó en base a la regresión lineal simple calculada con los datos de crecimiento de los primeros 35 días de vida de las larvas jóvenes. El largo de vida total de las larvas se estimó, sumando al resultado de la regresión, el período de tiempo durante el cual las larvas desarrolladas, recogidas en el campo, permanecieron activas en el laboratorio hasta la pupación.

## RESULTADOS

### Casos espontáneos

La tasa de incidencia en los 6 predios visitados varió de 3% a 28%, siendo la categoría de sobreños la más frecuentemente afectada. La enfermedad fue vista en bovinos de diferentes razas y ambos sexos. Una característica de los brotes eran las grandes pérdidas de animales en un período muy corto de tiempo, usualmente 4 a 8 días. En los predios A y B la enfermedad reapareció luego de un período de 7 ó 15 días en el que no se constataron muertes de animales. Excepto en el establecimiento B, la enfermedad se presentó en un sólo potrero (Cuadro 1). El cambio de animales a otro potrero era, aparentemente, una medida efectiva para detener las muertes.

En todos los establecimientos existía, en los potreros afectados, un exceso de pasturas secas y en descomposición, del crecimiento de verano (ver Figura 4). Aunque en los establecimientos A y C murieron también ovinos, principalmente capones y ovejas, no fue posible obtener ningún animal para necropsia.

La mayoría de los animales eran encontrados muertos. Los que mostraron signos clínicos, presentaban debilidad y marcada depresión (Figura 4), o bien excitación, agresividad y temblores finos de cuello, cabeza y orejas. Los más severamente afectados evolucionaban a la postración y muerte en 2 días. Los animales en los que la enfermedad se prolongaba por hasta una semana, mostraban ictericia y fotosensibilización discreta.

El hígado era el principal órgano afectado en todos los animales necropsiados. En algunos animales era de color amarillo pálido y presentaba en la superficie de corte un prominente patrón acinar, caracterizado por la presencia de pequeñas áreas os-

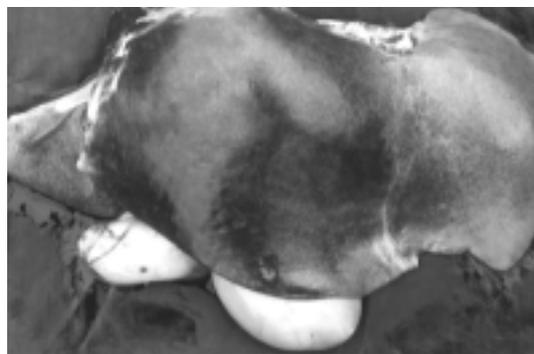
**Cuadro 1.** Bovinos afectados, mortalidad, duración de los brotes y N° de potreros afectados en 6 brotes de intoxicación por larvas de *Perreya flavipes*.

Predio*	Bovinos	N° de muertes y mortalidad (%)	Duración del brote (días)#	Potreros afectados
A	Vaquillonas 1-2 años	17 (12%)	2 (7) 4	1
B	Novillos 1-2 años	16 (11%)	3 (15) 5	2
C	Novillos 2-3 años	55 (28%)	5	1
D	Vaquillonas 2-3 años	70 (15%)	5	1
E	Novillos >3 años	6 (4%)	8	1
F	Vaquillonas 1-2 años	4 (3%)	7	1

\* En los predios B-F los brotes ocurrieron en agosto de 1995, en el establecimiento A el brote ocurrió en agosto y setiembre de 1994.  
# Números entre paréntesis indica los días en que no ocurrieron casos.



**Figura 4.** Ternero con depresión y debilidad por intoxicación con larvas *P. flavipes*. Notar el abundante acumulo de pasto seco. Agosto de 1995, 8<sup>va.</sup> de Durazno.



**Figura 5.** Intoxicación por larvas de *P. flavipes*. Hígado con aspecto de «nuez moscada», de color oscuro con lóbulo derecho y amarillo en izquierdo.

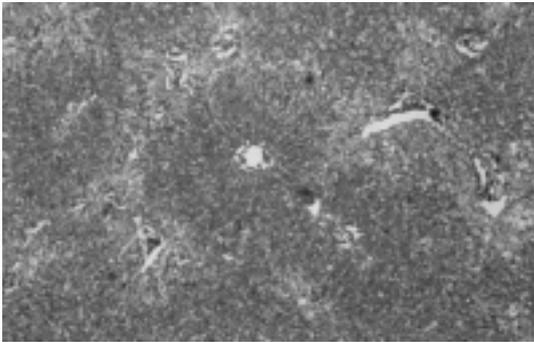
curas y hemorrágicas, colapsadas bajo una trama reticular de parénquima sobreviviente de color amarillo ("hígado en nuez moscada"). En otros, el órgano era de color rojo oscuro, de bordes redondeados, y al corte presentaba apariencia en mosaico, caracterizado por áreas de parénquima de color amarillo que sobresalía por sobre extensas áreas rojo-oscureas, colapsadas, de necrosis hemorrágica. Edema de vesícula biliar y del hilio hepático, que se extendía hasta el páncreas y el duodeno, era prominente en éstos casos. Ambos patrones morfológicos del hígado en "nuez moscada", el acinar y el mosaico, fueron vistos incluso en el mismo órgano, predominando el primero en el lóbulo izquierdo y el segundo en el derecho (Figura 5).

Las lesiones macroscópicas en otros órganos eran de aparición menos regular que las del hígado, pero más llamativas y obvias cuando se encontraban presentes. Hemorragias petequiales y sufusiones se observaban en las serosas y eran especialmente marcadas en el corazón (hemorragias subendocárdicas y subepicárdicas). Los vasos peritoneales estaban congestivos y prominentes, y hemorragias difusas se veían en el omento y en la luz del abomaso e intestinos. El recto contenía heces secas, duras, cubiertas por mucus y estrías de sangre, y la mucosa se presentaba edematosa, con congestión y hemorragias longitudinales. Moderada cantidad de líquido ascítico, de color amarillo-pálido fue visto también

en algunos casos. Ictericia leve se observó en los casos de curso clínico más prolongado.

Invariablemente se encontraron restos de larvas en el rumen y omaso de todos los animales necropsiados. Los restos, especialmente las cabezas de las larvas, flotaban en pocos minutos si se colocaba contenido ruminal en agua.

Las lesiones histológicas se caracterizaban por necrosis hemorrágica del hígado, de distribución periácinar a masiva. En los hígados en "nuez moscada", las áreas de necrosis hemorrágica se distribuían alrededor de las venas centrolobulillares (necrosis periácinar o centrolobulillar) y los hepatocitos sobrevivientes periporales se mostraban tumefactos y con citoplasma claro y vacuolado (Figura 6). Los



**Figura 6.** Hígado con necrosis hemorrágica panacinar (masiva) con escasos hepatocitos periportales sobreviviente. Lesión que corresponde macroscópicamente a hígados oscuros en «mosaico». Bovino, caso espontáneo.

hígados con aspecto macroscópico en mosaico presentaban necrosis masiva del acino hepático, salvo algunas escasas células degeneradas remanentes alrededor de los espacios Porta (Figura 7).

La pulpa blanca del bazo de algunos animales presentaba necrosis de linfocitos y ausencia de centros germinales de los folículos linfáticos. En la lámina propia del colon se observó congestión, edema superficial y descamación focal del epitelio, y la luz del órgano presentaba abundante mucus y eritrocitos.

En los establecimientos no fueron encontradas plantas hepatotóxicas (*Cestrum parqui*, *Xanthium* spp. y *Wedelia glauca*), excepto en un establecimiento en el que se encontró *Cestrum parqui*. En uno de los establecimientos se descartó la presencia de algas verde-azuladas tóxicas (*Microcystes* spp.), las que tampoco se encontraron en otros pre-

dios en los que se buscó su presencia (Dr. Fernando Riet Alvariza, comunicación personal, 1995).

## Intoxicación Experimental

### Experimento 1

El ternero N° 1 presentó diarrea profusa 9 horas luego de la administración de las larvas y a las 14 horas mostraba depresión y anorexia. Decúbito, temblores musculares y heces normales se observaron a las 21 horas, y a las 24 horas fue sacrificado cuando estaba en coma. El ternero N° 2 presentó anorexia los

días 4 y 5 luego de la administración de las larvas. Entre el 5° y 9° día se observó diarrea oscura discreta y al 10° día estaba clínicamente recuperado.

El hígado del animal N° 1 se encontraba agrandado, con un moteado oscuro en la superficie y presentaba los bordes redondeados. El lóbulo derecho era de color rojo oscuro y la superficie de corte presentaba pequeñas áreas de color amarillo. El lóbulo izquierdo era de color amarillo claro y la superficie de corte presentaba un moteado rojo-oscuro, con apariencia de "nuez moscada". Edema seroso marcado se observaba en la pared de la vesícula biliar, serosa del duodeno y páncreas, así como entre el hígado y el riñón derecho. El corazón pre-

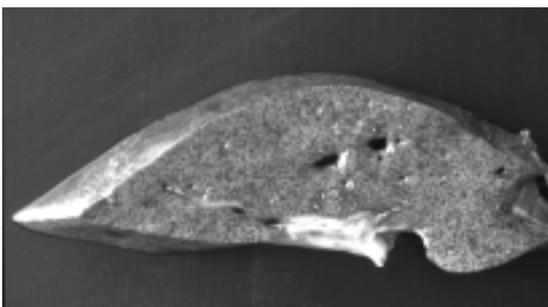
sentaba hemorragias subendocárdicas y subepicárdicas.

A la histología se observó necrosis hemorrágica restringida alrededor de las venas centrolobulillares del lóbulo izquierdo del hígado. El lóbulo derecho presentaba necrosis masiva con células de Kupffer prominentes y abundantes restos nucleares picnóticos. Linfocitos necróticos se observaron en la pulpa blanca del bazo y ganglios mesentéricos. La biopsia del hígado del ternero N° 2 presentaba hepatocitos vacuolizados y con edema intracelular en las áreas periportales. Los cordones hepáticos de la región periacinar estaban distorsionados y con numerosas células apoptóticas y algunas mitosis.

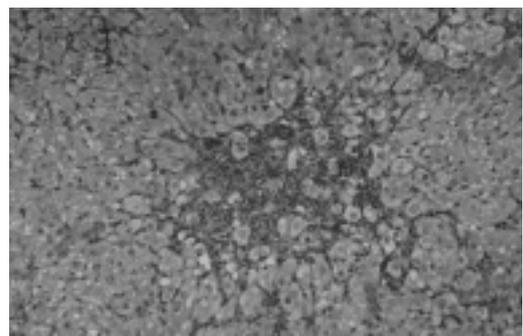
### Experimento 2

El cordero N° 3 mostró depresión y frecuencia respiratoria de 120 por minuto, 12 horas luego de ingerir 40 g/kg de larvas. Dos horas más tarde se observó temblores musculares, movimientos de pedaleo, y muerte. El ovino N° 4 mostró, 20 horas luego de la administración, depresión, anorexia y heces secas con estrias de sangre y mucus. A las 43 horas el animal fue sacrificado *in extremis*. El ovino N° 5 presentó depresión 54 horas luego de ingerir 10 g/kg de larvas muertas. El animal murió a las 68 horas, habiendo presentado previamente, decúbito, opistótonos y convulsiones.

A la necropsia el ovino N° 3 se observó el hígado agrandado, de color rojo púrpura, y de bordes redondeados. El hígado de los animales N° 4 y 5 era de color amarillo pálido y la superficie de corte



**Figura 7.** Hígado en «nuez moscada», ovino, caso experimental N° 5 (10 g/kg de larvas de *P. flavipes*).



**Figura 8.** Hígado, necrosis hemorrágica centrolobulillar y hepatocitos vacuolizados. Lesión que corresponde macroscópicamente a hígados amarillos en "nuez moscada". Ovino, caso experimental N° 5 (Figura 7).

tenía la apariencia de "nuez moscada" (Figura 8). Los 3 animales tenían edema marcado en la pared de la vesícula biliar, páncreas y duodeno, así como escasa cantidad de líquido amarillento en cavidad abdominal.

En los tres animales la lesión hepática se caracterizó por severa necrosis hemorrágica masiva en el animal N 3 (40 g/kg) y de distribución periácinar en los animales N° 4 y 5 (20 y 10 g/kg, respectivamente). Numerosos macrófagos con hemosiderina estaban presentes en las áreas hemorrágicas de los animales N° 4 y 5. No se observaron centros germinativos en la corteza de los ganglios mesentéricos del ovino N° 5, y las áreas paracorticales y los cordones medulares eran delgados y con pocos linfocitos. El cerebro presentaba edema perivascular y vacuolización de la sustancia blanca, y los astrocitos se observaban tumefactos y vacuolizados.

### Epidemiología

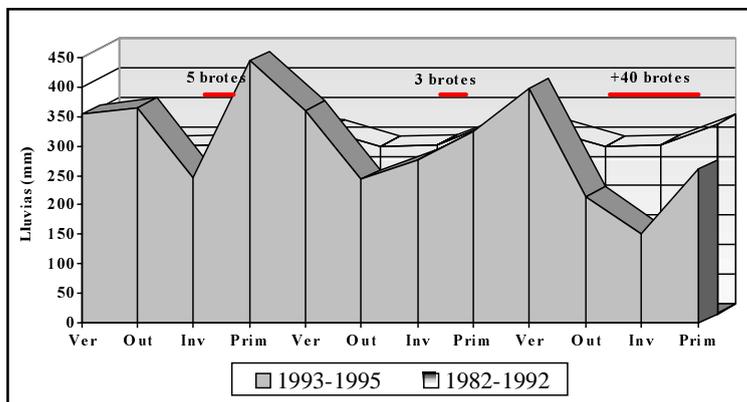
No se encontró ninguna relación entre la superficie forestada y el número de brotes. Ocurrieron 2 brotes en secciones judiciales sin forestación, 16 en secciones con 1-200 hectáreas forestadas, 3 en secciones con 201-500 hectáreas forestadas, 4 brotes en secciones con 501-1000 hectáreas forestadas, 6 brotes en secciones con 1001-3000 hectáreas forestadas y 10 brotes en las seccionales donde existían entre 3001-6500 hectáreas forestadas.

La localización geográfica de los brotes, en los 3 años estudiados, se presenta en la Figura 9. Nueve brotes ocurrieron entre los 100-150 metros de altitud, 16 entre los 150-200 metros, 11 entre los 200-250 metros y 1 entre los 250-300 metros. Los predios ubicados entre 100-150, 150-200 y 200-250 metros tuvieron morbilidades de 2.23%, 3.54% y 3.55% respectivamente, no siendo la diferencia estadísticamente significativa (test de Kruskal-Wallis,  $P > 0.05$ ). Excepto uno, ubicado en la unidad Tacuarembó, todos los focos se localizaron en suelos de las unidades Santa Clara, Sierra de Polanco, Cerro Chato y San Gregorio Guayacurú.

Las precipitaciones pluviométricas de los 3 años en que ocurrieron brotes se caracterizaron por un exceso de lluvias en pri-



**Figura 9.** Mapa del Uruguay mostrando la distribución geográfica de la enfermedad. Todos los brotes ocurrieron en la zona de sierras del centro del país, a lo largo de la Cuchilla Grande, Grande de Durazno, y Grande Inferior. Cada punto dentro del área delimitada por líneas corresponde a un establecimiento donde ocurrieron brotes.



**Gráfica 1.** Precipitaciones pluviométricas por estación en los 3 años de ocurrencia de la enfermedad, y la media de los últimos 10 años.

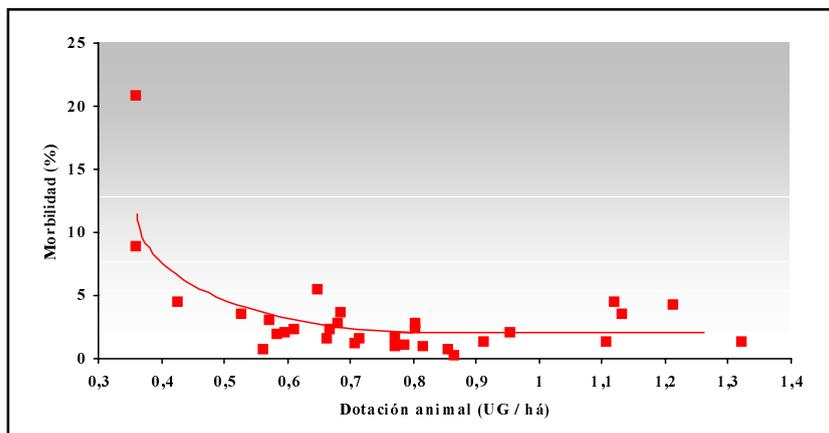
mavera y verano y escasas precipitaciones en otoño e invierno (Gráfica 1). No se observaron diferencias entre las temperaturas mensuales medias de los años que ocurrieron los brotes y el promedio respectivo de los años 1982-1992, encontrándose la temperatura máxima en enero con 24 C y la mínima en julio con 10.2 C.

En promedio, la dotación de los predios afectados fue menor que la dotación de los departamentos de Durazno y Florida (0.73 vs 0.78 UG/ha). Se encontró una correlación negativa entre la dotación y la morbilidad, aunque la dotación sólo explica el 19% de la variación en la morbilidad ( $r = -0.43$ ;  $r^2 = 0.19$ ;  $P < 0.05$ ). La regresión cuadrática de la morbilidad so-

bre la dotación fue altamente significativa ( $P < 0.01$ ) (Gráfica 2). Aunque no significativa, existió también una tendencia hacia una mayor morbilidad en los predios con una mayor relación lanar/vacuno ( $r = 0.33$ , límites confianza 95% = -0.03 a 0.62).

### Identificación del insecto

En los primeros días de octubre, 18-25 días luego de colectadas en el campo, todas las larvas evolucionaron a la fase de prepupa y penetraron bajo tierra, donde formaron el capullo. En los recipientes donde el suelo estaba más compacto, algunos cocones se encontraron también en la superficie.



**Gráfica 2.** Regresión cuadrática de la morbilidad en función de la dotación animal, en 31 establecimientos en los que ocurrió la enfermedad ( $P < 0,05$ ).

Entre el 20 de febrero y 13 de marzo emergieron 35 adultos (16 hembras y 19 machos), siendo que 27 de ellos (75%) lo hicieron entre el 4 y 7 de marzo. La gran mayoría de los insectos emergieron entre las 8 y 13 horas.

Todos los insectos adultos enviados al Dr. D. R. Smith, incluido los colectados en el campo, fueron identificados como *Perreyia flavipes* Konow (familia Pergidae, subfamilia Perreyiinae; sinónimos: *Lophyroides flavipes* y *Brachytoma flavipes*). El adulto es de color totalmente negro y las patas son de color naranja (Figura 10). El largo de hembra, desde el extremo de las antenas a la punta de las alas, fue de 1,4cm ( $N=15$ ;  $cv = 10,1\%$ ), mientras que el tamaño de los machos fue de 1,1cm ( $N=10$ ;  $CV=7,8\%$ ). En el



**Figura 10.** Adultos hembra (izquierda) y macho (derecha) de *Perreyia flavipes*.

macho, la relación largo de la antena/largo total fue de 27,5%, significativamente mayor que la hembra, que fue 20,3% ( $P < 0,05$ ). Las antenas poseen 14-15 segmentos y son pectinadas en el macho, con 2 proyecciones largas en cada segmento, y serradas en la hembra, sin proyecciones en los segmentos.

### Biología y ciclo biológico de *Perreyia flavipes*

En el campo, grupos de larvas se observaron en gran cantidad algunos días, mientras que pocos o ningún grupo se observó otros días.

El peso promedio de los 31 grupos de larvas colectados fue de 19,6g, variando de 2,3-51g ( $CV=38,8\%$ ). El número medio de larvas en cada grupo fue de 63, con un rango de 8-188 ( $CV=59,7\%$ ). El número de larvas por grupo explica casi toda la variación observada en el peso de los grupos ( $r^2=0,96$ ). El peso promedio de las larvas ( $N=160$ ) fue de 0,35g, variando de 0,14 a 0,57g ( $cv = 25,5$ ). El 69,4% de las larvas pesaban entre 0,31 y 0,5g. El contenido en materia seca de las larvas fue de 17%.

Todas las larvas de los diferentes cultivos se escondieron bajo tierra o murieron en los primeros días de octubre, 18-25 días luego de colectadas. Las larvas en el campo desaparecieron también en el mismo período.

Las larvas evolucionaron a la fase de prepupa y formaron al menos un capullo en todos los substratos usados como fuente alimenticia (pasto seco, pasto verde, pasto en putrefacción, heno de alfalfa y heces secas bovinas). No se observó diferencia en la vitalidad ni en la evolución de peso de las larvas entre los diferentes cultivos. El porcentaje de cocones recuperados varió entre 10 y 55% de las larvas entre cada substrato. En 3 cultivos, en los que fueron contabilizadas las exúvias, solamente 12 de 90 larvas (13,3%) cambiaron de estadio durante el período de observación.

Antes de la pupación, la larva sufre una ecdisis que la transforma en prepupa, de color blanco-amarillo y más pequeña que la larva de origen. Los cocones son ovales, miden 1 x 0.6cm y son de color negro opaco (Figura 11). De 59 capullos recuperados, 52 (88%) se encontraron entre 0-5cm bajo la superficie del suelo y 7 (12%) entre 5-10cm. En el campo, los cocones se encontraron únicamente en



**Figura 11.** Grupo de cocones (pupas) de *Perreyia flavipes*.

lugares de tierra poco compacta, especialmente bajo las malezas y los restos secos de pasto.

En el campo, los adultos se observaron siempre en escaso número. Las hembras se encontraron siempre posadas sobre las hojas de pastos lo suficientemente rígidas para sostener su peso, especialmente en áreas empastadas. De 17 hembras que se recogieron en una mañana, 14 (82%) se encontraron en pastos de más de 20 cm de alto, mientras sólo 3 (18%) en pastos de menor altura. Las hembras no se observaron casi nunca en vuelo, y se capturaron fácilmente con la mano. Inmediatamente luego de la emer-

gencia, las hembras obtenidas en el laboratorio intentaban numerosas veces estacionarse en lo alto de las hojas de pasto colocadas a tal efecto, hasta lograr estacionarse en alguna hoja o tallo lo suficientemente rígido para sostener su peso y copular (Figura 12). La cópula duraba aproximadamente 5 minutos y se realizaba con 1 o más machos. Luego de la cópula la hembra se dirigía rápidamente hacia el fondo del recipiente, realizaba una pequeña depresión en la tierra y se cubría con restos secos de pasto o tierra y realizaba la postura. En 2 oportunidades las hembras realizaron el desove 1-



**Figura 12.** Cópula entre hembra (abajo) y macho (arriba) de *Perreyia flavipes*. La cópula se realiza sobre hojas de pastura lo suficientemente rígidas para sostener su peso.

2cm bajo la tierra. La hembra moría inmediatamente luego de la oviposición, luego de haber vivido 16 a 30 horas (N=6).

Numerosos machos se observaron sobrevolando alrededor de las pasturas donde se localizaba alguna hembra, por lo que en el campo se colectaron en mayor cantidad que estos (razón 3:1; 56 machos y 19 hembras). Los machos poseen gran capacidad para localizar las hembras, pues aún en días de mucho viento eran atraídos por hembras que a propósito se llevaron en una jaula al campo. Los machos obtenidos en el laboratorio vivieron entre 2 y 3 días y, al igual que las hembras, no se los observó alimentarse, aunque eran fuertemente atraídos por el agua azucarada puesta a su disposición.

Los huevos miden aproximadamente 0,8-1 mm de largo, son ligeramente ovaes y de color amarillo claro (Figura 13). Cada

hembra deposita un único conglomerado de 200 a 700 huevos, adheridos entre sí por una secreción pegajosa transparente.

El período de incubación de los huevos incubados a 25-27 C fue de 31 días (N=4), variando de 27 a 38 días. Los huevos mantenidos fuera de la estufa tuvieron un período de incubación promedio de 39 días y un rango de 31 a 44 días. La diferencia entre ambos métodos no fue estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ). La eclosión no se produjo simultáneamente en todos los huevos del mismo conglomerado, sino que continuaron eclosionando por 25-30 días. Los últimos huevos en eclosionar lo hicieron a los 70 días aproximadamente. Los huevos mantenidos sin humedad se desecaron rápidamente, y a los 10 días se los observó arrugados y de color amarillo oscuro, no obteniéndose ninguna larva de ellos.

Al emerger, las larvas miden 2-2.5 mm de largo, son de color gris, y, luego de alimentarse, de color gris oscuro o negro. El alimento compuesto por restos secos, hojas verdes desmenuzadas y heces secas bovinas, permitió el desarrollo de las larvas solamente hasta los 15-18 días de edad, momento en que se las observó apáticas, delgadas y de color gris pálido, muriendo gran parte de ellas. Luego del agregado de restos vegetales en descomposición, las larvas recuperaron su color negro, turgencia y vitalidad. Las larvas sobrevivientes se observaron alimentándose con preferencia de restos vegetales en descomposición,



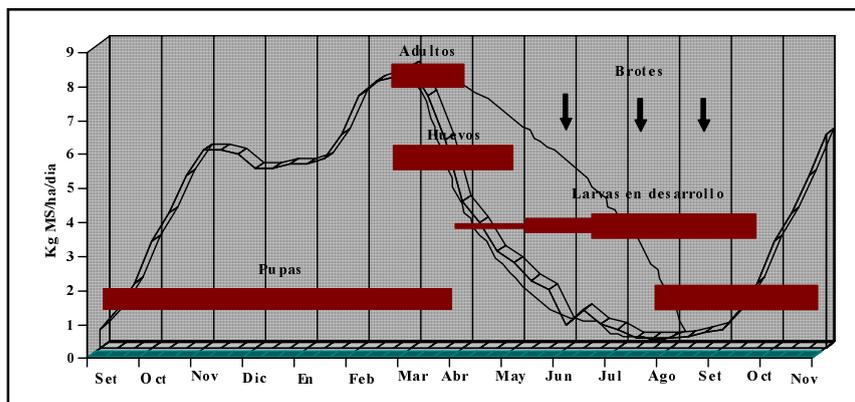
**Figura 13.** Huevos de *Perreyia flavipes* (cultivo en laboratorio).

pasando por encima de las partes secas y verdes de los vegetales y deteniéndose a comer por varios minutos en las partes más blandas y oscuras en putrefacción. El primer grupo compacto, similar al de las larvas más grandes, se observó a los 18-25 días de edad. La primer ecdisis se observó a los 31 días de edad. La máxima sobrevivencia lograda en el laboratorio fue de 40 días. El período total de la fase larvaria (eclosión-pupación) se estimó entre 128 y 151 días para  $x$  equivalente a 20 o 25mm, respectivamente ( $y = -10,9 + 5,79 * X$ ).

En la Gráfica 3 se esquematiza el ciclo biológico del insecto en base a los resultados del presente trabajo.

## DISCUSIÓN

La marcada ocurrencia estacional de la enfermedad, los hallazgos macroscópicos e histopatológicos del hígado, la ausencia de otros agentes hepatotóxicos y el hallazgo constante de restos de larvas en los pre-estómagos de los animales muertos sugirieron una intoxicación por larvas de mosca sierra. Ambos trabajos experimentales mostraron concluyentemente la toxicidad de las larvas de *Perreyia flavipes* para los bovinos y los ovinos, siendo por tanto la causa de las mortalidades. Los hallazgos histopatológicos y de necropsia de los casos de campo y experimentales mostraron que la necrosis hepática es el principal efecto tóxico de las larvas de *P. flavipes*. La lesión hepática varió de una leve necrosis hepática periácinar con recuperación en el ternero N° 2, dosificado con 9 g/kg, hasta una severa necrosis masiva y muerte sobreaguda en 24 horas en el ternero N° 1 y 14 horas en el ovino N° 3, con 40 g/kg de larvas de *P. flavipes*. Dado que el contenido en materia seca de *P. flavipes* es 17%, la dosis de 9 g/kg es similar a la dosis letal media de 1.8 g de materia seca de larvas/kg de peso vivo reportada con las larvas de *L. interrupta*.<sup>13</sup> Los signos neurológicos de excitación o depresión y el edema y vacuolización de la sustancia blanca, encontrados en los casos naturales y experimentales, son del tipo de los encontrados en la encefalopatía hepática aguda.<sup>10</sup> Las hemorragias generalizadas en serosas, muy prominentes en algunos casos de campo, se presentan también en animales con necrosis



**Gráfica 3.** Ciclo biológico de *Perreyia flavipes*, según resultados de la presente investigación, y su relación con el crecimiento de las pasturas sobre suelos de cristalino.<sup>11</sup> Se observa el marcado crecimiento primaveral y el consiguiente acumulo de forraje en descomposición en otoño, del que se alimentan las larvas jóvenes. Los brotes ocurren en invierno, los años que aumenta la población de larvas.

hepáticas severas.<sup>2</sup> Así, el cuadro clínico y patológico de los animales intoxicados con *P. flavipes* es idéntico al de los bovinos intoxicados con larvas de *L. interrupta* y de los ovinos que ingieren larvas de *A. pullata*.<sup>13, 23</sup>

Severas pérdidas de animales ocurrieron por la ingestión de larvas de *Perreyia flavipes* en 1993, 1994 y 1995. Al menos 5 propiedades fueron afectadas en 1993 (Dr. Rodolfo Rivero, comunicación personal, 1995) y 3 en 1994, y en un relevamiento de predios afectados entre junio y julio de 1995 se informaron de 511 bovinos afectados en 32 predios ganaderos sobre un total de 25373 cabezas de ganado.<sup>7</sup> Las mortalidades brutas reportadas fueron de 1.6%, 7% y 1.3% en las categorías de terneros, sobreaños y adultos, respectivamente.<sup>7</sup> Mortalidades de hasta 28% se comprobaron en los potreros afectados de algunos establecimientos (Cuadro 1). Más establecimientos se vieron afectados entre agosto y principios de octubre de 1995, por lo que las pérdidas totales de vacunos probablemente excedieron las 1000 cabezas. Muertes de ovinos, con una incidencia de 2.5% y 4.5% fueron reportadas en 2 de los establecimientos relevados.<sup>7</sup> Tanto en Dinamarca como en Australia, numerosas pérdidas de animales ocurren también en cada brote, siendo en Australia los sobreaños también la categoría más afectada. En 1936, en Queensland, se observaron más de 800 cabezas de vacunos

mueras en un sólo establecimiento,<sup>14</sup> y un estudio más reciente reportó 5254 animales muertos en 37 predios entre los años 1972-81.<sup>6</sup>

El cuadro epidemiológico de la intoxicación por *P. flavipes* es el típico de una epidemia a fuente común o común repetida.<sup>7</sup> Similar a lo reportado en *Perreyia lepida*, ("mata porco"), cuyas larvas se observan preferentemente los días fríos o nublados, 20 numerosos grupos activos de larvas de *P. flavipes* se observaron algunos días mientras que pocos o ningún grupo se observó los siguientes días. Como la toxicidad de las larvas de *P. flavipes* no presenta efecto acumulativo, 22 parecería que una rápida ingestión de las larvas ocurre en el momento en que estas son abundantes en las pasturas. Así, el curso corto y explosivo de los brotes, la alta mortalidad y la aparición repetida de la enfermedad en los predios A y B (Cuadro 1) pueden ser explicados por la rápida ingestión de las larvas los días que estas son numerosas. Características similares han sido reconocidas en Australia, donde los animales parecen adquirir un gusto especial por las larvas de *L. interrupta*.<sup>4</sup> Se ha sugerido incluso la presencia de un factor químico, distinto a la toxina, causante de la palatabilidad que hace que los animales busquen e ingieran las larvas.<sup>14</sup>

A pesar de que *Perreyia flavipes* se distribuye ampliamente en el sur de Brasil

y en Argentina,<sup>21</sup> la enfermedad se ha visto hasta ahora limitada a la región centro-sur del Uruguay, principalmente en los departamentos de Durazno y Florida. Brotes de la enfermedad se han visto también en Flores, Lavalleja, Tacuarembó y Cerro Largo (Figura 9). El mapa de superposición mostró que no existía ninguna relación entre la densidad forestal (principalmente en base a *Eucalyptus* spp.) y la aparición de los brotes, a diferencia de lo que ocurre en Australia con el *Eucalyptus melanophloia* y en Dinamarca con los abedules (*Betula pendula*).<sup>13, 23</sup> En cambio, en los 3 años de ocurrencia, los brotes se localizaron a lo largo de la Cuchilla Grande, Cuchilla Grande Inferior y Cuchilla de Durazno, en áreas de suelos sobre basamento cristalino (Figura 9). Las pasturas asociadas a estos suelos tienen un ciclo de crecimiento marcadamente primavera-estival, y son muy sensibles a condiciones climáticas y de manejo, tales como las precipitaciones, la carga animal, el sistema de pastoreo y la relación lanar/vacuno.<sup>8</sup> La sensibilidad a estas variables es aún más acentuada en los suelos más superficiales, que generalmente predominan en las zonas más altas.<sup>8</sup> En este tipo de suelos, el exceso de lluvias constatado en primavera y verano de los años que ocurrió la enfermedad (Fig. 10), la menor dotación animal (Fig. 11) y la mayor relación lanar/vacuno de los predios afectados, causó el acumulo de pasturas observados en los potreros donde ocurrió la enfermedad. Esto sugiere que el acumulo de restos vegetales secos es un factor de riesgo importante en la ocurrencia de la intoxicación, modificando, de alguna forma, la dinámica poblacional del insecto. En Australia grandes mortalidades de animales ocurren asociadas siempre a la aparición de grandes cantidades de larvas de *L. interrupta*.<sup>14, 4</sup> No existen estudios anteriores la dinámica poblacional de *P. flavipes*, pero los estudios realizados en la presente investigación sobre la biología del insecto pueden ayudar a explicar los años que las larvas se presenta en gran número y desencadenan la ocurrencia de la enfermedad.

Esta es la primera vez que se comunica la presencia de *Perreyia flavipes* en el Uruguay. Las larvas eran previamente desconocidas y no existían estudios pre-

vios sobre la biología del insecto. Similar a lo que ocurre con *L. interrupta* y *A. pullata*,<sup>4,23</sup> existe una sola generación al año de *P. flavipes*. Los adultos de *P. flavipes* aparecen a fines del verano, tienen una vida muy corta y no necesitan de ninguna fuente de alimento. A diferencia de *L. interrupta* y *A. pullata*,<sup>4,23</sup> *P. flavipes* no tiene una vegetación huésped específica. Las larvas más grandes de *P. flavipes* sobreviven indistintamente con hojas de gramíneas verdes, restos vegetales secos o en descomposición o incluso heces bovinas, similar a lo reportado para *Perreyia lepida*.<sup>20</sup> Las larvas jóvenes, por el contrario, son más exigentes en su alimentación, ya que la mayor sobrevivencia se constató cuando fueron alimentadas con restos vegetales en descomposición. Los huevos requieren también para su sobrevivencia de condiciones de humedad adecuadas, por lo que la hembra de *P. flavipes* los protege de la desecación depositándolos en el suelo, bajo restos vegetales. Por lo tanto, la dinámica poblacional de *Perreyia flavipes* probablemente se regula por la mayor o menor sobrevida de los huevos y de las larvas más jóvenes, mucho más exigentes a las condiciones de humedad y alimentación, respectivamente. Así, el exceso de lluvias de primavera y verano, que causó el gran crecimiento de las pasturas, y la sequía y heladas del otoño e invierno siguiente, que provocaron la formación de abundantes restos vegetales en descomposición, creó las condiciones favorables para la sobrevida de los huevos y las larvas jóvenes, y provocó el aumento de la población larvaria causante de los brotes de intoxicación de 1993, 1994 y 1995 (Fig. 16). Obviamente, la baja dotación animal, la mayor relación lanar/vacuno y la mayor sensibilidad a condiciones climáticas y de manejo de las pasturas de cristalino de las zonas altas, contribuyen también a generar condiciones favorables al acumulo de restos vegetales en descomposición y ayudan a explicar la aparición de la enfermedad en una región limitada del país. Los datos de esta investigación evidencian que, para evitar un aumento crítico en la población de larvas y prevenir los brotes de intoxicación, deberá evitarse el acumulo de forraje al final del verano y principios de otoño, de forma de dismi-

nuir la cantidad de materia vegetal muerta que sirve de alimento a las larvas jóvenes y disminuir la humedad que preserva los huevos. Esto podría ser alcanzado mediante el pastoreo con altas dotaciones, al menos en aquellos potreros donde la enfermedad ocurrió anteriormente. En Australia se ha sugerido la suplementación con fósforo o proteínas para evitar la intoxicación,<sup>4</sup> pero estas medidas no resultaron eficientes en la práctica ya que los animales continúan ingiriendo las larvas.<sup>13</sup> El uso de antidotos utilizados para tratar la intoxicación por hongos del género *Amanita*, que poseen similar principio activo que *L. Interrupta*, *A. pullata*, y *P. flavipes*,<sup>15, 16, 17</sup> es impracticable en condiciones de campo ya que los animales son generalmente encontrados muertos o con lesiones hepáticas irreversibles. Aunque técnicamente posible, desarrollar métodos de inmunización con la toxina de las larvas se considera muy costoso,<sup>6</sup> y su efectividad es también cuestionable dado el repentino y elevado nivel de toxina en sangre que se da en los animales intoxicados (Ross A. McKenzie, comunicación personal, 1996). La continuación de los estudios epidemiológicos y de la biología de *P. flavipes* permitirá establecer formas de prever la intoxicación y desarrollar nuevos métodos de control.

Un octapéptido hepatotóxico conteniendo 4 D-aminoácidos, denominado lophyrotomina, ha sido identificado en las larvas de *L. interrupta* y *A. pullata* (Oelrichs y col., 1977; Kannan y col., 1988).<sup>9, 16</sup> Pequeñas cantidades de lophyrotomina y grandes cantidades de otro polipéptido hepatotóxico, compuesto por 7 aminoácidos y un grupo fosfato terminal, fueron también identificados en las larvas de *P. flavipes* (Oelrichs y col., 1997). El nuevo heptapéptido de *Perreyia flavipes* de Uruguay se denominó pergidina, y el mismo se encuentra presente en pequeñas cantidades también en *Lophyrotoma interrupta* y *Arge pullata*.<sup>15</sup> Nuevos estudios deberían aclarar la importancia biológica y taxonómica de éste nuevo polipéptido tóxico y determinar su relación con la lophyrotomina, así como la ventaja evolutiva que le proporciona a la especie. La evidencia disponible sugiere que la lophyrotomina y la pergidina son sintetizadas de novo por la larva, y no

obtenida del alimento o biosintetizada por microorganismos que viven simbióticamente con la misma.<sup>15, 17</sup> El stress provocado a larvas de *L. interrupta* provoca la descarga de un fluido oleoso que contiene hasta 10 veces más concentración de lophyrotomina que la larva entera,<sup>17</sup> y un fluido oleoso similar es segregado también por las larvas de *P. lepida* ante la agresión.<sup>5</sup> Esto sugiere que la toxina puede haberse desarrollado con fines de defensa frente a los predadores, dado que la misma es fuertemente ácida y presenta varios D-aminoácidos y el extremo N-terminal bloqueado, características que la hacen resistente a la hidrólisis en el tubo digestivo.<sup>17, 25</sup> La identificación de la lophyrotomina y pergidina en especies con hábitos alimenticios tan diferentes como *L. interrupta*, *A. pullata* y *P. flavipes* es una fuerte evidencia de que ésta clase de insectos sintetiza la hepatotoxina de novo, por lo que, probablemente, nuevos géneros y/o especies tóxicas de moscas sierras serán reconocidos en el futuro.

## CONCLUSIONES

1. Las larvas de *Perreyia flavipes* son tóxicas para bovinos y ovinos, y fueron la causa de los brotes ocurridos en la región centro-sur de Uruguay en 1993, 1994 y 1995.
2. El principal efecto tóxico de las larvas es una necrosis hepática aguda de distribución periacinar o masiva.
3. La enfermedad se presenta en los meses de junio a septiembre, cuando existen gran cantidad de larvas, y los brotes se caracterizan por la muerte de numerosos animales en pocos días.
4. El ciclo biológico de *Perreyia flavipes* se caracteriza por presentar una generación al año.
5. El acumulo de forraje en descomposición durante el otoño favorece la supervivencia de los huevos y las larvas jóvenes y explica la ocurrencia de los brotes de intoxicación del siguiente invierno.
6. El exceso de lluvias en primavera y verano y el acumulo consiguiente de forraje en otoño pueden ser in-

dicadores de riesgo y predecir la ocurrencia de brotes el siguiente invierno

7. Medidas de manejo que eviten el exceso de forraje en otoño permitirá controlar la aparición de la enfermedad.

### Agradecimientos

El autor agradece a Franklin Riet-Correa y Carmen Méndez, por la oportunidad, incentivo, y gran ayuda en la realización de este estudio. Solamente con su apoyo fue posible la conclusión de este trabajo. Al ayudante de laboratorio de DILAVE "Miguel C Rubino" de Treinta y Tres,

Sr. Henry Machado, por la colaboración en la colecta y cultivo de las larvas. Al colega Dr. Rúben Araujo de Cerro Chato por la confianza puesta en el Laboratorio Regional y por facilitar el acceso a diversos predios afectados, y al Dr. Norberto Paiva por la donación del ternero para la reproducción experimental.

### Referencias Bibliográficas

1. **Azevedo Marques, L.A.** (1933). Tenthredinidae "Mosca de Serra" cuja larva, ou "falsa lagarta" é nociva a várias espécies do gênero *Tibouchina* (Biologia de Bergiana cyanocephala (Klug, 1824) Konow, 1899. **Min. Agric., Inst. Biol. Defesa Agric** Rio de Janeiro, 11p.
2. **Badylak, S.F.** (1988). Coagulation disorders and liver disease. **Vet. Clin. North. Am.: Small Anim. Pract.**, 18:87-93.
3. **Brummerstedt, E.; Kristensen, E.; Nielsen, A.; Belle-Hansen, A.** (1987). Death of a puppy after eating sawfly larvae. Case report. **Dansk-Veterinaertids**, 70(15):758-760.
4. **Callow, L.L.** (1955): Sawfly poisoning in cattle. **Qld. J. Agric. Sci.**, 81: 155-161.
5. **Costa Lima, A.** (1941). Bichos "Mata Porcos". **Chácaras e Quintais**, 63:43
6. **Dadswell, L.P.; Abott, W.D.; McKenzie, R.A.** (1985). The occurrence, cost and control of sawfly larval (*Lophyrotoma interrupta*) poisoning of cattle in Queensland 1972-81. **Australian Veterinary Journal**, 62:94-97.
7. **Diaz, L.E., Vitale, E., Etchegaray, F., Seoane, L.** (1995). Informe epidemiológico de casos en los departamentos de Durazno, Flores, Florida y Lavalleja. **M.G.A.P. (URUGUAY), D.S.A., Division Campañas Sanitarias I.**
8. **Formoso, D.** (1991). Productividad y manejo de pasturas naturales en Cristalino. **INIA, Serie Técnica N° 13**, 51-58, 1991.
9. **Kannan, R.; Oelrichs, P.B.; Thamsborg, S.M.; Williams, D.H.** (1988). Identification of the octapeptide lophyrotomin in the european birch sawfly (*Arge pullata*). **Toxicon**, 26:224-226.
10. **Little, P.B.** (1990). Schedule fo graduate neuropathology. **XVth SIDA Course on Veterinary Pathology**, Uppsala, Sweden. July 1990, p. 59.
11. **Mas, C.; Bermúdez, R.; Ayala, W.** (1991). Crecimiento de las pasturas naturales en dos suelos de la región Este. **INIA, Serie Técnica N° 13**, 59-67, 1991.
12. **MCKenzie, R.A.; Rogers, R.J.; Oelrichs, P.B.** 1985a. Sawfly larvae poisoning of cattle in Queensland. **Plant Toxicology. Proceedings of the Australia-U.S.A. Poisonous Plants Symposium**, Brisbane, Australia, May 14-18, 524-532. Yeerongpilly, Australia; Animal Research Institute.
13. **MCKenzie, R.A.; Dunster, P.J.; Twist, J.O.; Dimmock, C.K.; Oelrichs, P.B.; Rogers, R.J.; Reichmann, K.G.** (1985b). The toxicity of sawfly larvae (*Lophyrotoma interrupta*) to cattle. **Qld. Dept. Prim. Ind. Bull.** QB85001.
14. **Oelrichs, P.B.** (1982). Sawfly poisoning of cattle. **Qld. Agric. J.**, 108:110-112.
15. **Oelrichs, P.B.; MacLeod, J.K.; Seawright, A.A.; Ng, J.C.; Dutra, F.; Riet-Correa, F.; Méndez, M.C.** (1997). The purification and isolation of two hepatotoxic compounds from uruguay sawfly (*Perreyia lepida*). **5th International Symposium on Poisonous Plants**. Santa Angelo, Texas, USA, May 19-23, p.132.
16. **Oelrichs, P.B.; Vallely, P.J.** (1977). Lophyrotomin, a new octapeptide from the larvae of sawfly, *Lophyrotoma interrupta*. **Lloydia**, 40:209-214.
17. **Oelrichs, P.B.; Williams, D.H.; Thamsborg, S.M.** (1989). Identification of the octapeptide lophyrotomin in the european birch sawfly (*Arge pullata*) and some studies on its role and biosynthesis.
18. **Olaechea, F.V.; Thamsborg, S.M.; Chistensen, N.O.; Nansen, P.; Robles, A.** (1991). Interference with sawfly (*Arge pullata*) poisoning in *Fasciola hepatica*-infected lambs. **J. Comp. Path.**, 104:419-431.
19. **Roberts, F.H.S.** (1932). The cattle-poisoning sawfly (*Pterygophorus analis* Costa). **Qd. Agric. J.**, 37:41-52.
20. **Rodrigues Camargo, O.** (1955). Contribuição ao estudo do Tenthredinideo "Mata Porcos", *Paraperreya dorsuaria* (Konow, 1899), No Rio Grande Do Sul. **TESE, Escola de Agronomia e Veterinaria da Universidade do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, RS, Brasil.
21. **Smith, D.R.** (1990). A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphyta) of America South of the United States: Pergidae. **Rev. Bras. Ent.**, 34(1): 7-200.
22. **Soares, M.P.** (1997). Intoxicação por larvas de *Perreyia lepida* em suínos. **Tese de Mestrado, Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, RS, Brasil.
23. **Thamsborg, S.M.; Jorgesen, R.J.; Brummerstedt, E.** (1987). Sawfly poisoning in sheep and goats. **Vet. Rec.**, 12:253-255.
24. **Thamsborg, S.M.; Jorgensen, R.J.; Brummerstedt, E.; Bjerregard, J.** (1996). Putative effect of Silymarin on sawfly (*Arge pullata*)-induced hepatotoxicosis in sheep". **Vet. & Human Toxicology**, 38 (2):89-91.
25. **Williams, D.H.; Santikarn, S.; DE Angelis, F.; Smith, R.J.; Reid, D.G.** (1983). The structure of a toxic octapeptide from the sawfly larvae. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. I**:1869-1878.