

Comparación entre el modelo Probit y el modelo de Hill para determinar la eficacia de Ivermectina sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari, Ixodida: Ixodidae) mediante la Técnica de Inmersión

Torrents J¹, Formentini E², Nava S³.

¹Cátedra de Zoología, FCV-UNL

²Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA EEA Rafaela)

torrentsjorgelina@gmail.com

Rhipicephalus (Boophilus) microplus vulgarmente conocida como garrapata común del bovino, es el ectoparásito hematófago de mayor importancia a nivel mundial para la producción pecuaria bovina. En Argentina este ectoparásito se encuentra distribuido en la zona norte al paralelo 30°-31° S, produciendo grandes pérdidas directas e indirectas en la producción, además de ser vector exclusivo de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*. El método de control más utilizado en la Argentina es el empleo de garrapaticidas químicos, cuyo uso indiscriminado ha derivado en la aparición de resistencia a las drogas arsenicales, organofosforados, piretroides, formamidinas y fenilpirazoles. También es posible que la resistencia ya se encuentre establecida para drogas como ivermectina (IVM), fluzurón y fipronil³. El diagnóstico de resistencia *in vitro* es una herramienta útil para conocer el estado actual de sensibilidad a los principios activos empleados para su control, además de permitir elaborar estrategias de tratamiento en función de los principios químicos que aún se encuentran activos en cada establecimiento. Las técnicas *in vitro* para determinar la sensibilidad y la resistencia de este ectoparásito a los principios activos en uso se hallan estandarizadas por la FAO¹, proponiendo el empleo del modelo PROBIT para el ajuste de los datos de eficacia en función de concentraciones crecientes de los principios activos en estudio y el posterior cálculo de las concentraciones efectivas al 50% (C₅₀), 90% (C₉₀) y 99% (C₉₉). El modelo PROBIT se basa en transformar los datos experimentales (log concentraciones y % eficacia expresados como unidades PROBIT) de manera que los mismos puedan ser analizados con una función lineal de primer grado o ecuación de la recta. Actualmente se dispone de softwares capaces de analizar los datos directamente sin linearización usando modelos no lineales como el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de HILL². En este ensayo se estudió la actividad de IVM sobre una cepa sensible de *R. microplus* (0.17) identificada como S mediante la técnica de inmersión de larvas (TLI), utilizando un estándar de IVM de pureza conocida (Sigma-Adrich) en un intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 50 ppm. El recuento de larvas vivas y muertas se realizó a las 24 h y los resultados de la curva concentración (ppm)-eficacia (% muertas) fueron ajustados con el modelo PROBIT (LeOra Software, 2003) y con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de HILL mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados utilizando el software ADAPT II (BMRS, University of Southern California, USA). El modelo de HILL es descrito como: $E = E_0 + [(E_{\max} \cdot C^N)/(C_{50}^N + C^N)]$, donde E es el efecto expresado en %, E₀ es el efecto basal, E_{max} es el efecto máximo, C es la concentración, C₅₀ es la concentración que logra el 50% de E_{max} y N es el coeficiente de sigmoidicidad o de HILL². La discriminación del ajuste obtenido con los dos modelos se realizó por: (i) inspección visual de los datos observados y estimados por los mismos, (ii) inspección visual de la dispersión al azar de las residuales alrededor de los valores estimados y (iii) evaluación de los valores de la sumatoria del cuadrado de las residuales (SSR). Los valores de concentración efectiva al 50% (C₅₀), al 90% (C₉₀) y al 99% (C₉₉) se estimaron con ambos modelos. La dosis discriminante (DD) de IVM para cada modelo se estimó como C₉₉ x 2. El ajuste de los datos experimentales (% eficacia) en función de las concentraciones de IVM (ppm) sobre larvas de la cepa S (0.17) de *R. microplus* y las gráficas de la dispersión de las residuales versus el eje de las abscisas obtenidas con el modelo PROBIT y con el modelo de HILL se presentan en la figura 1.

VII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Noviembre 2019. Esperanza. Santa Fe. Argentina.

Área temática: **SALUD ANIMAL**

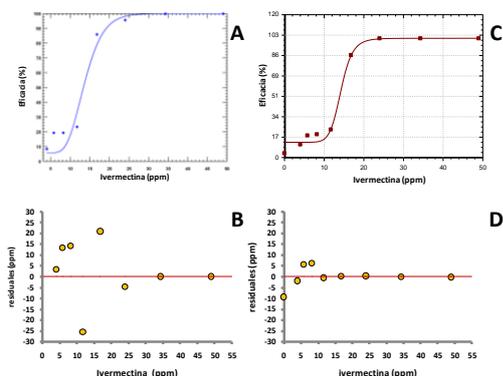


Figura 1. Ajuste de los datos experimentales (% eficacia) en función de las concentraciones de IVM (ppm) sobre larvas de la cepa S (0.17) de *R. microplus* con el modelo PROBIT (A y B) y con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de HILL (C y D). A y C corresponden al ajuste de los datos de eficacia con el modelo de PROBIT y de HILL respectivamente y B y D corresponden a la dispersión de las residuales obtenidos con el modelo PROBIT y de HILL respectivamente.

Parámetros	Valores
E_0 (%)	12,83
$E_{max\ est}$ (%)	87,38
$E_{max\ real}$ (%)	100,21
CE_{50} (ppm)	14,24
N	9,81

Los parámetros de ajuste estimados con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de HILL se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros estimados a partir del ajuste de los datos de eficacia y concentración de IVM con el modelo de HILL.

Los valores de SSR, las C_{50} , C_{90} y C_{99} (ppm) de IVM estimadas a partir de los resultados obtenidos con el modelo PROBIT y el modelo de HILL y la DD estimada a partir de los resultados obtenidos con ambos modelos se presentan en la tabla 2.

Parámetros	Probit	Modelo de Hill
SSR	1503,45	161,63
C_{50} (ppm)	13,58	14,24
C_{90} (ppm)	19,31	17,50
C_{99} (ppm)	25,74	21,98
Dosis discriminante (ppm)	51,48	43,96

Tabla 2. Sumatoria de las residuales al cuadrado (SSR), concentraciones de IVM con el 50%, 90% y 99% de eficacia y las dosis discriminantes (DD) estimadas con el modelo PROBIT y el modelo de HILL.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el análisis de los datos experimentales con el modelo de HILL proporcionó información acerca de una actividad basal (E_0) observada a bajas concentraciones de IVM (12,83%), fenómeno que no pudo ser discriminado por el modelo PROBIT. Por otra parte, el valor de $N > 1$ (9,81), indica que IVM presenta sobre las larvas de *R. microplus* una actividad de tipo todo o nada. El valor adimensional de N es más fácil de interpretar que la pendiente generada por el modelo PROBIT, y podría ser utilizado para discriminar cepas de larvas con distinta sensibilidad a la respuesta de las concentraciones de IVM. Respecto de la bondad de ajuste obtenida con los modelos PROBIT y de HILL podemos concluir que para este último se obtuvo un mejor ajuste (Figura 1 A y C), una dispersión de residuales más cercana al valor estimado (Figura 1 B y D) y menores valores de SSR (Tabla 2). Estos resultados mostraron que el modelo de HILL permitiría estimar valores de C_{50} , C_{90} y C_{99} más robustos y precisos que los que se obtendrían con el modelo PROBIT, permitiendo estimar una DD más precisa. Un mayor número de aislamientos tratados, así como la incorporación de nuevas concentraciones en el protocolo de TLI permitirán obtener nuevas perspectivas sobre la interpretación de los resultados *in vitro*, pudiendo tener alternativas con mejor ajuste. El conocimiento de la acción de esta droga a campo nos permitirá determinar cuáles son los modelos que se ajustan de mejor forma al procesamiento de los datos obtenidos en laboratorio.

Bibliografía

- 1- FAO. (2004). Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention Agr. Dept. Animal Production and Health Division. Roma, Italia, 25-77.
- 2- Goutelle, S.; Maurin, M.; Rougier, F.; Barbaut, X., Bourguignon, L.; Ducher, M.; Maire, P. (2008). The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundamental Clinical Pharmacology*, 22(6), 633-648.
- 3- Nava, S.; Morel, N.; Mangold, A.J.; Guglielmo, A.A. (2018). Un caso de resistencia de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) al fipronil detectado en pruebas de campo en el este de Santiago del Estero. Argentina. *Revista FAVE*, 17, 1-5.