

## Determinación de la Concentración Efectiva 50, 90 y 99 de Ivermectina sobre una cepa de Garrapata común del Bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) proveniente de la Provincia de Santa Fe-Argentina

Torrents J<sup>1</sup>, Formentini E<sup>2</sup>, Nava S<sup>3</sup>.

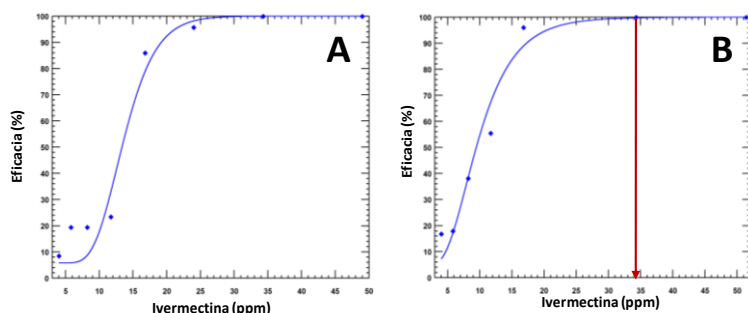
<sup>1</sup>Cátedra de Zoología, FCV-UNL

<sup>2</sup>Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA EEA Rafaela)

[torrentsjorgelina@gmail.com](mailto:torrentsjorgelina@gmail.com)

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (garrapata común del bovino) es el ectoparásito hematófago de los bovinos de mayor importancia a nivel mundial para la producción pecuaria. En Argentina esta garrapata se encuentra distribuida en la zona norte al paralelo 30°-31° S, generando grandes pérdidas directas e indirectas en la producción pecuaria, además de ser el vector exclusivo de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*. El método más utilizado en la Argentina para controlar a este ectoparásito es el empleo de químicos, cuyo uso indiscriminado ha derivado en la emergencia de resistencia a los siguientes principios activos: arsenicales, organofosforados, piretroides, formamidinas y los fenilpirazoles. Es posible que la resistencia ya se encuentre establecida para drogas como ivermectina (IVM), fluzarón y fipronil. El diagnóstico *in vitro* de sensibilidad de *R. microplus* a IVM es una herramienta útil para conocer el nivel actual de resistencia a esta droga, además de permitir en base a los resultados, elaborar estrategias de tratamiento en función de los principios químicos que aún son activos en cada establecimiento. Para la detección de resistencia de IVM en larvas de *R. microplus*, la FAO recomienda la utilización del test de paquete de larvas (LPT)<sup>1</sup>. Sin embargo para IVM se ha demostrado que el test de inmersión de larvas (TLI) presenta mayor sensibilidad<sup>3</sup>. El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos por estas técnicas se encuentra estandarizado por la FAO<sup>1</sup>, que recomienda el uso del modelo PROBIT para el ajuste de las curvas concentración-eficacia. Es de suma importancia disponer de datos de sensibilidad de las cepas autóctonas de *R. microplus* a IVM en la región para poder detectar la emergencia de cepas resistentes, ya que no se pueden tomar como referencia resultados obtenidos en otras regiones del mundo, debido a que variaciones entre las muestras, entre los bioensayos o bien variaciones naturales, pueden determinar que los resultados de una región no sean comparables con los de otra<sup>2</sup>. El objetivo de este estudio preliminar fue determinar mediante la técnica de TLI la sensibilidad de una cepa autóctona de *R. microplus* aislada en la provincia de Santa Fe - Argentina, susceptible a IVM, a fin de disponer de parámetros que nos permitan detectar poblaciones de *R. microplus* susceptibles o resistentes a través del análisis de los resultados mediante el modelo PROBIT. Se utilizaron dos cepas autóctonas de *R. microplus*; una cepa sensible (0.17) identificada como S y una cepa test (0.29) identificada como T. El ensayo de TLI se realizó según metodología reportada previamente<sup>3</sup>, utilizando un estándar de IVM de pureza conocida (Sigma-Aldrich). Brevemente, las larvas de *R. microplus* se enfrentaron a concentraciones crecientes de IVM y luego de 24 h de exposición se determinó la eficacia expresándola como % de mortalidad de las mismas mediante el recuento de larvas vivas y muertas. Los resultados fueron ajustados con el modelo PROBIT (LeOra Software, 2003). Para las dos cepas (S y T) se estimaron los valores de las concentraciones efectivas 50% (C<sub>50</sub>) y 90% (C<sub>90</sub>) respectivamente, mientras que para la cepa S (0.17) se estimó el valor de la concentración efectiva 99% (C<sub>99</sub>) con la que se calculó la dosis discriminante (DD) como C<sub>99</sub> x 2<sup>2</sup>. Para evaluar la susceptibilidad de la cepa T (0.29) se utilizaron los valores de relación de resistencia (RR) que se estimaron como el cociente entre los valores de C<sub>50</sub> de las cepas T y S (C<sub>50-T</sub>/C<sub>50-S</sub>) y entre las C<sub>90</sub> entre las cepas T y S (C<sub>90-T</sub>/C<sub>90-S</sub>). El valor de RR permite clasificar las poblaciones de larvas en tres categorías: (i) susceptibles (RR ≤ 1); (ii) incipientemente resistentes (RR entre 1 y 2) y (iii) resistentes (RR > 2)<sup>4</sup>. El ajuste de las curvas de concentración (ppm) de IVM vs. % de eficacia sobre larvas de las cepas S (0.17) y T (0.29) de *R. microplus* con el modelo PROBIT se presentan en la figura 1.



**Figura 1.** Ajuste de la relación concentración (ppm) y eficacia (%) de ivermectina con el modelo PROBIT sobre larvas de *R. microplus*; A corresponde a la cepa S (0.17) y B corresponde a la cepa T (0.29). En B la flecha indica la concentración de ivermectina (34,3 ppm) con la que se observó el 100% de eficacia.

Los valores de  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  de IVM (ppm) estimados para las cepas S (0.17) y T (0.29), y los valores de  $C_{99}$  y DD de IVM (ppm) para la cepa S (0.17) y los valores estimados de RR para  $C_{50}$  ( $C_{50-T}/C_{50-S}$ ) y  $C_{90}$  ( $C_{90-T}/C_{90-S}$ ) se presentan en la tabla 1.

Parámetros	Cepa 0.17	Cepa 0.29	RR
$C_{50}$ (ppm)	13,58	9,66	0,711
$C_{90}$ (ppm)	19,31	17,41	0,901
$C_{99}$ (ppm)	25,74	28,15	-
DD (ppm)	51,48	-	-

**Tabla 1.** Valores de  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  de IVM estimados para las cepas S (0.17) y T (0.29), y los valores de  $C_{99}$  y dosis discriminante (DD) de IVM (ppm) para la cepa S (0.17) y los valores estimados de RR para  $C_{50}$  ( $C_{50-T}/C_{50-S}$ ) y  $C_{90}$  ( $C_{90-T}/C_{90-S}$ ).

Los resultados obtenidos con modelo PROBIT (LeOra Software, 2003) nos permiten inferir que la cepa T (0.29) es susceptible respecto de los parámetros de eficacia obtenidos a partir de la cepa S (0.17). En la tabla 1 se puede observar que tanto los valores de  $C_{50}$  como de  $C_{90}$  de la cepa T (0.29) son menores a los de la cepa S (0.17), de manera que fue más fácil determinar la susceptibilidad de esta por medio de la estimación de RR, siendo estos valores  $< 1$  tanto para  $C_{50}$  (RR: 0,711) y  $C_{90}$  (RR: 0,901), lo cual se interpreta como susceptibilidad de la cepa T (0.29). En la figura 1 B puede observarse que para la cepa T (0.29), la eficacia o mortalidad del 100% de las larvas de *R. microplus* se observó a una concentración de IVM de 34,3 ppm, que es una concentración menor a la DD estimada a partir de la cepa S (0.17) de 51,48 ppm (Tabla 1). En este estudio preliminar hemos corroborado *in vitro* la sensibilidad de nuestra cepa de referencia S (0.17) que fuera previamente determinada (*in vivo*) por nuestro equipo de trabajo en ensayos a campo en los que se observó que la sensibilidad de esta a IVM fue  $\geq$  al 95%, por lo que podríamos inferir que los resultados obtenidos en los ensayos *in vitro* e *in vivo* se correlacionan. Concluyendo, en base a la determinación de la sensibilidad de nuestra cepa de referencia S (0.17) hemos determinado *in vitro* la susceptibilidad de la cepa T (0.29). Sin embargo, este resultado también debería ser contrastado con pruebas de campo. Sería de mucha utilidad la implementación de las técnicas *in vitro* y a campo (*in vivo*) sobre cepas incipientemente resistentes y resistentes.

## 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. Jonsson, N.N.; Miller, R.J.; Robertson, J.L. (2007). Critical evaluation of the modified-adult immersion test with discriminating dose bioassay for *Boophilus microplus* using American and Australian isolates. Vet. Parasitol, 146, 307–315.
3. Klafke, G.M.; Sabatini, G.A.; de Albuquerque, T.A.; Martins, J.R.; Kemp, D.H.; Miller, R.J.; Schumaker, T.T. (2006). Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. Vet. Parasitol, 142, 386–390.
4. Robertson, J.L.; Russell, R.M.; Presler, H.K.; Savin, N.E.; (2007). Quarantine statistics. In: Bioassays with Arthropods, 2<sup>nd</sup> ed. CRC Press.