

## Sensibilidad de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a ivermectina estimada con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill

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

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

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

<sup>3</sup>INTA, Estación Experimental Rafaela.

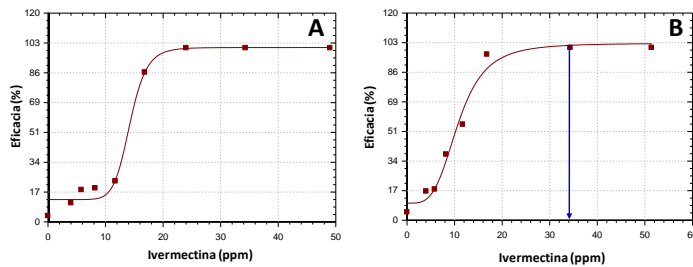
[torrentsjorgelina@gmail.com](mailto:torrentsjorgelina@gmail.com)

*Rhipicephalus(Boophilus) microplus* (garrapata común del bovino) es el ectoparásito hematófago de los bovinos de mayor importancia a nivel mundial para la producción pecuaria. 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), fluzurón y fipronil. Para la detección de resistencia de IVM en larvas de *R. (B) microplus*, la FAO recomienda la utilización del test de paquete de larvas (LPT)<sup>2</sup>. Sin embargo, para IVM se ha demostrado que el test de inmersión de larvas (TLI) presenta mayor sensibilidad. El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos por estas técnicas se encuentra estandarizado por la FAO<sup>2</sup>, que recomienda el uso del modelo PROBIT para el ajuste de las curvas concentración-respuesta. Sin embargo, existen modelos matemáticos alternativos que permiten un análisis más preciso de los datos experimentales al tiempo que generan mayor cantidad de información. Uno de esos procedimientos es el ajuste de las curvas concentración-respuesta con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill<sup>3</sup>. Los objetivos de este estudio preliminar fueron: (i) determinar mediante la técnica de TLI la sensibilidad de una cepa autóctona de *R. (B) 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. (B) microplus* susceptibles o resistentes y (ii) estimar la sensibilidad de dos cepas autóctonas (sensible y test) mediante el ajuste de los datos experimentales de concentración-eficacia de IVM con el modelo de Hill<sup>3</sup>. Se utilizaron dos cepas de *R. (B) microplus*; una cepa sensible (0.17) identificada como S y una cepa test (0.29) identificada como T, ambas provenientes de la provincia de Santa Fe. El ensayo de TLI se realizó según metodología reportada previamente<sup>1</sup>, utilizando un estándar de IVM de pureza conocida (Sigma-Aldrich). Brevemente, las larvas de *R. (B) 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 sigmoideo de respuesta máxima o de Hill mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados con 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 % de larvas muertas, E<sub>0</sub> es el efecto basal, E<sub>max</sub> es el efecto máximo, C es la concentración de IVM, C<sub>50</sub> es la concentración de IVM que logra el 50% de E<sub>max</sub> y N es el coeficiente de sigmoidicidad o de Hill<sup>2</sup>. Para las dos cepas S (0.17) y T (0.29) 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>) a partir de la que se calculó la dosis discriminante (DD) como C<sub>99</sub> x 2<sup>3</sup>. Para evaluar la susceptibilidad de la cepa T (0.29) se utilizaron los valores de relación de resistencia (RR) estimados 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 los valores de C<sub>90</sub> de 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). El ajuste de las curvas de concentración (ppm) de IVM versus % de eficacia sobre larvas de las cepas S (0.17) y T (0.29) de *R. (B) microplus* con el modelo sigmoideo o 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 la relación concentración (ppm) y eficacia (%) de IVM con el modelo de Hill sobre larvas de *R. (B) microplus*; A corresponde a la cepa S (0.17) y B corresponde a la T (0.29). En B la flecha indica la concentración de IVM (34,3 ppm) con la que se observó el 100% de eficacia.

Parámetros	Cepa 0.17	Cepa 0.29
$E_0$ (%)	12,83	9,91
$E_{max}$ est (%)	87,38	92,57
$E_{max}$ real (%)	100,21	102,49
$C_{50}$ (ppm)	14,24	10,77
N	9,81	3,76
DD (ppm)	43,96	-

Los parámetros de ajuste estimados con el modelo de Hill para las cepas S (0.17) y T (0.29) se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros estimados a partir del ajuste de los datos de concentración y eficacia de ivermectina con el modelo de HILL para las cepas S (0.17) y T (0.29).

Los valores estimados de  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  de IVM (ppm) para las cepas S (0.17) y T (0.29), de  $C_{99}$  y DD de IVM (ppm) para la cepa S (0.17) y 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 2.

Parámetros	Cepa 0.17	Cepa 0.29	RR
$C_{50}$ (ppm)	14,24	10,77	0,756
$C_{90}$ (ppm)	17,50	17,66	1,009
$C_{99}$ (ppm)	21,98	25,50	-
DD (ppm)	43,96	-	-

**Tabla 2.** 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 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 de sensibilidad a IVM de las cepas S (0.17) y T (0.29) de *R. (B) microplus* obtenidas por ajuste de los datos de concentración (ppm) y eficacia (%) de IVM, permitieron observar dos fenómenos adicionales que no pueden ser discriminados por el modelo PROBIT. En primer lugar, IVM presenta un efecto de tipo todo o nada representado por el valor de  $N > 1$ . En el caso de la cepa S (0.17), esta respuesta fue más pronunciada ( $N > 9,81$ ) que la observada en la cepa T cuya respuesta según la concentración fue más gradual ( $N > 3,76$ ). En segundo lugar, se observó la presencia de un efecto a bajas concentraciones representados por valores de  $E_0$  de 12,83% y de 9,91% para las cepas S (0.17) y T (0.29) respectivamente. Estos datos pueden llegar a ser información adicional para establecer diferencias de sensibilidad a la IVM (valor de N) o de diferencias de actividad entre distintos principios activos (valor de  $E_0$ ). Por otra parte, podemos inferir que la cepa T (0.29) es susceptible respecto la cepa S (0.17). Por medio de la estimación de RR para  $C_{50}$  (RR: 0,756) y  $C_{90}$  (RR: 1,009) se observó que estos valores fueron  $\leq 1$ , 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 mortalidad del 100% de las larvas de *R. microplus* se observó a una concentración de IVM de 34,3 ppm, la que es menor a la DD de 43,96 ppm estimada a partir de la cepa S (0.17). En vista de los resultados obtenidos, proponemos que el análisis de los datos experimentales de concentración (ppm)-respuesta (% eficacia) de IVM sobre larvas de *R. (B) microplus* mediante el modelo de Hill podría ser considerado como una herramienta alternativa para detectar la emergencia de cepas resistentes a IVM.

## Bibliografía

- 1- Castro-Janer, E.; Rifran, L.; González, P.; Niell, C.; Piaggio, J.; Gil, A., Schumaker, TTS. (2011). Determination of the susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) to ivermectin and fipronil by larval immersion test (LIT) in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 178, 148-155
- 2- 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.
- 3- 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.