

Evaluación del Perfil de Sensibilidad de Poblaciones de Garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Frente a Ivermectina

Área del Conocimiento: (Arial negrita N°32)

Facultad: Ciencias Veterinarias

Becario/a: CAYO, Rocio Florencia

E-mail: rociofcayo95@gmail.com

Director/a: BOGADO, Edgar Fabián

Objetivos

Objetivo general

- ❖ Optimizar las técnicas *in vitro* para el diagnóstico de la resistencia adquirida a campo de la garrapata común del bovino a la Ivermectina.

Objetivos particulares

- ❖ Obtener valores de dosis letal 50 (DL50), y dosis letal 99 (DL99) de la cepa SENASA a la IVM para la Prueba de Paquete larvario.
- ❖ Obtener las dosis discriminatorias (DD) para cada bioensayo.
- ❖ Evaluar la resistencia adquirida a campo a la IVM de garrapatas provenientes de Establecimientos de la provincia de Corrientes.

Materiales y Método

-Población y Muestra: La cepa de garrapatas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de referencia sensible es mantenida en el Centro de Investigaciones de Fármacos Garrapaticidas de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE) (Fig.1).

Para el ciclo extra parasitario, las teleoginas recogidas se mantuvieron en Cajas de Petri a 27°C y 80% de humedad relativa (HR). Luego de 14 días se produjo la oviposición y la masa de huevos depositada se colocó en tubos de eclosión que contenía algodón humedecido con agua y un tapón de algodón en su extremo superior y manteniéndose en las mismas condiciones hasta el final del bioensayo. Desde que la teleogina es puesta a incubar pasan 14 días para la oviposición, luego, 7 días en promedio para comenzar la eclosión y posteriormente 14 a 21 días más para tener la edad óptima establecida. Por lo que, desde que la garrapata es recolectada del ternero hasta tener las larvas en la edad ideal, pasan entre 42 a 56 días.

Se obtuvieron ejemplares de 20 (veinte) establecimientos, 10 (diez) ubicadas en la provincia de Chaco y 10 (diez) en la provincia de Corrientes.

-Test de paquete larvario: El test de paquete larvario permite evaluar el perfil de sensibilidad de larvas de garrapatas diagnosticar el grado de resistencia adquirida para una determinada población de garrapatas (Stone y Haydock, 1962).

Para la caracterización de la cepa sensible frente a Ivermectina (IVM), se realizó el bioensayo con las siguientes concentraciones del principio activo: 0,015, 0,03 0,06, 0,125, 0,25, 0,5 %Peso/Volumen (P/V). El test se realizó en tres oportunidades espaciadas en el tiempo, a fin de comprobar la reproducibilidad de los resultados. Los eventos se identificaron como IVM1, IVM2 e IVM3, respectivamente. Se utilizó papel Whatman N°1 de tamaño 7,5 x 8,5 cm, el cual fue embebido con 0,67ml de las diferentes concentraciones (Fig.1). La mezcla de solventes utilizados consistió de dos partes de tricloroetileno y una parte de aceite de oliva extra virgen. Luego de la impregnación, los papeles se dejaron secar sujetos por uno de sus vértices con la ayuda de un clip tipo Bulldog a temperatura ambiente por 24hs. Esto se realizó por triplicado.

Transcurridas las 24 hs se procedió a cargar los sobres, cada uno conteniendo aproximadamente 100-150 larvas.

Una vez finalizada esta etapa, los sobres se colgaron en un dispositivo y fueron mantenidos en un cuarto estufa a 27°C y 80% de humedad relativa (HR) durante 24hs. Transcurrido el tiempo indicado, los sobres se retiraron de la estufa y se abrieron individualmente en el mismo orden en que fueron preparados. Con el puntero conectado a la bomba de vacío, se contaron las larvas vivas (se considera viva aquella larva que tiene la capacidad de trasladarse), luego las muertas (se considera larva muerta a aquella que no presenta movimiento o si lo hace, no se puede desplazar).

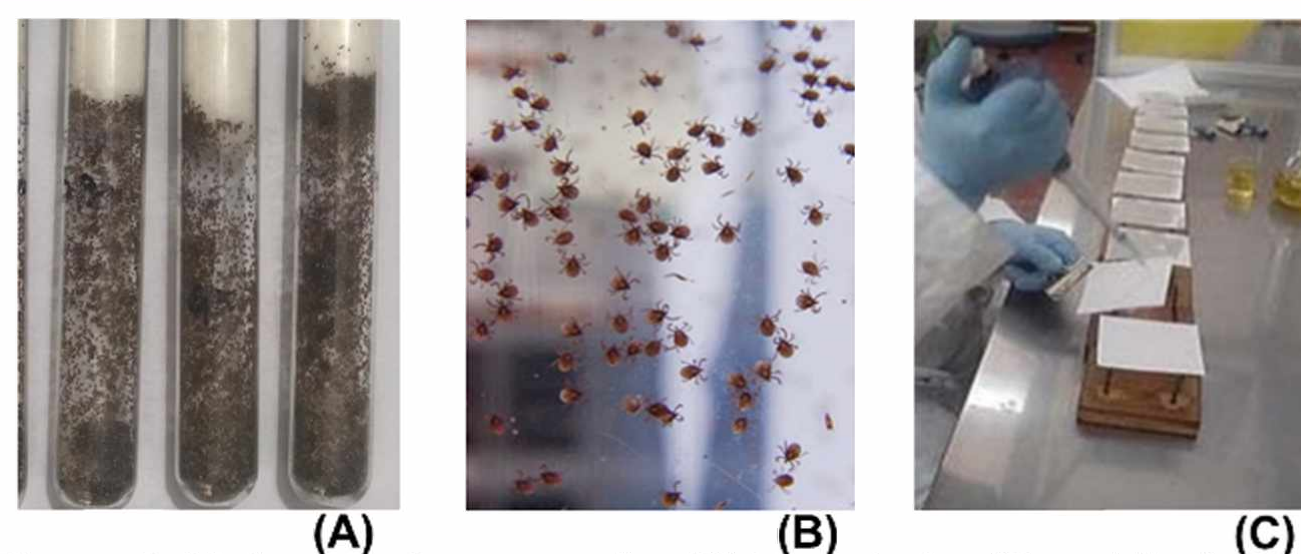


Figura 1 A): Larvas de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* mantenidas en el centro de investigación de Farmacos Garrapaticidas de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE). **B):** Observación de larvas a través de lupa estereoscópica. **C):** Impregnación de papeles Whatman N°1 con Ivermectina a diferentes concentraciones.

Resultados y Discusión

-Caracterización de la Cepa Sensible: Los resultados obtenidos del test de paquete larvario para los tres eventos (IVM1, IVM2 e IVM3), a las distintas concentraciones de IVM (%), fueron:

En los controles se observa un 0% de mortalidad, por lo que se descarta la influencia del solvente en la mortalidad de las larvas. Se puede observar que a la concentración de 0,06% P/V, la tasa de mortalidad es de un poco más que el 50% mientras que en la dosis de 0,25 % P/V, la mortalidad aumentó a más de un 99%, lo que permite dar una aproximación de cuales serían finalmente las concentraciones de DL50 y DL99,9.

Luego de caracterización de la cepa sensible, se obtuvo la Dosis Discriminatoria (DD), definida como el doble de la concentración de la DL99,9. La utilización de papeles impregnados a esta concentración permite facilitar el diagnóstico de resistencia adquirida a campo. El resultado de DD obtenida para la cepa de referencia caracterizada en el presente trabajo fue de 0.5% P/V.

-Análisis de Cepas de Campo: Se utilizaron larvas de 14-21 días de edad. Se impregnaron papeles por triplicado a la concentración de 0,5% Peso/Volumen con los que se analizaron las cepas obtenidas de la provincia de Chaco y Corrientes.

Se puede observar que a la DD, todas las muestras resultaron ser sensibles, es decir, se obtuvo cien por cien (100%) de mortalidad en cada caso, en las poblaciones procedentes de Chaco, sin embargo en tres de las muestras de Corrientes se observó un grado de resistencia alto. El resto de las muestras de Corrientes se mostraron sensibles a la molécula estudiada.

Bibliografía

- Castro Janer, E., Tizu Sato, T., Klafke, G.M., Rifran, L., González, P., Niell, C. y Namindome, A. (2012). Garrapata: resistencia a fipronil e ivermectina en rodeos vacunos de Uruguay y Brasil. *Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología del INIA*. 35, 14-29.
- Cuore, U., y Solari, M.A. (2014). Poblaciones multiresistentes de garrapatas *Rhipicephalus (boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 51(193), 4-13.
- Klafke, G.M., Castro Janer, E., Mendesc, M.C., Namindomea, A. y Schumaker, T.T.S. (2012). Applicability of in vitro bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari:Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 184, 212–220.
- Kunz, S.E. y Kemp, D.H. (1994). Insecticide and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev. Sci.Tech.*, 13(4), 1249-1286.