

ARTÍCULO ORIGINAL

Falla en la eficacia de dos formulaciones de ivermectina contra *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) en ovinos

Larroza M¹, Soler P¹, Robles C¹, Cabrera R¹, Canton C², Lanusse C², Lifschitz A^{2*}

¹ Grupo de Salud Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina.

² Laboratorio de Farmacología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UNCPBA - CONICET), Tandil, Argentina.

* Correspondencia: Adrián Lifschitz, CIVETAN (UNCPBA - CONICET), Campus Universitario (CP B7000GHG) Tandil, Argentina. E-mail: adrianl@vet.unicen.edu.ar

Recibido: 30 Mayo 2020. Aceptado: 22 Junio 2020. Disponible en línea: 23 Junio 2020

Editor: P. Beldomenico

RESUMEN. El presente trabajo evaluó la relación entre la eficacia y la farmacocinética de dos formulaciones comerciales inyectables de ivermectina (IVM) en ovinos merino adultos artificialmente infestados con *Psoroptes ovis*. Los animales fueron tratados por vía subcutánea con IVM 1 % en dos dosis con un intervalo de aplicación de 7 días, (0.2 mg/kg) o con una única dosis de IVM 3.15%, (1.05 mg/kg). Se realizaron conteos semanales de ácaros vivos mediante raspajes de piel entre el día 0 y 28 post-tratamiento para determinar la eficacia de los tratamientos, y se tomaron muestras de sangre para medir las concentraciones de IVM en plasma. Se observó una disminución significativa en los conteos de ácaros a partir del día 14 post-tratamiento, sin embargo, se encontraron ácaros vivos en todos los muestreos para ambos grupos. En el Grupo IVM 1%, la máxima eficacia se observó el día 28 post tratamiento (93.3%), mientras que en el Grupo IVM 3,15% este registro se obtuvo el día 21 (95.9%). Mayores concentraciones de IVM fueron observadas en los animales tratados con la formulación 3.15 %. La falla para obtener una cura parasitológica tras el tratamiento con ambas formulaciones de IVM puede ser indicativo de la presencia de ácaros resistentes a este principio activo.

SUMMARY. Failure of efficacy of two ivermectin formulations against *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) in sheep. The current work evaluated the relationship between efficacy and pharmacokinetics of two commercial injectable formulations of ivermectin (IVM) in adult merino sheep artificially infested with *Psoroptes ovis*. Animals were treated subcutaneously with IVM 1% formulation (two doses on days 0 and 7) at 0.2 mg / kg or with a single dose of IVM 3.15% preparation at 1.05 mg / kg. Live mites were counted weekly by performing skin scrapings between days 0 and 28 post-treatment to determine the efficacy of each IVM formulation. Blood samples were taken up to 35 days post-treatment to measure IVM plasma concentrations. A significant decrease in mite counts was observed from day 14 post-treatment. However, live mites were found in all samples for both groups throughout the entire trial. After IVM 1% administration, the highest efficacy was observed on day 28 (93.3% whereas in the IVM 3,15% group was obtained on day 21 post treatment (95.9%). Higher IVM plasma concentrations were observed in animals treated with the IVM 3.15% formulation. Failure to obtain a parasitological cure after treatment with both IVM formulations may reflect the presence of resistant mites to this drug.

Palabras clave: sarna ovina, *Psoroptes ovis*, eficacia, resistencia, ivermectina

Keywords: sheep scab, *Psoroptes ovis*, efficacy, resistance, ivermectin

Introducción

La sarna común o sarna psoróptica ovina es una enfermedad parasitaria altamente contagiosa, producida por ácaros del género *Psoroptes* var *ovis*. En Argentina, es la ectoparasitosis que mayores daños y pérdidas económicas causa en la producción ovina (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004; Olaechea y Romero, 2007), y su denuncia y control es obligatorio

según lo establece el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA, Ley N° 14.305).

La enfermedad se transmite principalmente por contacto directo entre ovinos, el ácaro es específico del huésped y todo su ciclo de vida ocurre en los animales (Van den Broek et al., 2003). La infestación con *P. ovis*, produce una dermatitis alérgica exudativa con formación de costras, alopecia y prurito. Durante los primeros estadios de la enfermedad se observan exudados

serosos y coloración amarillenta de la lana; luego se desarrollan grandes lesiones cubiertas de costras y la lana se cae en mechones. Debido a que estas lesiones son intensamente pruriginosas, los animales se rascan constantemente y se produce un daño secundario por mordisqueo del propio animal y por rascado sobre estructuras como postes o cercos. Los animales pierden condición corporal y peso, pueden presentar anemia y emaciación, y en casos graves o en animales que no reciben tratamientos, puede ocurrir la muerte (Kirkwood, 1980; Van Den Broek et al., 2003). Las pérdidas económicas no sólo son producto de la disminución de la productividad y la obtención de lana de mala calidad, leche y el bajo peso de los corderos (Olaechea y Romero, 2007), sino que también implica los costos de las consultas veterinarias y la inversión en tratamientos e instalaciones para su control.

En lo que respecta al control, las formas de tratamiento aprobadas actualmente en la Argentina son los baños de inmersión y la aplicación de productos inyectables subcutáneos aprobados oficialmente por el SENASA como antisármicos para ovinos. Los productos utilizados en los tratamientos por inmersión son organofosforados (diazinón), y piretroides (cipermetrina y deltametrina). En cuanto a los productos inyectables, se utilizan drogas del grupo de las lactonas macrocíclicas, principalmente avermectinas (ivermectina y doramectina), con esquemas terapéuticos que incluyen 2 dosis con un intervalo de aplicación de 7 días, o una sola dosis con productos de larga acción. Si bien la efectividad de las lactonas macrocíclicas contra *P. ovis* ha sido ampliamente comprobada (Campbell, 2012; Guillot y Meloney, 1982; Campbell y Benz, 1984), en los últimos años se ha reportado en el Reino Unido la resistencia de *P. ovis* a las lactonas macrocíclicas como la ivermectina, la doramectina y la moxidectina mediante pruebas *in vitro* (Doherty et al., 2018; Sturgess-Osborne et al., 2019). En Argentina, también se ha reportado una disminución de la efectividad de IVM en tratamientos contra sarna bovina en sistemas de engorde a corral (Lifschitz et al., 2018), y se han registrado fallas en los tratamientos controlados con IVM en ovinos a campo, en esquemas de aplicación de una o dos dosis (Abad y Saber, 2019).

En este contexto, el objetivo general de este trabajo fue evaluar la eficacia de dos esquemas terapéuticos con dos formulaciones de ivermectina (IVM) en ovinos confinados y artificialmente infestados con *P. ovis*. Adicionalmente se midieron las concentraciones de IVM en plasma para establecer una relación farmacocinética-farmacodinámica luego de la administración de ambas formulaciones.

Materiales y Métodos

Diseño experimental

El estudio fue realizado en instalaciones cuarentenarias del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

(INTA), en la Estación Experimental de San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. Diecinueve ovinos Merino adultos de ambos sexos fueron confinados juntos en un corral, con alimentación a base de fardos y pellets de alfalfa, y agua *ad libitum*. Los diecinueve animales fueron inoculados artificialmente con una cepa de *P. ovis* proveniente de un establecimiento con reporte de fallas en la efectividad del control de sarna clínica tratada con lactonas macrocíclicas. Una vez que se comprobó la infestación activa de todos los animales por *P. ovis*, mediante la observación de ácaros vivos en raspajes de piel, los ovinos fueron separados en tres grupos experimentales. Cada grupo experimental fue alojado en un corral y aislado del resto de los ovinos. El cuidado de los animales y los procedimientos técnicos se realizaron siguiendo las buenas prácticas ganaderas, de acuerdo con el Comité de Bienestar Animal y de conformidad con las directrices de gestión de la Política de Bienestar Animal (Protocolo 12/2013) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, Argentina (<http://www.vet.unicen.edu.ar>) y los lineamientos de la Asociación Mundial para el avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP) para la evaluación de la eficacia de los acaricidas contra la sarna en ovinos.

Inoculación experimental y tratamientos

Los ovinos se inocularon de acuerdo con Vercreysson et al. (2006). Para esto, se obtuvieron ácaros vivos mediante raspajes de piel realizados en ovinos donantes naturalmente infestados, e inmediatamente fueron inoculados en los animales de experimentación, sobre la piel de los hombros y caderas de ambos flancos. Para prevenir la pérdida del material inoculado por rascado, el mismo fue mantenido por 7 días sobre la piel mediante la colocación de bandas elásticas sobre el vellón circundante. Transcurrido ese tiempo, las bandas fueron retiradas y los ovinos fueron examinados periódicamente para comprobar la presencia de ácaros vivos y el desarrollo de lesiones.

Los animales infestados fueron pesados con una balanza digital y ubicados en tres grupos experimentales con un peso promedio de 47,7 kg. (rango: 40,9 – 52,3 kg.), y se alojaron en tres corrales separados de 6 x 3.5 m., sin contacto entre los grupos. Los ovinos de cada grupo recibieron los siguientes tratamientos:

- Grupo IVM 1%: (n: 6) tratados con IVM (Ivomec®, Merial), vía subcutánea, a la dosis de 0.2 mg/kg, los días 0 y 7.
- Grupo IVM 3.15%: (n: 7) tratados con IVM (Vermectin L.A.®, Over), vía subcutánea a la dosis de 1.05 mg/kg, el día 0.
- Grupo Control: (n: 6) sin tratamiento.

Las dosis fueron calculadas individualmente para cada animal, de acuerdo a su peso corporal al comienzo del ensayo (Día 0).

Observaciones parasitológicas y cálculo de la eficacia

Los días 0, 7, 14, 21 y 28 post-tratamiento se realizaron raspajes de piel y se tomaron seis muestras (3 cm²) sobre lesiones activas para el conteo de ácaros en el laboratorio de acuerdo con la técnica de observación directa en lupa estereoscópica y se registraron los valores individuales de conteos de ácaros vivos para cada animal. La eficacia de los tratamientos fue calculada de acuerdo con lo establecido por la WAAVP (Vercruyse et al., 2006), mediante la comparación de los conteos de ácaros en los grupos tratados y el grupo control, según la fórmula de Abbot (Abbott, 1925):

$$\text{Eficacia (\%)} = (T_{\text{control}} - T_{\text{tratado}}) / T_{\text{control}} \times 100$$

Determinaciones farmacológicas y procedimientos analíticos

Se tomaron muestras de sangre en tubos heparinizados Vacutainer® (Becton Dickinson, NJ, USA) previamente al tratamiento y los días 7, 14, 21, 28 y 35 días post tratamiento. El plasma fue separado por centrifugación (2500 rpm por 15 min) y conservados a -18°C para determinar las concentraciones de ivermectina mediante análisis por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

El proceso de extracción química a partir de las muestras de plasma se realizó mediante la técnica descrita por Lifschitz et al. (2000) y modificada por Lifschitz et al. (2018). Dichos procedimientos fueron validados de acuerdo con parámetros internacionalmente aceptados de variabilidad y exactitud. De cada muestra se tomó una alícuota de 0.25 ml de plasma y se adicionó con 10 ng de estándar interno (moxidectin) y se agregó 1ml de acetonitrilo. Las muestras fueron agitadas por 20 minutos en agitador (Multi-tube vortexer, VWR Scientific Products, West Chester, PA, USA) y luego sometidas al proceso de sonicación (Baño de ultrasonido) (Transsonic 570/H, Lab-Line Instruments Inc., USA) por 10 minutos y finalmente se centrifugaron a 2000g por 15 minutos (Jouan®, BR 4i Centrifuge, Saint Herblain, France). El sobrenadante fue transferido a otro tubo en forma manual y el eluyente fue evaporado a sequedad mediante una corriente suave de nitrógeno seco a 50 °C en baño María. La derivatización se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito por De Montigny et al. (1990) utilizando una solución de N-metilimidazol (Aldrich, Milwaukee, WI, USA) en acetonitrilo y una solución de trifluoroacético anhídrido (Aldrich, Milwaukee, WI, USA) en acetonitrilo. Posteriormente una alícuota de 100 µl de la solución obtenida fue inyectada directamente en el cromatógrafo. La concentración de cada compuesto fue determinada por HPLC según la técnica descrita por Lifschitz et al. (2018) utilizando un sistema HPLC Shimadzu 10 A con inyector automático y detector de fluorescencia (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Las condiciones cromatográficas incluyeron una fase móvil de ácido acético al

0,2 % en agua-metanol-acetonitrilo (2:60:38 v/v/v) con una velocidad de flujo de 1,5 ml/min a través de una columna de C18 en fase reversa (Thermoquest, 5 µm, 250 mm x 4.60 mm). La detección de fluorescencia se realizó con una longitud de onda de excitación de 365 nm y 475 nm de longitud de onda de emisión.

Análisis farmacocinético y estadísticos

El análisis farmacocinético se realizó mediante el programa PK Solutions 2.0 (Ashland, Ohio, USA). Se calculó el área bajo la curva (ABC) utilizando el método del método de los trapecoides (Gibaldi y Perrier, 1982). La vida media de eliminación (T_{1/2el}) fue calculada como ln2/λ_{el}, donde la constante de eliminación (λ_{el}), fue obtenida por el análisis de regresión usando los datos de la fase terminal de la curva concentración vs. tiempo. Las concentraciones y los parámetros farmacocinéticos obtenidos para IVM luego de cada tratamiento fueron comparados usando el test no paramétrico Mann Whitney.

La variación de los datos de conteo de ácaros entre los tratamientos y a lo largo del experimento (datos longitudinales) se analizó con un modelo lineal mixto generalizado (GLMM), asumiendo una distribución de Poisson para los residuales. Para evaluar si hubo efectos significativos de los tratamientos en cada fecha de interés (fecha= 7, 14, 21, 28), se reajustó el mismo modelo centrado los datos en cada fecha. Todos los análisis se realizaron en R (R Core Team 2016), usando la función 'glmer' del paquete lme4 (Bates et al. 2015).

Resultados

En el Grupo IVM 1 % y en el Grupo IVM 3.15 % se observó una disminución significativa en los conteos promedio de ácaros a los días 7 y 14 post tratamiento. Dichos conteos continuaron descendiendo gradualmente hasta el día 28 post-tratamiento, pero sin llegar a negativizar ninguno de los dos grupos (Tabla 1). La eficacia de IVM contra *P. ovis* alcanzó su máximo valor al día 28 post tratamiento para el Grupo IVM 1% (93.3%), mientras que en el Grupo IVM 3,15% este registro se obtuvo el día 21 (95.9%) (Tabla 2).

El análisis de la varianza del conteo de ácaros a lo largo del experimento mostró que ambos tratamientos tuvieron una tendencia significativa en el tiempo a disminuir la carga de ácaros respecto al control. Esta tendencia se observa específicamente a partir de los 14 días y se sostiene hasta el final del experimento (Tabla 3). Con respecto a las determinaciones de IVM en plasma, se obtuvieron concentraciones entre los 7 y 35 días post-tratamiento para las dos formulaciones evaluadas. Tras la administración de la formulación IVM 3,15%, las concentraciones del principio activo fueron significativamente más altas a los días 7, 21, 28 y 35 (rango de 13,2 a 7.0 ng/ml) comparadas a las obtenidas luego de administrar IVM 1 % (rango de 7.79 a 1.31 ng/ml).

Las mayores concentraciones de IVM 3,15% se reflejaron en una mayor disponibilidad plasmática de IVM (> 150 %) medida como el ABC. El valor de ABC promedio para IVM 3.15 % fue 346 ng.d/ml. Por otra parte, tras la administración de la formulación de larga acción se observó una larga vida media eliminación (44.9 d). Cuando los ovinos recibieron las dos dosis de IVM 1 % la biodisponibilidad sistémica promedio fue 138 ng.d/ml y la vida media de eliminación 7.7 d. El perfil de concentraciones de IVM tras la administración de las dos formulaciones se muestra en la Figura 1. La comparación de las disponibilidades plasmáticas y las vidas medias de eliminación para IVM en ambos grupos se muestran en las Figuras 2a y 2b.

Discusión

Entre las drogas disponibles para el tratamiento de la sarna ovina, la IVM ha sido extensamente elegida debido a su excelente eficacia contra *P. ovis* (Campbell y Benz, 1984), tanto con esquemas de tratamiento en 2 aplicaciones con las formulaciones tradicionales al 1 %, o con formulaciones de larga acción, en una única aplicación. A su vez, ofrece una alternativa menos laboriosa, y con menores necesidades de instalaciones y personal que los baños de inmersión para el tratamiento de las majadas y se puede aplicar en cualquier época del año independientemente del clima (los baños no se pueden aplicar en invierno en zonas de climas rigurosos y fríos como la Patagonia). Todos estos factores, sumados a la actividad adicional de la IVM contra parásitos internos, han determinado su uso frecuente y su inclusión rutinaria en planes de control antiparasitario durante los últimos 30 años. Este uso intensivo, probablemente haya causado una presión de selección sobre los ácaros, lo cual determinaría las fallas en la eficacia observadas actualmente en los tratamientos contra *P. ovis*. En concordancia con esto, han sido reportados recientemente casos de fallas en el tratamiento con IVM contra *P. ovis* en bovinos (Lifschitz et al., 2018; Van Mol et al., 2020). Por otra parte, el diagnóstico *in vitro* de resistencia de *P. ovis* contra diferentes lactonas macrocíclicas como moxidectin, ivermectina y doramectina ha sido también reportado en el Reino Unido (Doherty et al., 2018, Sturgess-Osborne et al., 2019).

La relación farmacocinética-farmacodinámica permite entender como las concentraciones de un fármaco ejercen su acción terapéutica específica contra los organismos blanco. En el caso de *P. ovis*, las bases farmacológicas para que un tratamiento con IVM sea exitoso depende de alcanzar la concentración mínima efectiva y que la misma se mantenga durante cierto tiempo en el organismo del animal tratado. De esta manera, IVM necesita por lo menos 10-12 días de concentraciones por encima de la concentración efectiva mínima para poder eliminar todos los estadios parasitarios y llegar a una eficacia del 100 % a los 14 días post-tratamiento (Guillot y Meleney, 1982). Este prolongado tiempo

necesario de exposición del ácaro a la droga se explica por diferentes factores. En primer lugar, el estadio de huevo no es susceptible a la droga, por lo cual se necesita que eclosione para dar lugar a los estadios que sí son afectados por el fármaco. Por otra parte, el fármaco llega al ácaro principalmente a través de su alimentación y dado que el mecanismo de acción de IVM induce una parálisis en la alimentación del parásito, se enlentece su acumulación dentro del ácaro (Jackson, 1989). Esos factores determinan una relación farmacocinética-farmacodinámica con un alto impacto práctico en la terapéutica. Las diferencias farmacocinéticas que existen tras la administración subcutánea de IVM 1% a 0.2 mg/kg entre ovinos y bovinos determinan que en los ovinos sea necesario repetir la dosis a los 7 días post-tratamiento mientras que en los bovinos una única dosis con las formulaciones al 1 % fue considerada suficiente para alcanzar la eficacia. Los niveles de IVM 1% en sangre en los ovinos a los 7 días post-tratamiento se encuentran en el rango de 2-5 ng/ml (Lifschitz et al., 2010a; Lloberas et al., 2012) lo cual coincide con lo observado en el presente estudio (Figura 1). Por el contrario, en los bovinos los niveles de IVM 1% a los 7 días post-administración se encuentran entre 14-20 ng/ml (Lifschitz et al., 2010b; 2018). De esto se deduce que la repetición del tratamiento con IVM 1% en el caso de la sarna ovina permite aumentar nuevamente las concentraciones en sangre y poder actuar sobre los ácaros que sobrevivieron a la primera dosis. En el presente ensayo, tras la administración de IVM al 1 % los niveles promedio de IVM al día 7 fueron 3.36 ng/ml y tras la repetición del tratamiento los niveles de fármaco en sangre fueron 7.79 ng/ml al día 14. La obtención de concentraciones sostenidas de un fármaco en sangre se puede lograr a través del desarrollo farmacotécnico. En el caso de las denominadas formulaciones de larga acción de IVM, se produce un depósito en el sitio de administración subcutáneo prolongando el proceso de absorción y alcanzando concentraciones de fármaco sostenidas en sangre (Lifschitz et al., 2007). Este efecto fue claro al administrar la formulación al 3.15 % en el presente trabajo, observándose concentraciones promedio de IVM entre los 7 y los 35 días post-tratamiento que oscilaron entre 12.2 ng/ml y 7 ng/ml. Si bien la formulación al 3.15 % se administró a una dosis mayor que la preparación al 1 % (1.05 mg/kg en dosis única vs 0,2 mg/kg en dos dosis), la relación entre las dosis administradas y la biodisponibilidad sistémica de IVM se mantuvo proporcional. Mientras que la relación entre la dosis de IVM 3.15 % e IVM 1 % fue de 2.6, el cociente entre las biodisponibilidades sistémicas fue 2.5. Las mayores y sostenidas concentraciones de IVM tras la administración de la formulación larga acción comparado a dos tratamientos con la formulación clásica al 1 % se vieron reflejadas en la mayor disponibilidad sistémica y en la más larga vida media de eliminación (Figura 2).

Tabla 1. Evolución del conteo de ácaros vivos (promedio, rango) al inicio del ensayo (día 0) y a lo largo de los diferentes días del muestreo post-tratamiento con las formulaciones de ivermectina (IVM) al 1 % y al 3.15 % en ovinos. También se muestra el conteo de ácaros del grupo control (sin tratamiento).

CONTEO DE ACAROS					
	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Grupo Control	17,0 (6-59)	16,7 (4-50)	8,7 (0-19)	10,5 (0-17)	5,0 (0-13)
Grupo IVM 1%	31,3 (2-70)	23,2 (0-98)	1,5 (0-7)	1,0 (0-4)	0,3 (0-2)
Grupo IVM 3,15%	17,1 (8-26)	7,3 (0-25)	1,6 (0-8)	0,4 (0-3)	0,3 (0-2)

Tabla 2. Porcentajes de eficacia contra *Psoroptes ovis* obtenido a lo largo de los diferentes días del muestreo post-tratamiento con las formulaciones de ivermectina (IVM) al 1 % y al 3.15 % en ovinos.

EFICACIA (%)				
Día	7	14	21	28
Grupo IVM 1%	-39,0*	82,7	90,5	93,3
Grupo IVM 3,15%	56,3	81,9	95,9	94,3

* El valor es negativo ya que el conteo total de ácaros del Grupo IVM 1% fue mayor al conteo total de ácaros que el grupo control.

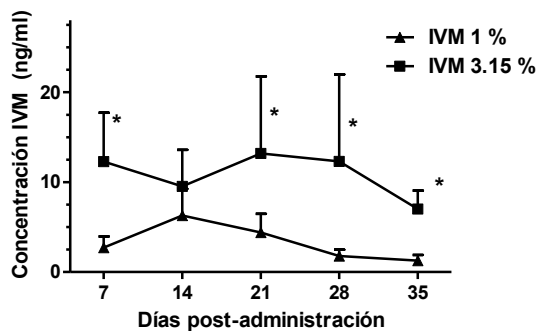


Figura 1. Concentraciones plasmáticas promedio (\pm desvío estándar) de ivermectina (IVM) luego de la administración subcutánea de una formulación al 1 % (0.2 mg/kg los días 0 y 7) y otra al 3.15 % (1.05 mg/kg al día 0) a ovinos infestados con *Psoroptes ovis*. (*) Valores significativamente diferentes respecto a IVM 1% $P < 0.05$.

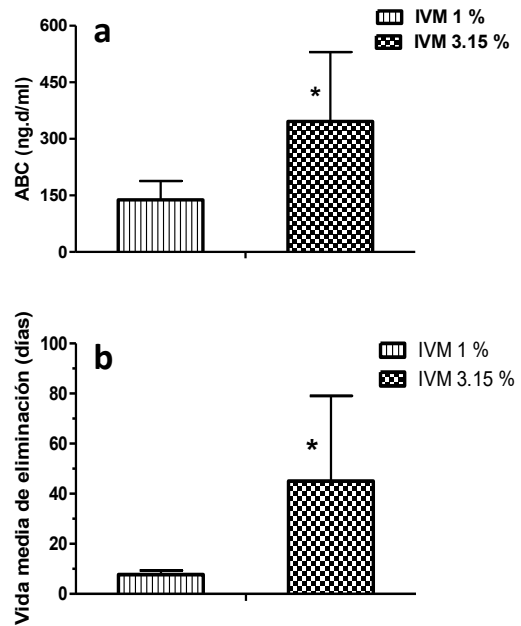


Figura 2. a. Comparación de la disponibilidad sistémica para ivermectina (IVM) obtenida luego de la administración subcutánea de una formulación al 1 % (0.2 mg/kg los días 0 y 7) y otra al 3.15 % (1.05 mg/kg al día 0) a ovinos infestados con *Psoroptes ovis*. (*) Valores significativamente diferentes respecto a IVM 1% $P < 0.05$. b. Comparación de la vida media de eliminación para ivermectina (IVM) obtenida luego de la administración subcutánea de una formulación al 1 % (0.2 mg/kg los días 0 y 7) y otra al 3.15 % (1.05 mg/kg al día 0) a ovinos infestados con *Psoroptes ovis*. (*) Valores significativamente diferentes respecto a IVM 1% $P < 0.05$.

A pesar de los niveles adecuados de fármaco obtenidos en sangre, ninguna de las dos formulaciones y esquemas terapéuticos evaluados logró el efecto acaricida requerido por SENASA del 100%, por lo cual no se logró la curación de los animales. Teniendo en cuenta que la IVM tarda varios días en lograr su efectividad luego de su aplicación, ya que no mata a toda la población de ácaros hasta 14 días después del tratamiento (Guillot and Meleney, 1982), se esperaría que la efectividad del 100% se alcance el día 14. Sin embargo, con ambas formulaciones la efectividad en esa fecha fue cercana al 80%, sin diferencias significativas entre los tratamientos con IVM 1% e IVM 3.15%. Aunque no se conocen las concentraciones mínimas efectivas de IVM contra *Psoroptes ovis*, es claro que los niveles de fármaco alcanzados en este ensayo luego de la administración de IVM 1% no lograron negativizar todos los animales alcanzando una eficacia máxima de 93.3% el día 28 post tratamiento. Los mayores y más sostenidos perfiles de IVM en sangre obtenidos tras la administración de IVM 3.15 % tampoco fueron suficientes para alcanzar una eficacia de 100 % lo cual estaría reflejando un corrimiento de la curva dosis respuesta de los ácaros a la IVM hacia la derecha con el consiguiente menor efecto incluso a la exposición de mayores dosis. Esta evidencia podría estar reflejando el inicio de un proceso de resistencia de *Psoroptes ovis* hacia el fármaco IVM.

Si bien los tratamientos no alcanzaron el efecto acaricida requerido para lograr la curación de los animales, el descenso significativo de las poblaciones de ácaros determinó una mejora del estado de los ovinos, y una disminución del prurito transcurrida la primera semana de tratamiento. En la práctica a campo, al observar este cuadro los productores pueden interpretar erróneamente que los tratamientos resultaron efectivos, aunque el tiempo requerido para alcanzar la efectividad haya sido mayor al esperado. Los animales que no hayan alcanzado la cura parasitológica y conserven ácaros vivos, serán la fuente de un nuevo contagio para el resto de la majada. Ante esta situación, es esperable que luego de un tiempo se generen nuevas poblaciones de ácaros, y se observen ovinos con prurito y síntomas de sarna.

Estas constantes reinfestaciones y reapariciones de focos se observan frecuentemente en majadas afectadas, y sus causas frecuentemente no se identifican. Se atribuyen tanto a fallas en los tratamientos como también

a problemas de manejo, tales como juntas inadecuadas donde no se trata a la totalidad de los animales, dosificaciones, fallas en el instrumental, mal estado de alambrados que permiten contagios entre establecimientos, etc.

En el presente trabajo se corroboró la falla de IVM en obtener la cura parasitológica de ovinos infestados por *P. ovis* diferencialmente expuestos al fármaco de acuerdo con las formulaciones administradas. La presencia y caracterización de las cepas de *P. ovis* con una menor susceptibilidad a las lactonas macrocíclicas debe investigarse en el corto plazo. En este contexto, sería de mucha utilidad el desarrollo de metodologías *in-vitro* de bajo costo que permitan conocer la susceptibilidad de los ácaros a los diferentes principios activos, para poder seleccionar la mejor opción terapéutica y preservar la vida útil de los compuestos disponibles.

Tabla 3. Coeficientes y errores estándares (E.S.) para los efectos fijos de un GLMM ajustado a los datos de conteo de ácaros, con la variable 'tiempo' centrada en cada fecha, según la fila de encabezado de la tabla. Los valores del z-score resaltados en negritas ($z > 2$ y $z < -2$) indican efectos significativos al nivel $\alpha = 0.05\%$ o menores.

Efectos fijos	Fecha= 0			Fecha= 7			Fecha= 14			Fecha=21			Fecha= 28		
	estimado	E.S.	z-score	estimado	E.S.	z-score	estimado	E.S.	z-score	estimado	E.S.	z-score	Estima do	E.S.	z-score
Control	2.509	0.366	6.848	2.251	0.391	5.755	2.021	0.435	4.644	1.808	0.485	3.728	1.604	0.534	3.000
Trat 1	0.549	0.519	1.059	-0.541	0.563	-0.960	-1.494	0.643	-2.322	-2.396	0.735	-3.262	-3.276	0.824	-3.972
Trat 2	0.328	0.498	0.659	-0.734	0.539	-1.361	-1.713	0.618	-2.770	-2.647	0.710	-3.728	-3.558	0.804	-4.426

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (PNSA 1115055) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (Proyecto PUE-CIVETAN). Agradecemos al Vet. Martín Abad por suministrar la cepa de ácaros utilizada en este trabajo. También reconocemos la colaboración de José Garramuño durante los trabajos de campo. Agradecemos el aporte del Dr. Alejandro Aparicio en los análisis estadísticos de los datos parasitológicos.

Bibliografía

Abad M, Saber C. 2019. Programa sanitario ovino en Patagones: estrategia y resultados para el control de la sarna ovina. Ed. INTA. Boletín técnico N° 26. 14 pp.

Abbott W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. Journal of Statistical Software 67: 1-48

Campbell W, Benz G. 1984. Ivermectin: a review of efficacy and safety. J. Vet. Pharmacol. Ther. 7: 1-16.

Campbell W. 2012. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. Curr. Pharm. Biotechnol. 13: 853-65.

De Montigny P, Shim J, Pivnichny J. 1990. Liquid chromatographic determination of ivermectin in animal plasma with trifluoroacetic anhydride and N-methylimidazole as the derivatization reagent. J. Pharm. Biomed. Anal. 8: 507-511.

Doherty E, Burgess S, Mitchell S, Wall R. 2018. First evidence of resistance to macrocyclic lactones in *Psoroptes ovis* sheep scab mites in the UK. Vet. Rec. 182: 106.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004. Guidelines, resistance management and integrated parasite control in ruminants. Rome: Animal Production and

Health Division, Agriculture Dept., Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Gibaldi M, Perrier D. 1982. Pharmacokinetics. Revised and Expanded, 2nd Ed.. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Guillot F, Meleney W. 1982. The infectivity of surviving *Psoroptes ovis* (Hering) on cattle treated with ivermectin. *Vet. Parasitol.* 10: 73-78.

Jackson H. 1989. Ivermectin as a systemic insecticide. *Parasitol. Today* 5: 146-156.

Kirkwood A. 1980. Effect of *Psoroptes ovis* on the weight of sheep. *Vet. Record* 107: 469-470.

Lifschitz A, Virkel G, Sallovitz J, Sutra J, Galtier P, Alvinerie M, Lanusse C. 2000. Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Vet. Parasitol.* 87: 327-338.

Lifschitz A, Virkel G, Ballent M, Sallovitz J, Imperiale F, Pis A, Lanusse C. 2007. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: absorption pattern and pharmacokinetic considerations. *Vet. Parasitol.* 147: 303-310.

Lifschitz A, Suarez V, Sallovitz J, Cristel S, Imperiale F, Ahoussou S, Schiavi C, Lanusse C. 2010. Cattle nematodes resistant to macrocyclic lactones: comparative effects of P-glycoprotein modulation on the efficacy and disposition kinetics of ivermectin and moxidectin. *Exp. Parasitol.* 125: 172-8.

Lifschitz A, Fiel C., Steffan P, Cantón C, Muchiut S, Dominguez P, Lanusse C, Alvarez L. 2018. Failure of ivermectin efficacy against *Psoroptes ovis* infestation in cattle: integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic evaluation of two commercial formulations. *Vet. Parasitol.* 263: 18-22.

Lloberas M, Alvarez L, Entrocasso C, Virkel G, Lanusse C, Lifschitz A. 2012. Measurement of ivermectin concentrations in target worms and host gastrointestinal tissues: influence of the route of administration on the activity against resistant *Haemonchus contortus* in lambs. *Exp. Parasitol.* 131: 304-309.

Olaechea F, Romero J. 2007. Sarna Ovina y efectos en la producción. En: Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Ed. INTA pp. 189-204.

R Core Team. 2016. R: A Language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at <https://www.R-project.org/>

Sturgess-Osborne C, Burgess S, Mitchell S, Wall R. 2019. Multiple resistance to macrocyclic lactones in the sheep scab mite *Psoroptes ovis*. *Vet. Parasitol.* 272: 79-82.

Van Mol W, De Wilde N, Casaert S, Chen Z, Vanhecke M, Duchateau L, Claerebout E. 2020. Resistance against macrocyclic lactones in *Psoroptes ovis* in cattle. *Parasites Vectors* 13: 127.

Van den Broek A, Huntley J, Halliwell R, Machell J, Taylor M, Miller H. 2003. Cutaneous hypersensitivity reactions to *Psoroptes ovis* and Der p 1 in sheep previously infested with *P. ovis* - the sheep scab mite. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 91: 105-117.

Vercruysse J, Rehbein S, Holdsworth P, Letonja T, Peter R. 2006. Guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against (mange and itch) mites on ruminants. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.). *Vet. Parasitol.* 136: 55-66.
