

Comportamiento biológico y farmacocinético de dos formulaciones comerciales de ivermectina 3,15% en bovinos

Biological and pharmacokinetic performance of two commercial formulations of ivermectin 3.15 % in bovines

Cuore U¹, Solari MA¹, Piaggio J⁴, Chelle B², Di Rienzo D², Machado N³, Politi P³, Trelles A¹, Rampoldi O^{3†}

1 Parasitología, DILAVE “Miguel C. Rubino”, MGAP, Montevideo Uruguay (ucuore@mgap.gub.uy)

2 Control de Productos Veterinarios, DILAVE “Miguel C. Rubino”, MGAP, Montevideo Uruguay.

3 Residuos Biológicos, DILAVE “Miguel C. Rubino”, MGAP, Montevideo Uruguay.

4 Unidad de Epidemiología, DGSG, MGAP, Montevideo Uruguay.

† Fallecido año 2014

Veterinaria (Montevideo) Volumen 52
Nº 201 (2016) 13-22

Recibido :15/5/2015

Aceptado: 31/7/2015

Resumen

Se realizó una prueba de establo para evaluar la eficacia residual de ivermectina 3,15% y los niveles plasmáticos en animales tratados con Ivomec GOLD® y con una formulación genérica frente a desafíos larvarios de *Rhipicephalus (B.) microplus*. En ambas formulaciones la eficacia residual presentó una gran dispersión en los días sin caída de garrapatas teleoginas post tratamiento. Descontando el ciclo parasitario la residualidad se presentó en un rango de 35 a 63 días. El análisis estadístico de los resultados de ambas formulaciones estudiadas a través de la *mediana*, demostró una residualidad de 52 días frente a larvas infestantes de *R. (B.) microplus*. Los parámetros farmacocinéticos presentaron valores medios de: área bajo la curva (ABC) 1795±188 y 1351±118, picos plasmáticos (Tmax) a los 13,4±4,1 y 15,0±3,6 días post inoculación con concentración máxima (Cmax) de 65,4±1,5 y 41,1±0,3 ppb para la formulación de Ivomec GOLD® y la genérica respectivamente. Concentraciones inferiores a 10 ppb pueden representar el umbral por debajo del cual se logró desarrollar el ciclo parasitario hasta obtener garrapatas teleoginas. Los resultados obtenidos permitirán tener un mejor conocimiento para evaluar el comportamiento de las formulaciones en pruebas de establo y de campo tanto en el estudio de la eficacia, la residualidad y en el tiempo de espera para la faena.

Palabras clave:

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, lactonas macrocíclicas, residualidad, farmacocinética.

Summary

A stall test was performed to evaluate two ivermectin formulations (Ivomec Gold® and a generic one at 3.15%). Residual efficacy against larval challenges of *Rhipicephalus (B.) microplus* and plasmatic levels of ivermectin were studied. In both formulations residual efficacy presented a large scatter in the number of days of detachment of engorged females after treatment, discounting the residual parasitic cycle a range of 35 to 63 days was presented. Statistical analysis of the results of both formulations showed a residual period of 52 days (*median*) before reinfestation with larvae of *R. (B.) microplus*. The average pharmacokinetic parameters area under the curve (AUC), represented values of 1795±188 and 1351±118, whereas plasma peaks (Tmax) occurred at 13.4±4.1 and 15.0±3.6 days post inoculation reaching maximum concentration (Cmax) of 65.4±1.5 and 41.1±0.3 ppb in Ivomec GOLD® and generic formulation respectively. Concentrations below 10 ppb may represent the threshold below the parasitic cycle could develop and engorged ticks obtained. These results allow a better understanding to evaluate the performed of new formulations in stall and field trials to evaluate efficacy, residual efficacy and the withholding period.

Keywords:

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, macrocyclic lactone, residual efficacy, pharmacokinetic.

Introducción

Las formulaciones en base a lactonas macrocíclicas como productos endectocidas han tenido un amplio desarrollo por parte de la industria farmacéutica. En los últimos años en nuestro país se ha incrementado el registro de estos productos para ser utilizados en la campaña oficial contra la garrapata, en particular las formulaciones en base a ivermectina 3,15% (IVM) de larga acción (LA). Actualmente existen cerca de 30 registros de ivermectina LA. Estas formulaciones presentaron una eficacia superior a 95% en la prueba de establo. Este porcentaje es el mínimo exigido para su aprobación y utilización en la campaña contra la garrapata. Por el contrario, las distintas formulaciones comerciales han presentado una gran dispersión en su poder o eficacia residual. Conceptualmente el poder residual se define como los días post tratamiento, en que por acción del principio activo, no es posible que se complete el desarrollo del ciclo parasitario. Una vez formadas garrapatas plenamente ingurgitadas, para calcular el poder residual, se debe restar a los días transcurridos desde el tratamiento, 21 días correspondientes a la duración del ciclo parasitario (período prepatente). Dado este comportamiento desigual, se establecieron 4 grupos de formulaciones en base a la residualidad, el primero presentaba 21 días, el segundo 30, el tercero 45 y el cuarto 60 días. A partir del Decreto Reglamentario 326/2013 del 4 de octubre de 2013, con la finalidad de uniformizar los criterios de registro, se estableció que la residualidad de las lactonas macrocíclicas a concentración de 3,15% deberían estar en el rango de 45 a 60 días.

Esta variación en los resultados también se encuentra documentada en pruebas internacionales realizadas en EEUU, Argentina y México con la formulación de Ivomec GOLD®, donde aplicando una metodología de trabajo similar, los valores de residualidad presentaron una gran dispersión entre los laboratorios. Mientras que en el trabajo realizado en EEUU por el USDA-Edinburg, Texas, presentó una residualidad de 14 días con un porcentaje de control de 99,9%, los realizados por el Servicio Nacional de Sanidad Animal de Argentina (SENASA) y Centro Nacional de Parasitología Animal de México (CENAPA) mostraron valores de 23 y 75 días respectivamente (Davey y col. 2010; <http://www.senasa.gov.ar/>).

Si bien las condiciones en que se desarrolla la prueba de establo están estandarizadas (WAAP - 2006) y sus resultados pueden ser comparables en el tiempo, existe la necesidad de estudiar en forma más detallada el comportamiento de las formulaciones comerciales en cuanto a su residualidad y farmacocinética. Este conocimiento permitirá tener mejores argumentos técnicos para evaluar una formulación que se presente al registro tanto en la eficacia, residualidad y en el tiempo de espera para la faena.

El objetivo del presente trabajo es establecer una correlación entre los niveles plasmáticos y los respectivos poderes residuales de dos formulaciones comerciales de ivermectina 3,15% frente a desafíos larvario de *Rhipicephalus (B.) microplus*.

Materiales y métodos

Animales de prueba e instalaciones

La prueba se realizó en la DILAVE “Miguel C. Rubino”, 34.8° Lat. Sur; 56° Long. Oeste. Los animales se ubicaron en boxes experimentales para colectar garrapata de acuerdo al diseño descrito por Roulston y Wilson (1964). Se utilizaron 5 animales por grupo tratado y 3 conformando un grupo testigo. Bovinos (*Bos taurus*), raza Hereford con un peso promedio de 152 kg, provenientes de un rodeo de cría libres de garrapatas y sin exposición previa al parásito, de campos que posee la DILAVE con fines experimentales. Los animales fueron alimentados en base a ración y alfalfa pelleteada, se suministró agua *ad libitum*.

Protocolo de ingreso

Una vez en el Laboratorio los animales fueron desparasitados con Ricobendazole (3,75 mg/kg), vacunados contra clostridiosis y mantenidos a campo durante 15 días para cumplir con la etapa de adaptación a las nuevas instalaciones y al cambio de alimentación. Posteriormente fueron ingresados a los boxes.

Infestación

A partir del 09/06/14 (día 0) y con una frecuencia de 2 veces por semana, se infestaron los animales de prueba con 100 mg de larvas de la cepa Mozo de *Rhipicephalus (B.) microplus* (2000 larvas aproximadamente). La metodología aplicada se realizó de acuerdo al protocolo del Departamento de Parasitología de la DILAVE “Miguel C. Rubino”. La cepa Mozo es sensible a los acaricidas, originaria del Departamento de Cerro Largo, la cual desde 1973 es mantenida y cultivada en el laboratorio, sin ser presionada por exposición a los acaricidas y libres de hemoparásitos.

Formación del grupo

Previo al tratamiento se individualizaron y se pesaron los animales, se formaron tres grupos, separándose en un grupo testigo de infestación con garrapata (n=3) y dos grupos de 5 animales cada uno por formulación. Los animales tratados fueron ubicados en boxes individuales.

Productos comerciales

Se utilizaron dos formulaciones comerciales de ivermectina 3,15%, una del laboratorio Merial S.A. (Ivomec GOLD®) y otra correspondiendo a una formulación genérica. De acuerdo a los protocolos establecidos en la DILAVE, los productos utilizados en el presente estudio fueron muestreados por el Departamento de Control de Productos Veterinarios y analizada su concentración en la Sección de Evaluación Química. El estudio de las concentraciones de las formulaciones estudiadas, cumplían con la concentración de principio activo declarada en el registro.

Tratamiento

El día 09/06/14 (día 0) se realizó el tratamiento de acuerdo a las especificaciones de los fabricantes (1 ml. /50 kg) de aplicación subcutánea correspondiente a 630 µg/kg de peso (cuadro 1).

Seguimiento

Durante todo el desarrollo del ensayo, se infectaron los animales, se colectaron muestras de plasma y se controló la posible caída de teleoginas, momento en el cual se registró la fecha y se dio por finalizada la prueba en ese animal tratado.

Cuadro 1. Grupo testigo y animales tratados con ivermectina 3,15%

| Identificación | Peso (kg) | Dosis (mL) | Formulación |
|----------------|-------------|------------|--------------|
| Grupo testigo | 128-136-137 | ----- | ----- |
| 4650 | 152 | 3 | Ivomec GOLD® |
| 4737 | 162 | 3,2 | Ivomec GOLD® |
| 4629 | 145 | 2,9 | Ivomec GOLD® |
| 4659 | 151 | 3 | Ivomec GOLD® |
| 4729 | 149 | 3 | Genérico |
| 4611 | 150 | 3 | Genérico |
| 4612 | 165 | 3,2 | Ivomec GOLD® |
| 9818 | 157 | 3,1 | Genérico |
| 4654 | 154 | 3 | Genérico |
| 4633 | 186 | 3,7 | Genérico |

En el grupo testigo la colecta de garrapatas se realizó diariamente.

Estudio reproductivo de las garrapatas colectadas

Se procedió a pesar e incubar (27°C y >80% H.R.) durante 40 días obteniéndose los parámetros reproductivos de masa de huevo y porcentaje de eclosión.

Obtención del plasma

Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos de litio-heparina, se centrifugaron a 2500 rpm durante 30 minutos y el plasma se conservó en viales criogénicos a -20 °C hasta el momento del análisis.

Determinación de la concentración plasmática de ivermectina.

La misma se realizó mediante extracción con acetonitrilo y posterior cuantificación instrumental por HPLC con detector de fluorescencia, de acuerdo al método analítico de la Sección Residuos Biológicos del laboratorio acreditado para hígado y adaptado para plasma (PR-RES-01, revisión 6, DILAVE). La extracción de ivermectina de las muestras de plasma fortificada y problema, se realizó con acetonitrilo, seguido de una derivatización con una mezcla de anhídrido trifluoro acético, dimetilformamida y metilimidazol, durante 1 minuto a temperatura ambiente. El derivado se colocó en viales color

ámbar para su posterior cuantificación por inyección en el cromatógrafo líquido. El cromatógrafo utilizado fue Thermo Dionex; con columna analítica Eclipse XDB-C18 150 x 4,6 mm (5µm), la temperatura del horno de columna: 40°C, fase móvil: AcCN:Metanol:Agua, flujo: 1 ml/min, detector Thermo FLD-3100 EX 360 nm EM 445 nm, volumen de inyección: 20 µl. Cuantificación: por área de pico de la muestra problema, interpolada en una curva de calibración de matriz blanco fortificada.

Análisis de los resultados

Se calcularon algunos valores farmacocinéticos con las rutinas del programa STATA11. Los mismos fueron área bajo la curva, concentración máxima alcanzada, la tasa de eliminación, la vida media del fármaco y el tiempo que alcanza la concentración máxima se realizó con las rutinas del programa STATA11. La caída de garrapata en los grupos tratados, fueron analizados estadísticamente a través de la mediana (Método Kaplan Meier), la cual fue estimada con una función de sobrevivencia mediante el software STATA11. (Cleves, M. A., 2010)

Período de estudio: Establecido en 84 días de prueba post tratamiento en función de los antecedentes de registro oficial correspondientes de ambas formulaciones. Período junio-septiembre de 2014.

Resultados

La caída de garrapata y su comportamiento reproductivo en el grupo testigo, presentó valores de acuerdo al comportamiento tradicional de la cepa Mozo, lo cual avala la metodología de infestación. Se obtuvieron garrapatas con peso entre

0,26 y 0,31 gr. con un rango de eclosión entre 70 y 95%. El bovino caravana 4654 fue retirado de la prueba al no detectarse niveles plasmáticos de ivermectina, con caída de garrapatas en forma ininterrumpida a partir del día 24, donde se asumió que existió un error al momento del tratamiento. Con fines confirmatorios, se volvió a tratar con la formulación genérica de IVM 3,15%, detectándose niveles plasmáticos similares a los hallados en los otros bovinos.

Cuadro 2. Concentración plasmática en animales tratados con ivermectina 3,15% de una formulación genérica e Ivomec GOLD®

| Caravana | Formulación Genérica | | | | Ivomec GOLD® | | | | |
|----------|----------------------|-------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|--------|
| | 4611 | 4633 | 4729 | 9818 | 4612 | 4629 | 4650 | 4659 | 4737 |
| Día | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL | ng/mL |
| 0 | Nd | Nd | Nd | Nd | Nd | Nd | Nd | Nd | Nd |
| 1 | 10,7 | 6,4 | 10,0 | 6,0 | Nd | 34,2 | 15,2 | 15,5 | 10,0 |
| 3 | 36,1 | 17,0 | 23,3 | 13,8 | 19,7 | 48,5 | 68,5 | 39,5 | 23,7 |
| 7 | 27,3 | 21,5 | 41,8 | 26,0 | 40,3 | 66,4 | 52,5 | 58,7 | 55,7 |
| 11 | 41,0 | 24,5 | 34,9 | 34,0 | 52,0 | 67,3 | 51,3 | 62,2 | 67,3 |
| 14 | 28,9 | 20,4 | 36,5 | 39,4 | 48,9 | 47,8 | 42,1 | 62,6 | 63,2 |
| 21 | 26,1 | 41,0 | 34,2 | 40,5 | 53,6 | 31,7 | 34,4 | 45,3 | 59,0 |
| 28 | 22,2 | 27,3 | 21,0 | 30,9 | 61,1 | 15,7 | 19,8 | 27,6 | 35,8 |
| 35 | 16,9 | 27,5 | 10,2 | 29,2 | 40,0 | 9,1 | 13,4 | 13,3 | 20,4 |
| 42 | 8,6 | 16,0 | 5,0 | 17,7 | 29,7 | 4,1 | 8,1 | 8,2 | 10,2 |
| 49 | 8,8 | 16,4 | 4,7 | 14,4 | 28,3 | trazas | 7,60 | 5,6 | 8,9 |
| 52 | 8,1 | 14,0 | 4,6 | 15,6 | 24,0 | 3,7 | 6,4 | 5,1 | 8,2 |
| 56 | Nd | 18,1 | 3,4 | 11,5 | 23,7 | trazas | 6,4 | 3,9 | 6,3 |
| 59 | trazas | 11,1 | Trazas | 10,4 | 10,1 | Trazas | 6,1 | 3,3 | 4,6 |
| 63 | 4,4 | 9,8 | Trazas | 6,7 | 14,0 | Trazas | 4,1 | Trazas | 3,4 |
| 66 | 3,1 | 6,5 | Nd | 5,8 | 12,1 | fin | 3,3 | Nd | Trazas |
| 70 | Nd | 6,0 | fin | 3,2 | 9,3 | | Trazas | Nd | Nd |
| 73 | Trazas | 5,4 | | 4,0 | 5,5 | | Trazas | fin | Nd |
| 79 | Nd | 5,7 | | Trazas | 5,0 | | Trazas | | Nd |
| 84 | Nd | 3,6 | | Trazas | 4,1 | | Nd | | Nd |

Referencias: ng/mL (ppb): Nd < 2 ppb; Trazas entre 2 y 3 ppb; >3 ppb=valor

Nd=valor no detectable; Día: días post tratamiento con ivermectina 3,15%

En los Cuadros 2 y 3, se expresan los resultados obtenidos de los animales tratados con las dos formulaciones, donde se presentan las concentraciones del principio activo en plasma, la fecha en que se registró la primera caída de teleogina y el momento en que la larva infestante tuvo capacidad de completar el ciclo.

En el Cuadro 3 se resume la información de ambas formulaciones referente al comportamiento parasitario (larva que completa el ciclo) y la concentración plasmática hallada. En cada uno de los dos grupos existió un animal que al finalizar la prueba no registraron desarrollo parasitario (caravanas 9818 y 4612).

El estudio reproductivo de las garrapatas colectadas una vez finalizada la eficacia residual, se presenta en el cuadro 4.

Cuadro 3: Desarrollo completo del ciclo parasitario relacionado a la concentración plasmática de ivermectina

| Formulación | Caravana | Desarrollo larvario | | Caída de teleogina | |
|--------------|----------|---------------------|-------|--------------------|--------|
| | | día | ng/ml | día | ng/ml |
| Genérico | 4611 | 52 | 8,1 | 72 | Trazas |
| | 4633 | 63 | 9,8 | 84 | 3,6 |
| | 9818 | sin desarrollo | | sin caída | |
| | 4729 | 42 | 5 | 67 | ND |
| | 4629 | 35 | 9,1 | 56 | Trazas |
| Ivomec GOLD® | 4650 | 52 | 6,4 | 74 | Trazas |
| | 4659 | 49 | 5,6 | 70 | ND |
| | 4612 | sin desarrollo | | sin caída | |
| | 4737 | 52 | 8,2 | 75 | ND |

Referencias: ng/ml (ppb): Trazas entre 2 y 3 ppb ND=valor no detectable
Día: días post tratamiento con ivermectina 3,15%

Las garrapatas fueron fértiles, excepto la teleogina del animal 4633 que no presentó ovipostura.

El comportamiento reproductivo de estas primeras garrapatas tiene la característica de corresponder a hembras de bajo peso y bajo porcentaje de eclosión en relación al grupo testigo. Si bien esto representaría un porcentaje de control alto, éstas primeras garrapatas y las caídas posteriormente como se demuestra en el bovino 4611 (cuadro 5), son de riesgo epidemiológico en diseminar la parasitosis.

En las figuras 1 y 2 se muestran la evolución de las concentraciones plasmáticas de los bovinos tratados en forma individual, de los productos Ivomec GOLD®, y la formulación genérica.

Los animales que eliminaron más rápidamente la droga (bajas concentraciones plasmáticas y bajos valores de ABC, coinci-

dieron en tener un menor poder residual (caravanas N° 4629 y 4729), correspondiendo a 35 y 42 días de eficacia residual absoluta. Por el contrario, los bovinos que presentaron altas concentraciones plasmáticas (valores elevados de ABC) y mayor tiempo de persistencia en plasma (caravanas N° 4612, 9818 y 4633), demostraron una mayor eficacia residual absoluta correspondiendo a 84 días (fin de prueba).

Luego del tratamiento, las formulaciones tuvieron un comportamiento diferente entre si desde el punto de vista farmacocinético, estos parámetros se presentan en el cuadro 6. El área bajo la curva (ABC) que expresa la cantidad de principio activo disponible en plasma a lo largo del ensayo es mayor en la formulación de Ivomec GOLD® con un valor de 1795±188 contra 1351±118 en la formulación genérica. Las mayores concentraciones plasmáticas se presentaron a los

13,4 y 15,0 días post inoculación alcanzándose valores Cmax de 65,4±1.5 y 41,1±0.3 ppb en Ivomec GOLD® y la formulación genérica respectivamente.

En la figura 3 se muestran los promedios de ambos grupos con los valores de dispersión, destacándose el valor de la *mediana* en que las larvas logran completar el ciclo y la posterior caída de teleoginas. A partir del día 35 post tratamiento hasta la finalización de la prueba, las curvas de ambas formulaciones presentaron un comportamiento similar con una tasa de eliminación de 0.06 y 0.05 para Ivomec GOLD® y la formulación genérica respectivamente.

Desde el punto de vista biológico el tiempo transcurrido post tratamiento en el cual las larvas logran completar el ciclo parasitario, en función del valor de la *mediana*, estimada mediante el ajuste de la función de sobrevivencia, fue igual para ambas formulaciones (52 días), existiendo un rango de dispersión en días de 35 a 60 para Ivomec GOLD® y de 42 a 60 para la formulación genérica.

En relación a las teleoginas, el análisis de la *mediana*, determinó que el valor estadístico de aparición post tratamiento, fue de 74 y 72 días para Ivomec GOLD® y la formulación genérica respectivamente.

Cuadro 4: Comportamiento reproductivo de las garrapatas colectadas post tratamiento

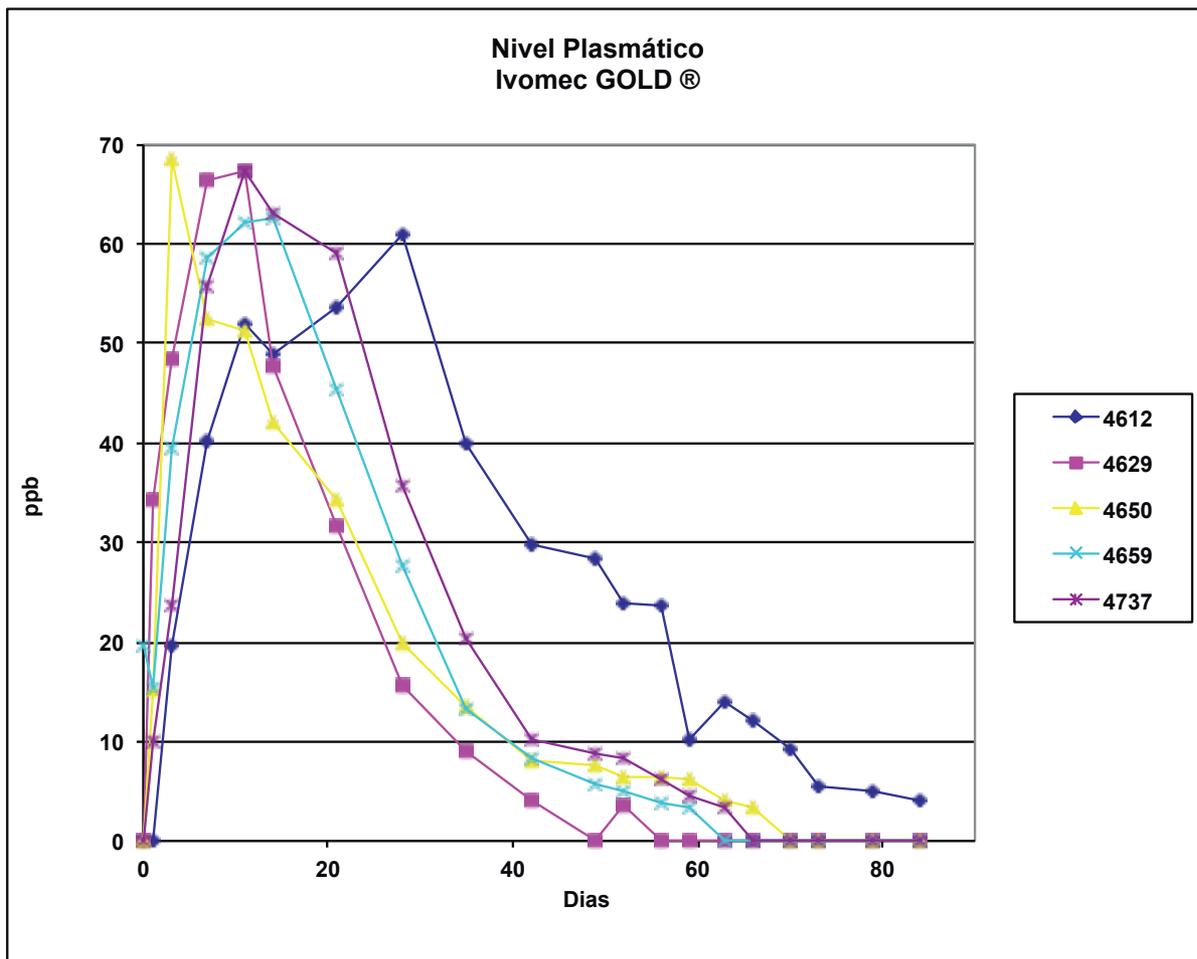
| Tratamiento | Identificación | Día postratamiento | Teleoginas caídas (n) | Teleoginas (gr) | Huevos (gr) | % Eclósión |
|----------------------|----------------|--------------------|-----------------------|-----------------|-------------|------------|
| Ivomec GOLD® | 4650 | 74 | 5 | 0,35 | 0,01 | 5 |
| | 4629 | 56 | 2 | 0,22 | 0,04 | 5 |
| | 4737 | 75 | s/d | - | - | - |
| | 4612 | >84 | 0 | - | - | - |
| | 4659 | 70 | 30 | 3,73 | 0,89 | 20 |
| Formulación genérica | 4729 | 67 | 7 | 0,44 | 0,04 | 5 |
| | 4611 | 72 | 1 | 0,13 | 0,07 | 5 |
| | 9818 | >84 | 0 | - | - | - |
| | 4633 | 84 | 1 | s/d | 0 | - |

Referencias: n=total teleoginas caídas gr=total del peso en gramos s/d= sin datos

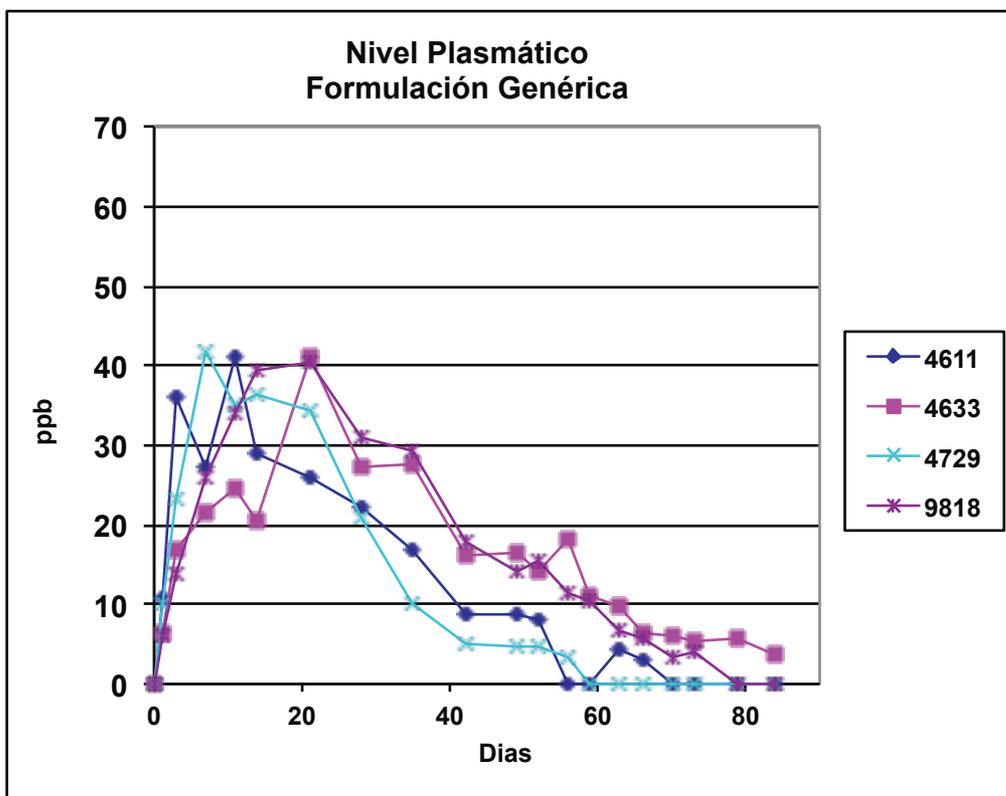
Cuadro 5: Evolución de caída de garrapatas post tratamiento (riesgo epidemiológico)

| Identificación | Día postratamiento | Teleoginas caídas (n) | Peso (gr) | Huevos (gr) | % Eclósión |
|----------------|--------------------|-----------------------|-----------|-------------|------------|
| 4611 | 72 | 1 | 0,13 | 0,07 | 5 |
| | 73 | 1 | s/d | - | - |
| | 78 | 13 | 1,36 | 0,33 | 25 |
| | 79 | 10 | 1,36 | 0,5 | 10 |

Referencias: n=total teleoginas caídas gr=total del peso en gramos s/d= sin datos



Gráfica 1. Curvas de concentración plasmática de ivermectina 3,15% en 5 bovinos tratados con Ivomec GOLD ®



Gráfica 2. Curvas de concentración plasmática de ivermectina 3,15% en 4 bovinos tratados con una formulación genérica.

Cuadro 6. Resumen de parámetros farmacocinéticos (media ± error estándar)

| Parámetro cinético | Ivomec GOLD® | Formulación genérica |
|---|--------------|----------------------|
| Área bajo la curva (ng día/mL) | 1795±188 | 1351±118 |
| Vida media (días) | 12,4±1,5 | 15,3±2,6 |
| Tasa de eliminación (días ⁻¹) | 0,06±0,0 | 0,05±0,0 |
| Cmax (ng/mL) | 65,4±1,5 | 41,1±0,3 |
| Tmax (días) | 13,4±4,1 | 15,0±3,6 |

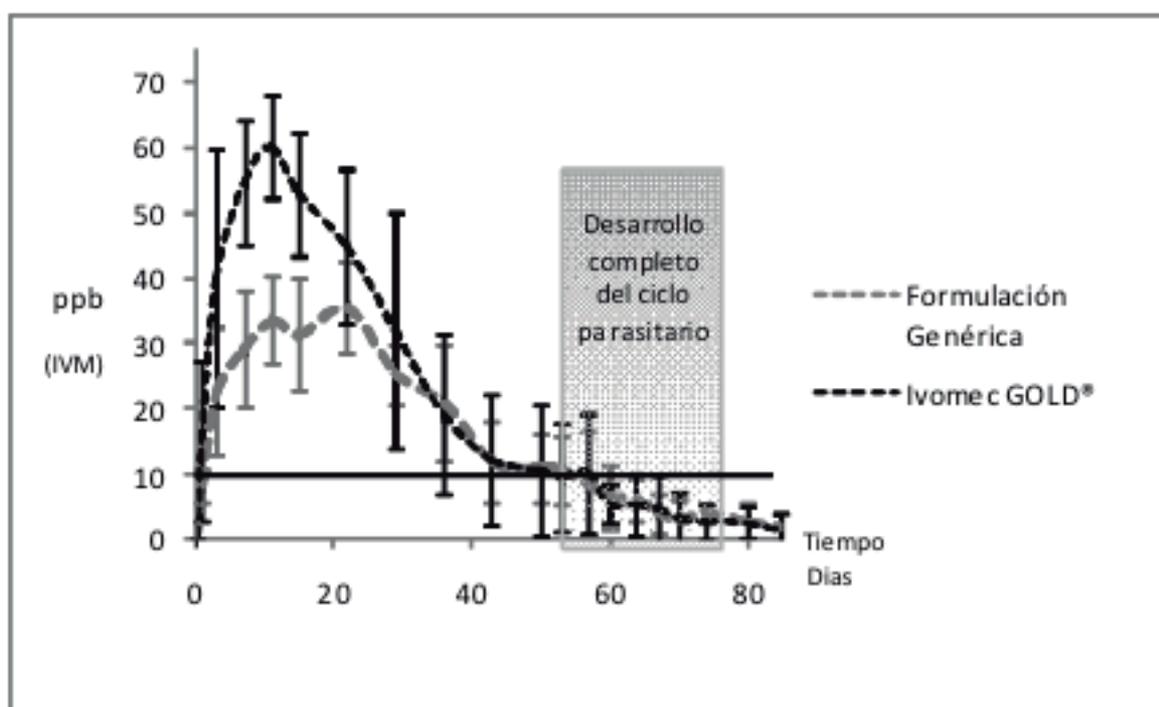


Figura 3. Perfiles de concentración plasmática para cada formulación (Promedio± D.E.)

Discusión y conclusiones

En el presente estudio se determinó que la duración de la eficacia residual (aparición de las primeras teleoginas luego del tratamiento) de ambas formulaciones comerciales de ivermectina 3,15%, presentaron una gran dispersión de los resultados. Estos valores oscilaron entre el día 56 hasta el día 84 post tratamiento, por lo que la residualidad absoluta, descontando los 21 días del ciclo parasitario estuvo comprendida entre 35 y 63 días en 7 de los 9 animales estudiados.

Estos resultados de residualidad son inferiores a los obtenidos en las pruebas de registro oficial, en el año 1999 Ivomec GOLD® demostró 62 días, mientras que la formulación genérica en el año 2001 tuvo una eficacia residual de 61 días, lo que pone de manifiesto la necesidad de volver a evaluar los productos a lo largo del tiempo (Información del Departamento de CONPROVET, DILAVE).

La biodisponibilidad de un fármaco se define como la cantidad de fármaco que ingresa a la circulación sistémica y la velocidad a la cual éste ingreso se produce (Formentini, E. 2015).

Las mayores concentraciones plasmáticas se presentaron a los 13,4 y 15,0 días post inoculación alcanzándose valores C_{max} de 65,4±1,5 y 41,1±0,3 ppb en Ivomec GOLD® y la formulación genérica respectivamente, los que distan de los reportados en otros estudios. Davey R. y col. (2010) utilizando Ivomec GOLD®, encontró valores de C_{max} de 26 ppb a los 11 días post tratamiento, mientras que Lifschitz y col. (2007) con la misma formulación obtuvo una C_{max} de 26 ppb a los 9 días post tratamiento y con una formulación genérica, obtuvo una C_{max} de 50 ppb a los 2 días post tratamiento.

Si bien, en el presente trabajo se observaron diferencias en la biodisponibilidad del principio activo en plasma entre ambas formulaciones, evidenciado en los diferentes parámetros farmacocinéticos (cuadro 6), este hecho no se vio reflejado como diferencias en los parámetros biológicos. La eficacia residual media fue de 52 días para ambas formulaciones y la aparición de las primeras teleoginas a partir de 72 y 74 días para Ivomec GOLD® y la formulación genérica respectivamente. Este comportamiento de eficacia residual similar se obtuvo frente a una misma cepa de garrapata, debiéndose realizar más estudios con otras poblaciones de campo para confirmar estos resultados.

En cuanto a los niveles de concentración de ivermectina en plasma, si bien el presente estudio no tuvo como objetivo determinar un punto de corte respecto a la finalización en la inhibición del desarrollo de larvas de *R. microplus*, los resultados obtenidos mostraron que con niveles plasmáticos de ivermectina inferiores a 10 ppb se puede completar el desarrollo del ciclo parasitario. Un ejemplo de este concepto se aprecia en el bovino 4629, el cual a partir de los 35 días post tratamiento, cuando la totalidad del ciclo parasitario se desarrolló a concentraciones plasmáticas menores a 10 ppb se completó del ciclo parasitario hasta obtener garrapatas teleoginas. Esta tendencia encontrada es similar a los valores publicados por Davey, R. y col. (2010) que fija el umbral de inhibición en un valor ≥ 8 ppb. En contraposición, el bovino 9818 con 21 días presentando valores plasmáticos inferiores a 10 ppb, (días 63 a 84 post tratamiento), las garrapatas infestantes no lograron completar el ciclo, por lo que se evidencia una variabilidad individual influyendo en la dispersión de los resultados.

Distintas pruebas con la formulación de Ivomec GOLD®, único fabricante Merial Brasil, (comunicación personal D. Irazoqui, Merial Uruguay 2015), con una metodología similar han sido realizadas, estos resultados también ponen de manifiesto la variabilidad de la eficacia residual. El ensayo realizado por Davey, R. en 2010 concluye que la máxima eficacia residual hallada fue de 14 días post tratamiento, mientras que la pruebas oficiales en el CENAPA, México y SENASA, Argentina, con la misma formulación, obtuvieron residualidades de 75 y 23 días respectivamente.

Un estudio a campo realizado por el Departamento de Parasitología llevado a cabo en el paraje Aguas Blancas, Departamento de Lavalleja, un grupo de 7 bovinos raza Hereford infestados experimentalmente con la cepa Mozo fueron tratados con la formulación de Ivomec GOLD® (630 µg/kg PV). A los 35 días post tratamiento, 2 bovinos presentaron garrapatas adultas ingurgitadas. Los niveles plasmáticos indicaron que en 3 bovinos los valores hallados fueron de 4,6; 4,3 y 2,9 ppb, mientras que en los 4 restantes solo se hallaron trazas de ivermectina (Cuore, U. 2005 datos sin publicar). Estos valores plasmáticos son inferiores a los presentados por Davey

en 2010, el cual entre los días 17 a 42 post tratamiento obtuvieron valores de 21,6 a 8,6 ppb, recién entre los días 50 a 70 post tratamiento los valores estuvieron entre 6 ppb y trazas. Lifschitz en 2007 encontró a los 30 y 40 días post tratamiento niveles plasmáticos de 7,7 y 5 ppb respectivamente, a su vez estos valores del Ivomec GOLD®, representaron un 156 y 218% más de concentración plasmática al compararlos con una formulación genérica de IVM 3,15%.

Estas marcadas diferencias de comportamiento de las IVM LA, podrían tener una explicación en el hecho que al ser una molécula lipofílica, las lactonas macrocíclicas se depositan en el tejido adiposo del bovino y esto puede contribuir en aumentar el tiempo de permanencia del principio activo (Lifschitz y col., 1999, 2000). Por lo tanto, en un animal con bajo estado corporal (bajo contenido de tejido adiposo) se debería esperar una absorción más rápida del principio activo dado que se libera del vehículo y se absorbe inmediatamente, lográndose picos de C_{max} más altos pero con menor concentración en la fase de eliminación, dado que la droga no encuentra reservorio en la grasa y entonces se elimina de forma más rápida. Si estos animales luego del tratamiento se encuentran sometidos a desafíos con larvas, estas garrapatas podrían completar su ciclo antes que lo que sucedería en animales de mejor estado corporal (Lifschitz, A. comunicación personal 2015).

Si se consideran todos los valores de eficacia residual, los que se presentan en la bibliografía internacional y los aportes a nivel nacional, se observa una dispersión de los resultados entre 14 a 75 días. Esto representa una gran dificultad en establecer a priori un comportamiento repetible de la formulación comercial, máxime en tratamientos de campo donde el bovino, como reactivo biológico, presenta una variabilidad en el peso, condición corporal y estado fisiológico

Al comparar los parámetros farmacocinéticos entre formulaciones, se evidenció una disminución del 25% del área bajo la curva entre la formulación genérica y la de referencia, lo cual podría explicarse por diferencias farmacotécnicas entre formulaciones. Esto refuerza la propuesta de realizar más estudios y complementarlos con pruebas de biodisponibilidad. Lifschitz y col. 2000, reportaron que el vehículo utilizado en las distintas formulaciones comerciales puede influir en el proceso de absorción del principio activo y por lo tanto en el perfil de concentración plasmática y tisular.

Con los resultados obtenidos, podemos afirmar que los estudios de farmacocinética han sido muy importantes para complementar las pruebas biológicas, por ejemplo permitieron detectar y descartar al animal que nunca presentó principio activo en plasma (caravana N°4654), así como monitorear una lógica de comportamiento poblacional.

Cabe destacar que frente al producto de referencia Ivomec GOLD®, existió discrepancia con los resultados de área bajo la curva y de concentración máxima hallados entre el presente ensayo y los estudios realizados por otros autores. Si bien la metodología aplicada no fue la misma, se considera de importancia profundizar en estos aspectos.

La eficacia residual de las lactonas macrocíclicas LA estaría determinada por factores inherentes a la formulación comercial (vehículo, tixotropía), al estado corporal de los animales (porcentaje de grasa) y a las características de las poblaciones parasitarias en relación a la presencia y porcentaje de genes resistentes.

Agradecimientos

Dr. Gonzalo Suarez (PhD - Profesor Grado 4; Facultad de Veterinaria, Área de Farmacología, UdelaR) por la lectura crítica y sus aportes científicos.

Bibliografía

1. Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ. (1992). The effect CENAPA (2015) Centro Nacional de Parasitología, <http://www.senasica.gob.mx/>
2. Cleves MA, Gould WW, Gutierrez RG, Marchenko YV. (2010). An Introduction to Survival Analysis Using Stata. 3rd ed. College Station, TX: Stata Press.
3. Davey RB, Pound JM, Miller JA, Klavons, JA. (2010) Therapeutic and persistent efficacy of a long-acting (LA) formulation of ivermectin against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and sera concentration through time in treated cattle. *Vet Parasitol* 169:149-156.
4. Formentini E. (disponible 2015) Biodisponibilidad y bioequivalencia. <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/posgrado/especializaciones/epsaludanimal/informacion/material/FarmacologiaGeneralAplicada/LibrodefarmacologiaBAandBE.doc>
5. 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.
6. Lifschitz A, Virkel G, Pis A, Imperial F, Sanchez S, Alvarez L, Kujanek R, Lanusse C. (1999). Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. *Vet Parasitol* 86:203-215.
7. Lifschitz A, Virkel G, Sallovitz J, Sutra JF, Galtier P, Alvinerie M, Lanusse C. (2000). Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Vet Parasitol* 87:327-338.
8. Roulston W, Wilson J. (1964). Chemical control of the cattle *B. microplus* (can). *Bulletin of Entomology* 55:617-635.
9. SENASA (2014) Dirección de Programación Sanitaria; Programa de Garrapatas del Bovino (archivos relacionados); http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File6882-GARRAPATICIDAS_2.pdf
10. StataCorp. (2011) *Stata Release 12*. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP.
11. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) (2006) Holdsworth, P.A.; Kemp, D.; Green, P.; Peter, R.J.; De Bruin, C.; Jonsson, N.N.; Letonja, T.; Rehbein, S.; Vercruysse, J. Guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. *Veterinary Parasitology* 136: 29-43.