

REPORTE FINAL DE ESTUDIO

1. Título

Estudio clínico controlado para evaluar la tolerancia de una formulación comercial en base a Lufenuron y Spinosad en caninos.

2. Número de Ensayo Clínico

Evaluación menores 0010-11

3. Tipo de Estudio

Ensayo clínico controlado

4. Objetivo General

Registrar los posibles efectos adversos post tratamiento, según la observación clínica y análisis de laboratorio clínico post tratamiento a 1X, 2X y 3X la dosis terapéutica recomendada.

5. Objetivos Específicos

- ✓ Determinar los posibles efectos adversos en los animales según la evaluación clínica y neurológica.
- ✓ Determinar el efecto del tratamiento sobre el peso de los animales.
- ✓ Determinar los posibles efectos sobre los valores hematológicos en los animales evaluados
- ✓ Determinar los posibles efectos sobre los valores de ALT y creatinina sanguínea en los animales evaluados

6. Equipo de investigación

Roxana Angelats Mori, Médico Veterinario Jefe de Investigación y Diseño experimental, Agroveter Market S.A.; José Tang Ploog, Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo, Agroveter Market S.A.; Ana Murguía Quintana, Médico Veterinario Jefe de Investigación en Sanidad Animal Agroveter Market S.A.; Gino Castillo Yañez, Bach. Medicina Veterinaria, Agroveter Market SA.

7. Lugar de Estudio

El estudio se realizó en el albergue canino Vida Digna localizado en el centro poblado menor de Huachipa perteneciente al distrito de Lurigancho-Chosica, Departamento de Lima. El análisis de las muestras fueron realizadas en el Laboratorio de Patología clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM).

8. Antecedentes

Las pulgas constituyen los ectoparásitos hallados con mayor frecuencia en las mascotas (Liberato, 1998; Estares, 1999). Más aún, debido a la gran adaptabilidad del parásito a las diferentes condiciones ambientales, representan un problema difícil de controlar (Leguía, 2002). En este contexto, se desarrolló una nueva formulación para el control de las pulgas en base a lufenuron y spinosad, dos sustancias con efectividad conocida para el control de los estadios inmaduros y la fase adulta del parásito, respectivamente (Plumb, 2002; Elanco Animal Health, 2007).

Así, la combinación de una droga que logre efectividad en corto tiempo (spinosad) con una que produzca un largo período residual (lufenuron) representa una alternativa ideal para el control de pulgas en caninos. Sin embargo, como parte de la determinación de las bondades de un fármaco, es necesario verificar la seguridad de la droga evaluando su tolerancia y toxicidad en las especies de destino (Sumano y Ocampo, 1997).

Durante los últimos 10 años se han desarrollado diferentes insecticidas que han sido específicamente diseñados con el fin de explotar diferencias fisiológicas entre insectos y mamíferos. Esto ha tenido como resultado productos que parecen tener un amplio margen de seguridad cuando son usados en perros y gatos. Así, en comparación con los insecticidas de mayor toxicidad aguda como los organofosforados, carbamatos y metales pesados, así como aquellos asociados con problemas ambientales debido a su bioacumulación tales como los insecticidas organoclorados, los nuevos insecticidas entre los cuales está el lufenuron, parecen aliviar dichos problemas al mismo tiempo que proveen una actividad insecticida satisfactoria (Hovda y Hooser, 2002).

Sin embargo, a pesar del amplio margen de seguridad de los compuestos activos del producto comercial, se han reportado una serie de efectos no deseados tras su aplicación en la especie objetivo. Entre los efectos adversos que se han reportado tras el uso del lufenuron en caninos, se incluyen vómitos, letargia/depresión, prurito/urticaria, diarrea, disnea, anorexia y enrojecimiento de la piel. Cabe mencionar que el lufenuron es aparentemente no metabolizado y es excretado en la bilis y eliminada en las heces (Plumb, 2002).

Por otro lado, entre las reacciones adversas que se han reportado tras el uso del spinosad vía oral en caninos tenemos el vómito como el más frecuente, el cual ocurrió comúnmente dentro de las 48 horas post tratamiento (Elanco Animal Health, 2007). El objetivo del presente experimento fue determinar los posibles efectos adversos generados tras la aplicación de la nueva formulación comercial a una, dos y tres veces la dosis recomendada.

9. Fecha de Estudio y duración

El estudio tuvo una duración de 28 días. Se desarrolló entre el 10/06/2011 al 08/07/2011.

10. Materiales y Métodos

10.1. Tratamiento

Nueva formulación comercial a base de Spinosad 150mg + Lufenuron 50mg vía oral a una dosis aproximada de 30mg/kg de peso vivo (PV) y 10mg/kg respectivamente.

10.2. Tamaño de muestra

Para el cálculo del tamaño muestral se consideró la fórmula de diferencia de proporciones. Tomando como variable el porcentaje de perros que presentan vómitos post tratamiento, se tomó una presencia de vómitos del 83% en el grupo tratado y del 0,1% en el grupo control (placebo), bajo un nivel de significancia del 95% y un poder estadístico del 80% se obtuvo un tamaño de muestra de 3 animales por grupo como mínimo.

10.3. Diseño experimental

El estudio utilizó un diseño aleatorio simple ciego. Se establecieron cuatro grupos experimentales, el grupo 1X (GT1X) que recibió el tratamiento con la nueva formulación comercial a base de Spinosad + Luferunon vía oral a una dosis aproximada de 30mg/kg de peso vivo (PV) y 10mg/kg respectivamente; el grupo 2X (GT2X) que recibió la combinación Spinosad + Luferunon vía oral a una dosis aproximada de 60mg/kg PV y 20mg/kg PV; el grupo 3X (GT3X) que recibió el tratamiento con la combinación Spinosad + Luferunon vía oral a una dosis aproximada de 90mg/kg PV y 30mg/kg PV; y el grupo control (GC) que recibió placebo el cual consistió en pellets sin los principios activos.

Se definió como unidad experimental a cada canino. Dieciséis (16) caninos fueron aleatoriamente asignados a los cuatro grupos experimentales (GT1X=4 animales; GT2X=4 animales; GT3X=4 animales; GC=4 animales). El tratamiento de los cuatro grupos se realizó el día 0 del estudio. Se registraron los datos de los animales tales como nombre, edad, sexo, presencia de alergias en piel y antecedentes de epilepsia.

10.4. Selección de animales e identificación

Se seleccionaron 16 caninos cruzados de ambos sexos entre 2 a 9 años de edad. Entre los criterios de inclusión se consideró a todos los caninos clínicamente sanos, de ambos sexos mayores de 14 semanas de edad con un peso mayor de 1kg. Entre los criterios de exclusión no se consideraron hembras lactantes ni gestantes, ni perros con antecedentes de epilepsia.

10.5. Manejo de los animales experimentales

Los animales se encontraron confinados en caniles grupales de 8 perros en promedio, considerando un espacio de 1m² por animal, dormitorios para cada uno de los animales y zonas de sombra. Los animales fueron alimentados con alimento balanceado comercial todas las mañanas y recibieron agua *ad libitum* en sus bebederos ubicados dentro de los caniles. La limpieza de los caniles se realizó diariamente antes de proceder con la alimentación de los animales.

10.6. Parámetros evaluados

10.6.1. Exploración física

Se realizó una primera exploración física de los animales entre los 15 y 30 minutos post tratamiento para determinar la presencia de efectos adversos (reacciones de hipersensibilidad, vómitos u otros). Esta exploración se repitió los días 3, 10, 17 y 28 días post tratamiento. Así también, se determinó la presencia de dermatitis en los animales evaluados. Los animales fueron monitoreados diariamente con el fin de observar cualquier efecto adverso.

10.6.2. Evaluación neurológica

Se realizó una evaluación neurológica clínica para determinar cualquier posible cambio en el comportamiento, convulsiones, temblores, ataxia, déficit de los nervios craneales, paresia o parálisis de una o más extremidades. Para ello, se realizó la exploración neurológica de cabeza, la marcha, el cuello y las extremidades torácicas, el tronco, extremidades pélvicas y cola, según lo descrito por Merck (2000). Esta evaluación se realizó los días 0, 3, 10, 17 y 28 días post tratamiento.

10.6.3. Evaluación del peso

Se registró el peso de los animales los días 0, 3, 10, 17 y 28 post tratamiento.

10.6.4. Hematología y bioquímica sanguínea

Se tomaron muestras de sangre con heparina y suero para la determinación del hemograma y el perfil hepático/renal (alanina aminotransferasa-ALT-/creatinina) respectivamente. Para la colecta de sangre se realizó la inmovilización física del animal y se realizó la punción de la vena cefálica. La toma de muestras para análisis de hemograma se realizó los días 0, 3 y 28 post tratamiento, mientras que la toma de muestras para la obtención de suero se realizó los días 0, 3, 10, 17 y 28 post tratamiento. Todos los muestreos se realizaron a las 10 ante meridiano.

10.7. Métodos estadísticos

Se utilizaron medidas de tendencia central para sumarizar los datos obtenidos (promedio y desviación estándar). Al mismo tiempo se empleó la prueba de Kruskal Wallis para determinar la diferencia entre grupos según las variables evaluadas.

11. Resultados

Los animales iniciaron el estudio clínicamente sanos, con un peso promedio de 19.0 ± 4.5 Kg (13 – 27kg). Entre los efectos adversos observados entre los 15 y 30 minutos posteriores a la administración del tratamiento se observó la presencia de arcadas en un perro perteneciente al grupo GT1X (8.3% de todos los animales tratados). No se reportó ningún otro efecto adverso en los días posteriores al tratamiento hasta finalizar el estudio. Ninguno de los animales presentó dermatitis durante el transcurso del estudio. Por su parte, tras la evaluación neurológica realizada los días 0, 3, 10, 17 y 28 no se reportaron cambios en el comportamiento, convulsiones, temblores, ataxia, déficit de los nervios craneales, paresia o parálisis de las extremidades en ninguno de los grupos experimentales.

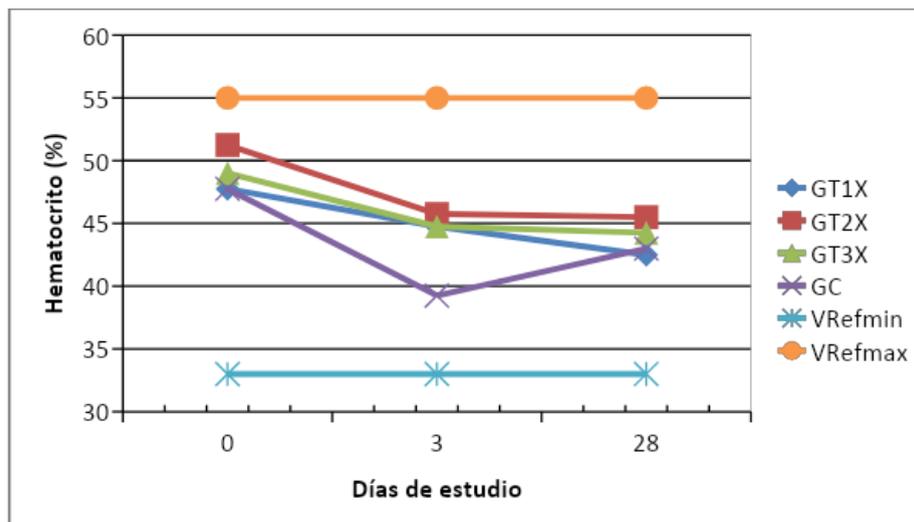
Cuando se analizó el promedio de pesos entre los cuatro grupos experimentales los días 0, 3, 10, 17 y 28, no se evidenció diferencia estadística significativa entre los grupos para cada período específico de evaluación ($p > 0.05$), por lo cual se puede mencionar que no existe un efecto del tratamiento a una, dos y tres veces la dosis sobre el peso de los animales. Sin embargo, como se observa en el cuadro 1, el promedio de peso de los animales pertenecientes a los grupos GT1X, GT2X, GT3X decreció al finalizar el estudio pero sin existir diferencia significativa entre el peso al día 0 y al día 28. Por su parte, en el grupo GT2X se observa una notable pérdida de peso promedio, pero este hecho se debe a que hubieron 2 animales perdidos en el seguimiento posterior al día 10 del estudio, los cuales aportaban los mayores valores al promedio de peso del grupo (Los datos se encuentran registrados en las fichas de seguimiento anexas al formato de evaluación de menores código 0010-11).

Cuadro 1. Promedio de pesos de grupos experimentales

	Peso promedio (kg) ± SD	
	Día 0	Día 28
GT1X	21.3 ± 4.9	18.3 ± 4.1
GT2X	19.8 ± 4.4	15.5 ± 1.4
GT3X	19.5 ± 5.5	17.1 ± 3.5
GC	15.4 ± 1.9	15.5 ± 3.0

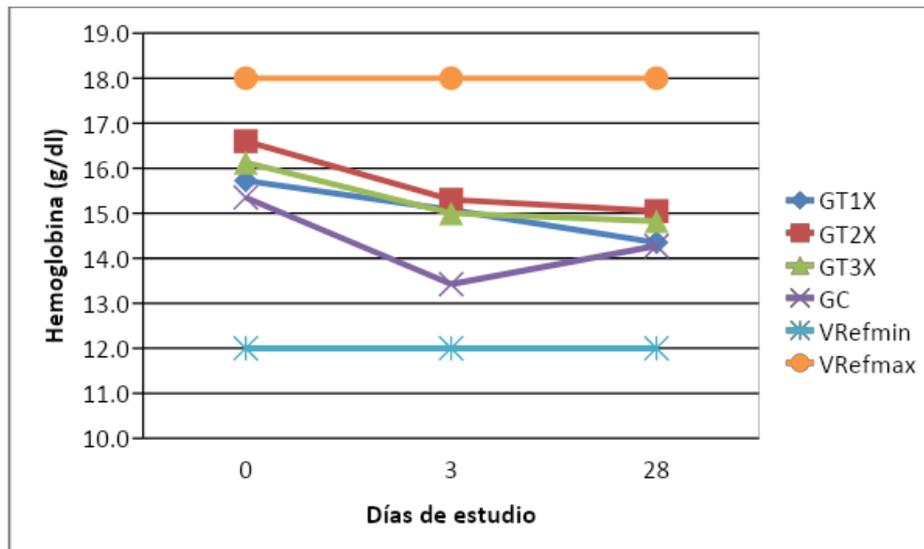
Los resultados del hematocrito, hemoglobina, conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos indican que no hubo diferencia estadística significativa entre los 4 grupos experimentales los días 0, 3 y 28 del estudio ($p > 0.05$). En el gráfico 1 y 2 se puede observar que el día 3, en los 4 grupos experimentales, se evidenció una disminución en el porcentaje de hematocrito y hemoglobina respectivamente, sin embargo, al no existir diferencia entre los grupos dicho efecto no se atribuye al tratamiento recibido. Por otro lado, los parámetros hallados se hayan dentro del límite establecido como valores normales en caninos (Lab. Patología Clínica FMV – UNMSM). Para un mayor detalle de los resultados de laboratorio ver el anexo 1.

Gráfico 1. Resultados de Hematocrito en los Grupos Experimentales



VRef min: Valor referencial mínimo; VRef max: Valor referencial máximo (Lab. Patología Clínica FMV-UNMSM).

Gráfico 2. Resultados de Hemoglobina en los Grupos Experimentales

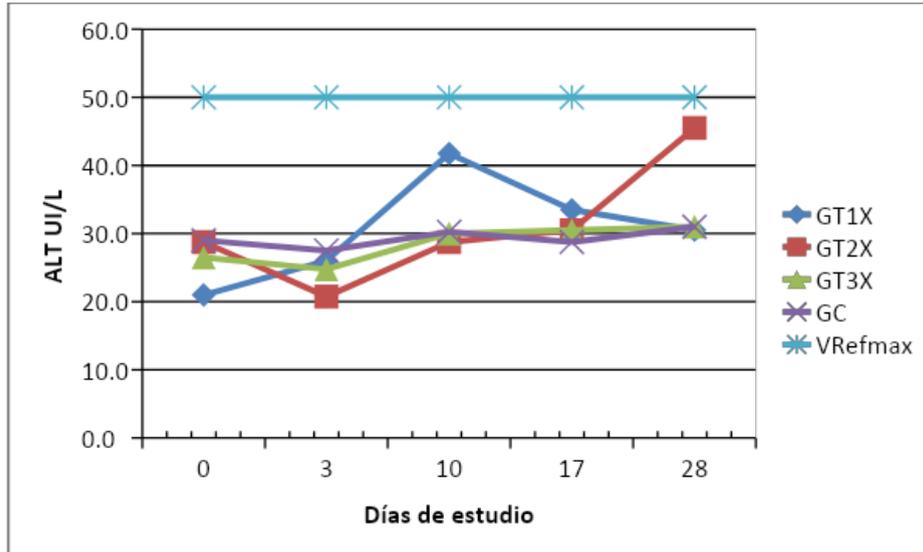


VRef min: Valor referencial mínimo; VRef max: Valor referencial máximo (Lab. Patología Clínica FMV-UNMSM).

Un hallazgo interesante fue la presencia de pilas globulares o agrupaciones eritrocitarias ligeras a moderadas en todos los animales al inicio y durante el experimento. Se menciona que en caninos sanos se puede hallar pilas globulares ligeras, sin que se relacione a un proceso inflamatorio o neoplásico (Latimer *et al.*, 2005). Cabe recalcar, que en el experimento no hubo asociación entre la presencia de pilas globulares y el tratamiento recibido a diferentes dosis ($p > 0.05$).

Los resultados de ALT en los animales evaluados indican que no existió diferencia en la medición de esta enzima por efecto del tratamiento recibido a diferentes dosis ($p > 0.05$). Sin embargo, como se observa en el gráfico 3, existe una tendencia al aumento de la enzima evaluada al día 10 y 28 post tratamiento para el grupo que recibió 1 vez y 3 veces la dosis recomendada, respectivamente. Valores elevados de ALT hasta 2.5X han sido reportados en caninos tras el tratamiento con 10 veces la dosis terapéutica de spinosad los días 3 y 10 post tratamiento (Elanco Animal Health, 2007). Cabe recalcar que, al comparar los promedios de ALT de cada grupo experimental con los valores referenciales para esta enzima, estos se mantuvieron por debajo del valor máximo referencial durante todo el período de estudio.

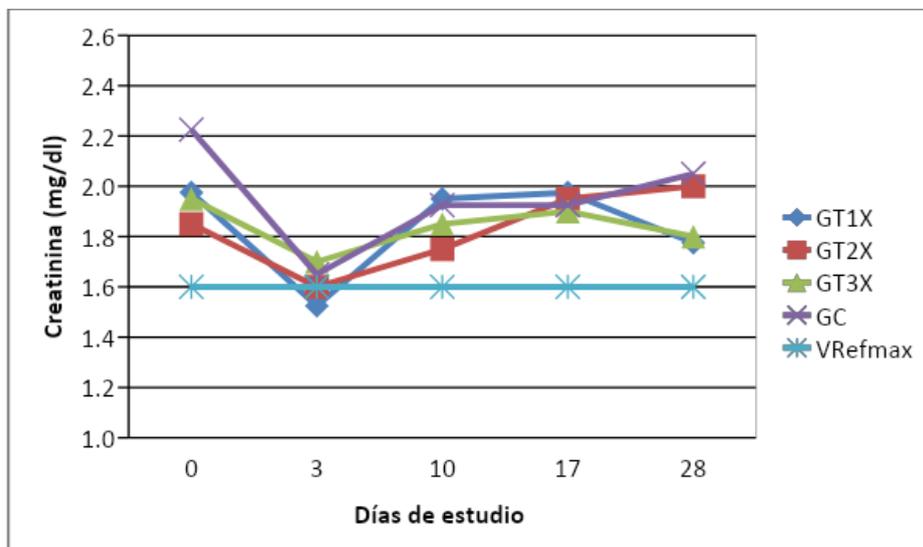
Gráfico 3. Resultados de ALT en los Grupos Experimentales



VRef max: Valor referencial máximo (Lab. Patología Clínica FMV-UNMSM).

Por su parte, no existió diferencia estadísticamente significativa en los valores de creatinina entre los cuatro grupos experimentales en todos los períodos de evaluación ($p > 0.05$), por lo cual se descarta un posible efecto del tratamiento en los valores de creatinina. Cabe mencionar que, al comparar los promedios de creatinina de cada grupo experimental con los valores referenciales del laboratorio, estos se mantuvieron por encima del valor máximo referencial durante todo el período de estudio, a excepción del día 3 en el cual se puede apreciar una disminución de la creatinina en todos los grupos experimentales. Esto podría relacionarse a que el día 3 los animales fueron alimentados luego de la toma de muestra, sin embargo Latimer *et al* (2005) mencionan que los valores de creatinina no varían mucho por efecto de la dieta.

Gráfico 4. Resultados de Creatinina en los Grupos Experimentales



VRef max: Valor referencial máximo (Lab. Patología Clínica FMV-UNMSM).

12. Conclusiones

Se concluye que no existe efecto del tratamiento a 1, 2 y 3 veces la dosis sobre las variables de peso, valores hematológicos evaluados, ALT y creatinina.

13. Referencias bibliográficas

Elanco Animal Health. 2007. Freedom of Information Summary. Original New animal drug application. NADA 141-277.

Estares L.P. 1999. Prevalencia de ectoparásitos en Canis familiares en los distritos de San Juan de Lurigancho, San Martín de Porres, Comas, Independencia, Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. 21 p.

Hovda LR, Hooser SB. 2002. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract. Mar; 32(2):455-67.

Latimer K, Mahaffey E, Prasse K. 2005. Patología Clínica Veterinaria. España: Multimédica Ediciones Veterinarias. 550p.

Leguía G.P. 2002. Enfermedades Parasitarias de Perros y gatos, epidemiología y control. Editorial del Mar. 2da. Edición. Lima – Perú.

Liberato W.L. 1998. Prevalencia de ectoparásitos en Canis familiares en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. 21 p.

Sumano H, Ocampo L. 1997. Farmacología Veterinaria. Segunda edición. México: McGraw-Hill Interamericana. 680p.

Merck. 2000. El Manual Merck de Veterinaria. 5ta edición. España: Océano Grupo Editorial. pp: 991-1092.

Plumb D. 2002. Veterinary Drug Handbook. Fourth Edition. USA: Iowa State Press. pp: 514-516.

14. Firmas de Equipo de Investigación

MV. Roxana Angelats Mori

MV. Ana Murguía Quintana

MV. José Tang Ploog

Bach. Gino castillo Yáñez



agrovetermarket
animalhealth

AGROVETMARKET S.A.

Animal health
Área de Investigación y Desarrollo

Investigación en Salud Animal

Av. Canadá 3792 San Luis. Telf. 4352323 anexos 130 / 124 Fax. 4351833

15. Anexos

Anexo 1. Resultados de Laboratorio