



REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF)

1. Título

Evaluación de la efectividad de una formulación a base de Lufenuron y Spinosad (Proventis duo®) para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

2. Número de Ensayo

001-11

3. Tipo de Estudio

Ensayo clínico de campo

4. Objetivo General

Evaluar la efectividad de una fórmula en base a Lufenuron y Spinosad (Proventis duo®) para el control de pulgas en caninos.

5. Investigador Principal

Mg. MV. Amanda Chávez Velásquez. Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

6. Sponsor

Agrovet Market S.A.

Dirección: Av. Canadá 3792-3798 San Luis, Lima 30, Perú.

Teléfono: (51) (1) 435 2323

6.1. Equipo de trabajo

Roxana Angelats Mori – Jefe de Investigación y Diseño Experimental

Luis Alfredo Chávez Balarezo – Asistente de Investigación y Diseño Experimental

Ana Gabriela Murguía Quintana – Jefe de Investigación en Sanidad animal

Gino Castillo – Supervisor en Sanidad animal

7. Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó en el asentamiento humano de El Mirador perteneciente al Sector de Pamplona Alta del distrito de San Juan de Miraflores, Provincia de Lima, ubicado a una altitud de 141 m.s.n.m. y con una temperatura ambiental que varía entre los 14 a 16°C durante el invierno y los 23 a 25°C durante el verano (anexo1).

8. Antecedentes y Justificación

Las pulgas constituyen los ectoparásitos de mayor frecuencia en las mascotas. Así lo demuestran diversos estudios realizados en Lima Metropolitana en caninos provenientes de diversos distritos del cono sur, en los cuales se hallaron prevalencias de ectoparásitos en perros hasta del 85.5%, siendo las pulgas el parásito hallado con mayor frecuencia. Así tenemos una prevalencia de *Ctenocephalides felis* del 53.5%, *Ctenocephalides canis* 10%, *Pulex irritans* 21.5% y *Echinophaga gallinacea* 13,3% (Liberato, 1998). En otro estudio realizado durante la estación de verano en 400 caninos provenientes de los



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología



Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú

distritos del cono norte de Lima, se halló una prevalencia de ectoparásitos del 98.8%, donde también las pulgas representaban el ectoparásito más frecuente, siendo 89% para *Ctenocephalides felis*; 1.8% *C. canis*, 37.8% *Pulex irritans* y 2.5% *Echidnophaga gallinacea* (Estares, 1999).

Como se puede apreciar, la pulga del gato (*Ctenocephalides felis*) es la más comúnmente encontrada en perros. Su ciclo de vida, que consta de cuatro etapas (adulto, huevo, larva y pupa), puede demorar de 14 a 180 días dependiendo de las condiciones medioambientales (Leguía, 2002).

La parasitosis por pulgas en perros constituye un problema difícil de controlar debido a la gran adaptabilidad del parásito a diferentes condiciones ambientales (Leguía, 2002). Para dicho control, se han desarrollado diversas drogas cuya efectividad y acción residual varían según su acción en determinado estadio de desarrollo del parásito. Sin embargo, el excesivo uso de estas drogas, ocasiona el desarrollo de una resistencia parcial o total por parte de las pulgas, provocando la necesidad del aumento de dosis, o del uso de un nuevo producto (Makowski, 1985). Como ejemplo se puede mencionar, que a pesar de haber evidencia científica que demuestre que no hay resistencia de las pulgas a ciertas drogas, como el fipronil (Brunet *et al*, 2009), también hay estudios que demuestran la susceptibilidad a fármacos específicos por parte de ciertas cepas de pulgas (Payne, 2001) como al fipronil u otras drogas que han sido usadas por largos períodos de tiempo. Y como se observa en la práctica diaria, cada vez los pulguicidas causan menos efecto sobre las pulgas; es así que existe la necesidad de desarrollar fármacos nuevos o asociaciones de estos, que puedan convertirse en una alternativa segura para el control de pulgas.

Así, el lufenuron, un derivado de la benzoylfenilurea, representa una alternativa eficaz para el control de pulgas debido a su acción contra estadios inmaduros del parásito, impidiendo el desarrollo de los mismos. Esta acción la logra inhibiendo la síntesis, polimerización y deposición de quitina, impidiendo el desarrollo del exoesqueleto de la pulga ya sea antes, previniendo la eclosión del huevo, o después de la eclosión, previniendo por lo tanto el desarrollo de la fase adulta. Se menciona que el efecto no específico del lufenuron en la síntesis de quitina está relacionado a la inhibición de la serinproteasa (Plumb, 2002). En un estudio realizado con lufenuron en caninos, se logró un efecto residual hasta por 91 días, período en el cual la población de pulgas fue nula o muy baja. Sin embargo, la efectividad máxima recién se alcanza a las 3 a 4 semanas post tratamiento (Fahmy y el-Dien, 2002).

Por su parte, el spinosad, un nuevo acaricida e insecticida derivado de dos toxinas (spinosin a y spinosin d) producidas por un hongo actinomiceto, del suelo *Saccharopolyspora spinosa*, actúa sobre el SNC de larvas y adultos de insectos (Pineda *et al*, 2007) y representa una buena alternativa por sus altos niveles de efectividad para el control de pulgas en caninos, desde los 2 días post aplicación. Sin embargo, su efecto residual alcanza un período máximo de 30 días, a partir del cual los niveles de efectividad empiezan a decrecer (Elanco Animal Health, 2007).



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología



Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú

Es así que las estrategias de control de pulgas a largo plazo, deberían basarse en un sistema de lucha integrado que incluya la utilización de un inhibidor del desarrollo de los insectos como el lufenurón con el fin de prevenir la constante multiplicación de las pulgas y un tratamiento con adulticidas como el spinosad, la cual constituiría una alternativa ideal para el control de pulgas en caninos. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la efectividad del uso combinado de lufenurón y spinosad como droga para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

9. Fecha de Estudio y duración

El estudio se inició el 25 de Junio del 2011 y finalizó el 01 de Octubre del 2011, y tuvo una duración total de 98 días.

10. Materiales y Métodos

10.1. Diseño experimental

El presente estudio utilizó un diseño aleatorio simple no controlado, donde un canino representó una unidad experimental. Los 20 animales seleccionados recibieron el tratamiento con la nueva formulación a base de Lufenurón y Spinosad siendo el día 0 el primer día del tratamiento. Los animales iniciaron el tratamiento en diferentes fechas debido a la disposición de sus dueños. Asimismo, los animales fueron evaluados clínicamente dentro de los 15 y 30 minutos posteriores al tratamiento para determinar la posible presencia de efectos adversos (alergias, vómitos, efectos sobre el sistema nervioso u otros).

Antes de recibir el tratamiento se determinó la carga inicial de pulgas de cada canino mediante la técnica del peine fino (Dryden, 1994). La evaluación de la efectividad se realizó a los 14, 28, 42 y 56 días post tratamiento, en base al número de pulgas total de cada animal.

Se evaluó la efectividad en base al porcentaje de reducción del número de pulgas, según la siguiente fórmula (Gordis, 2004):

$$\text{Efectividad (\%)} = \frac{(x_{d=0}) - (x_{d=14,28,42,56})}{x_{d=0}} \times 100$$

Donde:

x= promedio geométrico de pulgas

d= día

Adicionalmente se evaluó el peso y la presencia de dermatitis alérgica por pulgas al día 0, 14, 28, 42 y 56 post tratamiento.

10.2. Tamaño de muestra

Se calculó el tamaño muestral mediante la fórmula de estimación de una proporción. Considerando una efectividad esperada del 96% a los dos meses de estudio en una población de 30 animales, bajo un 95% de nivel de confianza y 5% de error permisible, obteniéndose 20 animales como mínimo.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología



Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú

10.3. Selección de animales e identificación

Se seleccionó aleatoriamente 20 caninos de diversas edades, sexo y raza. Como criterios de inclusión se consideraron a todos los caninos mayores de 14 semanas de edad con un peso mayor de 1kg y una infestación por pulgas de moderada a alta (mayor/ igual a 30 pulgas por animal) (anexo 2). Como criterios de exclusión, no se consideraron hembras lactantes ni gestantes, con antecedentes de epilepsia, ni que estuvieran recibiendo tratamiento de cualquier tipo.

Se registró información de los animales en una ficha de identificación fueron identificados mediante su nombre asignándoles un número de identificación (anexo 3 y 7), en donde se registró el nombre del animal, edad, sexo, datos del propietario, dirección, raza, si era mascota única o vivía con otro animal, presencia de alergias en piel, antecedentes de epilepsia, condición corporal, T°, tipo de alimento consumido y si consumió alimento antes de recibir el tratamiento.

10.4. Manejo de los animales experimentales

Todos los animales pertenecientes al estudio vivían en viviendas de tipo rural, teniendo acceso libre a la calle. La zona de estudio presentaba las condiciones epidemiológicas requeridas para permitir la re-infestación de los animales tratados. La dieta de los animales fue casera, aunque algunos dueños afirmaron complementar eventualmente la alimentación de sus animales con comida balanceada. Los animales estuvieron expuestos a lluvia y baños durante el período de estudio.

10.5. Disposición final de animales

Posterior al periodo de estudio los animales continuaron con sus dueños bajo el manejo habitual que venían recibiendo.

10.6. Tratamiento

El producto veterinario en investigación (PVI) es una tableta palatable conteniendo 150mg de Spinosad y 50mg de Lufenuron (Proventis duo®). El tratamiento consistió en la dosificación oral con el PVI, a una dosis única de 30mg/Kg de PV de Spinosad y 10mg/Kg de PV de Lufenuron (anexo 4). Los animales fueron observados durante 56 días post-tratamiento.

Los PVI que no fueron utilizados fueron llevados al laboratorio para su adecuada disposición final.

10.7. Procedimientos de estudio

Para determinar la carga de pulgas se utilizó la técnica del peine fino descrita por Dryden (1994). Para el desarrollo de la técnica de extracción de pulgas, se formaron 2 grupos de trabajo de dos veterinarios capacitados en la técnica (anexo 5 y 6). Cada animal fue evaluado por un grupo de trabajo. Para ello, cada animal fue colocado en una caja de cartón forrada con papel kraft, luego fueron espolvoreados con metil-carbamato para facilitar la extracción



de las pulgas y fueron peinados durante 15 minutos. En caso de no encontrar pulgas, se continuó el peinado por 10 minutos adicionales. Una vez finalizado el peinado, el perro fue retirado y el papel conteniendo las pulgas fue doblado y sellado hasta el laboratorio en el cual se realizó el conteo respectivo.

10.8. Métodos estadísticos

Se utilizó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y de dispersión para presentar los datos obtenidos. Debido a que los datos del conteo del número de pulgas no siguieron una distribución normal, se procedió a realizar la transformación logarítmica de los datos con el fin de que se aproximen a la distribución normal (Petrie y Watson, 1999). Se calculó el promedio geométrico y sus respectivos intervalos de confianza, considerando un 95% de confianza.

11. Resultados

Se evaluaron un total de 20 caninos, 12 machos y 8 hembras de una edad promedio de 35 meses (5 - 96 meses) y un peso promedio inicial de 11.6Kg (5 - 28.8Kg). Las especies de pulgas que se identificaron fueron *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, *Pulex irritans* y *Echidnophaga gallinacea* (anexo 8). El promedio geométrico de pulgas disminuyó desde 111.8 (día 0) a 3.3 a los 56 días post-tratamiento. El promedio de pulgas durante los diferentes períodos de evaluación se puede apreciar en la tabla 1.

Tabla 1. Promedio geométrico e intervalo de confianza del conteo de pulgas y porcentaje de efectividad de Proventis duo® en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados bajo condiciones de campo, Pamplona Alta, 2012.

Días Post-tratamiento	Promedio	IC (95%)		Efectividad (%)
		min	max	
0	111.8	35.2	354.7	---
14	5.1	0.8	32.3	95.5
28	5.1	0.9	29.3	95.4
42	5.8	0.6	59	94.8
56	3.3	0.3	34.9	97.1

A partir de los 14 días post-tratamiento se obtuvo un alta efectividad correspondiente al 95.5%, manteniéndose estable hasta el día 42 (Tabla 1). Posteriormente se observa un ligero aumento en el porcentaje de efectividad hasta 97.1% (Gráfico 1), pudiendo deberse al efecto residual que posee el lufenuron de 91 días y cuya máxima efectividad comienza recién a las 4 semanas post-tratamiento (Fahmy y el-Dien, 2002). Los resultados de laboratorio correspondientes al conteo de ectoparásitos se pueden observar en el anexo 9.

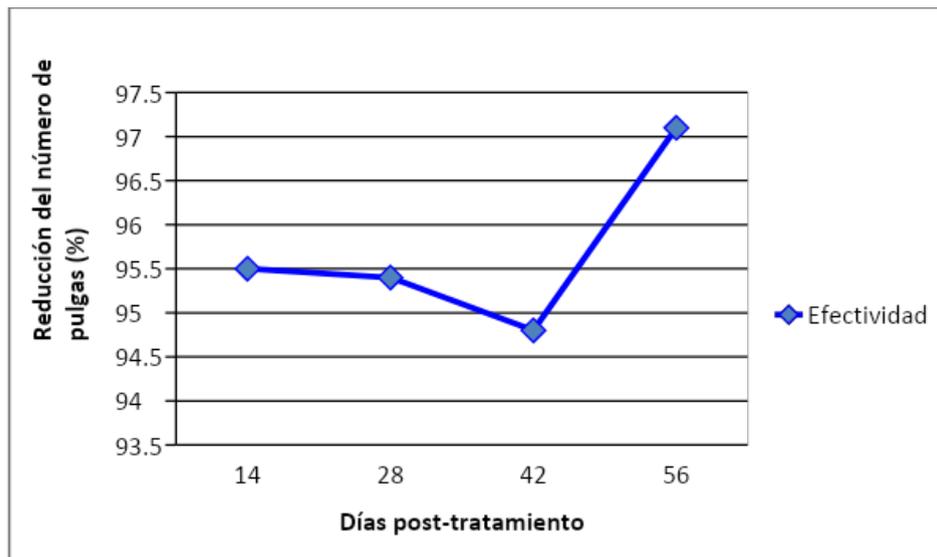
El peso promedio de los animales se mantuvo estable, con un ligero aumento hacia la cuarta y sexta semana. De los 20 animales, 4 presentaron dermatitis alérgica por pulgas al iniciar el estudio. A partir de los 28 días post-tratamiento el



100% de los caninos se recuperaron de esta condición y permanecieron así hasta el fin del estudio.

Un hallazgo importante fue que el 60% (12/20) de caninos presentaron piojos de la especie *Heterodoxus spiniger*, con un promedio geométrico de 10.6 (IC 95% 0.3 – 434.7) piojos por perro. A partir de los 14 días post-tratamiento la carga llegó a cero. A los 28 días post-tratamiento uno de los caninos presentó un piojo. Posteriormente la carga de piojos se mantuvo en cero hasta finalizar el estudio, demostrando un porcentaje de reducción del 100% en el número de piojos por efecto del tratamiento con Proventis duo® bajo condiciones de campo.

Gráfico 1. Evolución de la efectividad de Proventis duo® en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados, Pamplona Alta, 2012.



Así mismo, 3 animales presentaron infección por garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus* con cargas bajas (promedio de 2 garrapatas por animal). El porcentaje de reducción obtenido fue de 83% a los 28 días post-tratamiento, 50% a los 42 días y 67% a los 56 días. Los resultados referentes al efecto del Proventis duo® sobre el control de garrapatas no permiten llegar a conclusiones debido a la baja carga inicial y el bajo número de individuos afectados.

Por su parte, del total de animales el 25% presentó algún tipo de reacción adversa dentro de los 15 minutos post-tratamiento. Del total de animales que presentaron efectos adversos, el 60% presentó tos, el 20% evidenció hipersalivación y el otro 20% vomitó. Cabe mencionar que todos los animales que evidenciaron efectos adversos no habían sido alimentados dentro de las 2 horas anteriores al tratamiento.

12. Conclusiones

- El tratamiento con Proventis duo® otorga una efectividad superior al 95% para el control de las pulgas en caninos naturalmente infestados.
- El periodo residual de Proventis duo® para el control de las pulgas en caninos es de 56 días, con una efectividad del 97%.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología

Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú



- El tratamiento con Proventis duo® otorga una efectividad del 100% para el control de piojos en caninos naturalmente infestados durante 56 días.
- El 25% de animales presentó algún tipo de reacción adversa (tos, hipersalivación, vómitos).
- Proventis duo® puede contribuir en el tratamiento de la dermatitis alérgica por pulgas en caninos.

13. Autores del RF

MV. MsSA(c) Roxana Angelats Mori, Jefe de Investigación y Diseño Experimental de Agrovét Market S.A.

Mg. MV. Amanda Chávez Velásquez, Responsable de la Sección de Parasitología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

MV. Rosa Pinedo, Sección de Parasitología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

BMV. Luis Alfredo Chávez Balarezo, Bachiller en Medicina Veterinaria – Asistente de Investigación y Diseño Experimental de Agrovét Market S.A.

MVZ. Ana Gabriela Murguía Quintana, Jefe de Investigación en Sanidad animal de Agrovét Market S.A.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología

Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú



BMV. Gino Castillo Yáñez, Supervisor en Sanidad animal de Agrovvet Market S.A.

14. Referencias Bibliográficas

- Brunet S**, Le Meter C, Murray M, Soll M, Audonnet JC. 2009. Rdl gene polymorphism and sequence analysis and relation to in vivo fipronil susceptibility in strains of the cat flea. *J Econ Entomol.* 2009 Feb;102(1):366-72.
- Dryden M**, Boyer J, Smith V. 1994. Techniques for estimating On-Animal Populations of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology* 31(4): 631-634.
- 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 familiaris* 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.
- Fahmy MM.**, el-Dien NM. 2002. Control of *Ctenocephalides felis* on dogs and cats using the insect growth regulator (or chitin synthesis inhibitor) lufenuron Program, in Egypt. *J Egypt Parasitol* 32 (1): 99-108.
- Gordis L.** 2004. *Epidemiology*. 3rd ed. USA: Elsevier Saunders. p: 130-146.
- 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 familiaris* 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.
- Makowski, C.** 1985. Natural Flea Control. *Mother earth News* May/June. St., Topeka, Kansas.
- Payne PA**, Dryden MW, Smith V, Ridley RK. 2001. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats.
- Petrie A**, Watson P. 1999. *Statistics for Veterinary and Animal Science*. USA: Iowa State University Press. 243p.
- Pineda S**, Schneider MI, Martínez AM. 2007. El spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. *Ciencia Nicolaita* 46: 29-42.
- Plumb D.** 2002. *Veterinary Drug Handbook*. 4th ed. USA: Iowa State Press. p 514-516.

15. Anexos



Anexo 1. Zona de estudio, Pamplona Alta



Anexo 2. Canino evidenciando infestación alta por pulgas





Anexo 3. Identificación de animales



Anexo 4. Tratamiento de animales





Anexo 5. Grupos de conteo de pulgas





Anexo 6. Extracción de pulgas de caninos mediante la técnica de peine fino





Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Medicina Veterinaria
Laboratorio de Microbiología y Parasitología
Sección de Parasitología
 Av. Circunvalación cuadra 28 – San Borja, Lima 41 - Perú



Anexo 7. Ficha de Seguimiento Proyecto de Investigación en Pamplona Alta

1. Nº Ficha: _____ 2. Id animal: _____
 3. Propietario: _____ 4. AAHH: _____
 5. Dirección: _____
 6. Nombre del perro: _____ 7. Edad: _____
 8. Sexo: Hembra Macho 9. Raza: _____
 10. Nº de perros en casa (Incluido el animal evaluado): _____
 11. Presencia de gatos en casa: Si No
 12. Alimentación: Comida casera Concentrado Ambos
 13. Condición del animal: Buena Regular Pobre
 14. Lote A B C
 15. Antecedentes de epilepsia: Si No Tº _____ ºC

Día	Fecha	Peso (kg)	Dermatitis alérgica por pulgas	Efectos secundarios (vómitos, decaimiento, alergias, anorexia)
0 (15-30min post tratamiento)				
2 semanas				
4 semanas				
6 semanas				
8 semanas				

16. ¿El animal recibió alimento antes del tratamiento?: Si No (si la respuesta es "No" pase a la pregunta 18)

17. Si el animal comió, ¿cuánto tiempo pasó hasta que recibió el tratamiento?
 0-15 minutos 15 minutos-1 hora Entre 1 y 2 horas

18. Palatabilidad: Alta Media Baja

(Alta: comió y quiso más; Media: comió con un poco de esfuerzo, Baja: se necesitó ayuda del dueño u forzarlo).

16. Observaciones

Anexo 8. Identificación de ectoparásitos de caninos provenientes de Pamplona Alta