

REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF)

1. Título

Evaluación comparativa de efectividad, residualidad, tolerancia y efectos colaterales de dosis crecientes de una formulación a base de fipronil y una combinación de fipronil con pyriproxyfen (Fipronex duo ®) en el control de pulgas en caninos.

2. Número de Ensayo

NN-2004

3. Tipo de Estudio

Estudio de Investigación.

4. Objetivo General

Comparar la eficacia, residualidad, tolerancia y efectos colaterales de dosis crecientes de una formulación a base de fipronil y una combinación de fipronil con pyriproxyfen (Fipronex duo ®) en el control de pulgas en caninos.

5. Investigador Principal

Amanda Chávez V. Médico Veterinario del Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM.

Eva Casas A. Médico Veterinario del Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM.

6. Sponsor

Agroveter Market S.A.

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

Teléfono: (51) (1) 435 2323

6.1. Equipo de Trabajo

Jose Tang Ploog – Sub Gerente de Investigación y Desarrollo.

7. Lugar de Estudio

La evaluación se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el Distrito de San Borja, Ciudad de Lima, a una altitud de 50 m.s.n.m. y con una temperatura ambiental promedio de 18° C.

8. Antecedentes y Justificación

Las pulgas constituyen los ectoparásitos de mayor frecuencia en las mascotas, así lo demuestran diversos estudios realizados en Lima Metropolitana durante la estación de verano de 1997 en 400 caninos provenientes de diversos distritos del cono sur, donde se halló que la prevalencia de ectoparásitos en los perros fue de 85.5% y las pulgas ocuparon el primer lugar: *Ctenocephalides felis* 53.5%, *Ctenocephalides canis* 10%, *Pulex irritans* 21.5% y *Echidnophaga gallinacea* 13,3% (Liberato, 1998). Otro estudio realizado durante la estación de verano de 1999 en 400 caninos de ambos sexos, provenientes de los distritos del cono norte, halló una prevalencia de ectoparásitos del 98.8%, y donde también las

pulgas ocupaban los primeros lugares (89% *Ctenocephalides felis*; 1.8% *C. canis*, 37.8% *Pulex irritans* y 2.5% *Echidnophaga gallinacea*) (Estares, 1999).

Se conoce además que la pulga ocasiona en las mascotas afectadas diversos trastornos fisiopatológicos, que cursan con disminución del apetito y un mal aprovechamiento de los alimentos, debido a la irritación causada por la picadura; haciendo que el animal se muestre inquieto, se rasque y deje de alimentarse adecuadamente que conllevará a un retraso en el crecimiento y pelo deslucido. Por ser un parásito hematófago, ocasiona anemia e hipoproteïnemia ya que la hembra puede succionar hasta 13.6 ul de sangre al día. Además, no se debe olvidar que la pulga es hospedero intermediario de otros parásitos como el *Dipylidium caninum*, *Dipetalonema reconditum* y vector de *Yersinia pestis* (Leguía, 2002).

Las pulgas adultas se alimentan de sangre que ingieren con su picadura, generando un proceso alérgico en la mayoría de los perros, algunos gatos y humanos, lo cual se conoce como dermatitis alérgica por pulgas, "DAPP". Las pulgas pueden vivir varios años y pasar sin alimentarse varios meses bajo condiciones extremas. Las pulgas pueden permanecer en estructuras o viviendas mucho tiempo después de que los mamíferos hayan sido extraídos del lugar (Leguía, 2002)

Las pulgas hembras depositan huevos luego de 24 - 48 horas de la primera ingesta de sangre continuando hasta más allá de los 100 días. La producción diaria de huevos oscila entre los 40 y 50; siendo la postura en toda su vida de 2000 huevos. Las larvas eclosionan en 2 a 21 días; estas son blancas y con pelos, no poseen patas ni ojos pero sí mandíbulas y dependen de la disponibilidad de alimento, humedad relativa y otros factores ambientales. En el medio ambiente se alimenta de sangre seca, heces de pulgas secas y cualquier materia orgánica en descomposición. Luego de dos mudas la larva de tercer estadio empieza a construir su capullo llamado pupa (Leguía, 2002). La etapa de pupa dura aproximadamente una semana, pudiéndose prolongarse hasta un año. El nuevo adulto puede permanecer en el capullo por algún tiempo; frente a condiciones adversas puede esperar hasta un año sin salir. La emergencia o salida del adulto ocurre en respuesta a la presión aplicada al capullo, la detección de calor corporal del hospedero, vibraciones o la presencia de dióxido de carbono en la respiración del hospedero. Este ciclo es variable pudiendo demorar tan solo 12 días como 174 días dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura del ambiente; bajo las condiciones ambientales de Lima, en verano el ciclo se contempla entre 3 a 5 semanas.

El aspecto más importante de este ciclo es que las pulgas adultas solo están en el animal para alimentarse, representando solo un 5% de la cantidad total que existe en su ambiente habitual; es decir, que la población restante de pulgas consiste en 50% huevos, 35% larvas y 10% pupas se hallan en el medio ambiente. Por lo tanto, es necesaria la adopción de programas de prevención y control para eliminar las pulgas adultas y sus demás estadios.

Los primeros registros del uso de pesticidas, son hechos por Homero, alrededor del 1000 a.C., en la antigua Grecia, quien se refería a la quema de azufre para la fumigación de las casas y hasta la mitad del siglo XIX, las plagas fueron controladas con químicos con algún grado de éxito. A excepción de nicotina, piretrinas y rotenonas, la mayoría de los insecticidas usados hasta comienzos de

siglo XX fueron de naturaleza inorgánica. Después de la Segunda Guerra Mundial aparecen comercialmente productos como DDT. Inconscientes de los riesgos que generaban, los usuarios aplicaban pesticidas deliberadamente, generando problemas de resistencia, de salud y contaminación. En la década de los '60, debido al creciente interés mundial por la protección ambiental, los insecticidas fueron objeto de protesta científica y popular. Años posteriores se prohíbe el uso de productos como DDT, dieldrin, y la mayoría de los mercuriales, entre otros.

En las últimas dos décadas los programas de tratamiento y control cuentan en el mercado con diferentes tipos de pulguicidas de diversos grupos químicos, cuyo éxito depende del tratamiento simultáneo del animal así como del medio ambiente. Dentro de ellos se tienen las avermectinas, piretroides y fenilpirazoles, entre otros, todos con diversos modos de acción orientados a formar parte de las alternativas para el control

Del grupo de los de fenilpirazoles, se conoce al fipronil el cual está emparentado en el modo de acción con las ivermectinas, en el sentido que actúa como bloqueante de los canales del ion cloro regulados por el GABA en las membranas de las células nerviosas. Normalmente el flujo del cloro está regulado por el receptor de GABA que permite la apertura del canal, provocando la hiperpolarización de las células nerviosas con la consecuente disminución de su actividad, su bloqueo anula el efecto neurotransmisor del GABA, inhibiendo el flujo intracelular de aquel ión conduciendo a la muerte del parásito por hiperexcitación (Blagburn y Lindsay., 2001).

El fipronil es altamente específico para los invertebrados mata el 100 % de pulgas adultas dentro de las 24 horas y después de las 48 de su aplicación el animal puede ser bañado todas las veces que desee; debido a que el ingrediente activo se encuentra ya incorporado a las glándulas sebáceas del animal y su lavado no altera la eficacia. Proporcionado una protección en caninos de 2 a 3 meses frente a infestaciones de pulgas y garrapatas y en gatos durante 5 semanas. Atribuyéndosele cierta eficacia para el control de formas inmaduras de las pulgas, gracias a la reducción de huevos y larvas viables por contacto fundamentalmente con pelos tratados. Así mismo, los reguladores del crecimiento de los insectos (IGRs) (metopreno, fenoxicarb, pyriproxyfen) simulan la hormona juvenil que producen las larvas de pulga durante la fase de pupa.

Cuando el huevo y la larva se exponen a esta hormona, ni el primero eclosionará ni el segundo pasará a pupa. Como estas hormonas son específicas para los insectos, los productos que las contienen son inocuos para el hombre y sus animales de compañía (la dosis letal 50 oral para perros del metopreno es de 5.000 a 10.000 mg por kg de peso y de 16.000 mg/kg de peso para la rata y el fenoxicarb). Los inhibidores del desarrollo de los insectos (IDIs) (lufenurón) son inhibidores de la quitina que hacen que las larvas no puedan salir del huevo.

Esta sustancia es administrada oralmente a los animales de compañía una vez al mes, depositándose en la grasa de los mismos. Es liberada lenta pero constantemente desde los tejidos grasos a la sangre, permitiendo así que existan niveles séricos efectivos durante las semanas posteriores a su administración. La hembra de la pulga ingiere la sustancia al picar al hospedero, incorporándose de esta manera a los huevos. Este producto no actúa sobre el insecto adulto. El lufenurón es muy seguro, no conociéndosele

contraindicaciones ni efectos secundarios (la dosis letal 50 oral para la rata es mayor que 2.000 mg/kg de peso) (Blagburn y Lindsay., 2001; Leguía, 2002; Candece, 2003).

9. Fecha de Estudio y duración

El presente estudio se llevó a cabo entre los meses de Julio a Octubre del año 2004 y tuvo una duración total de 3 meses.

10. Materiales y Métodos

10.1. Diseño experimental

Los animales fueron agrupados por edades y tamaños similares distribuyéndose en seis grupos de cuatro animales cada uno mediante un diseño randomizado. Todos ellos estuvieron ubicados en un ambiente cerrado, con caniles colindantes y con piso de cemento; sólo el grupo control permaneció en un ambiente anexo a los grupos tratados. Todos los animales permanecieron en esa ubicación, durante el tiempo que duro el experimento. Los tratamientos fueron los siguientes:

-Grupo A: Controles no tratados.

-Grupo B: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y pyriproxyfen al 0.25% (Fipronex Duo ®), administrado por aspersión, a dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

-Grupo C: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®).

-Grupo D: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®).

-Grupo E: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®).

-Grupo F: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y isopropanol al 80% (Front Line ®).

Los grupos A y B, fueron evaluados durante 120 días mientras que los grupos C, D, E y F durante 90 días.

10.2. Tamaño de muestra

Se trabajó con un total de 24 animales.

10.3. Selección de animales e identificación

Para la evaluación, se seleccionaron 24 caninos de edades y tamaños similares, infestados naturalmente con pulgas (*Ctenocephalides felis*, *Ct. canis* y *Pulex irritans*).

10.4. Manejo de los animales experimentales

Los animales en cuestión fueron alimentados con una dieta en base a alimento concentrado y se les proporcionó agua ad libitum para su consumo.

10.5. Disposición final de animales

Luego del estudio los animales siguieron con su vida normal.

10.6. Tratamiento

-Grupo A: Controles no tratados.

-Grupo B: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y pyriproxyfen al 0.25% (Fipronex Duo ®), administrado por aspersión, a dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

-Grupo C: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®), administrado por aspersión, a la mitad de la dosis de 1.5-3 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

-Grupo D: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®), administrado por aspersión, a la dosis completa de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

-Grupo E: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y etanol al 75% (Fipronex ®), administrado por aspersión, a doble dosis de 6-12 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

-Grupo F: Tratado con una combinación comercial de fipronil al 0.25% y isopropanol al 80% (Front Line ®), administrado por aspersión, a la dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo.

10.7. Procedimientos de estudio

Determinación de infestación y efectividad de los tratamientos.

El procedimiento para evaluar las pulgas presentes en cada uno de los grupos, se realizó mediante el método del peine fino para lo cual se colocó un animal dentro de una caja semiabierta y con fondo blanco, espolvoreándose metilcarbamato sobre todo el animal, por espacio de un minuto, posteriormente se procedió a coleccionar todas las pulgas obtenidas con el peine fino, así como las que caían en la caja durante el manejo. Se contaron la totalidad de pulgas presentes en dos animales por cada grupo del experimento.

Infestación Artificial

Con la finalidad de determinar el poder residual del producto; todos los animales del experimento fueron expuestos a los 10 y 35 días post tratamiento a reinfestaciones artificiales, colocándoles aproximadamente 30 pulgas sobre cada canino, así como dentro de cada canil fueron colocados otras 30 pulgas así como sus huevos.

Eficacia

Se determinó el porcentaje promedio de pulgas vivas, tanto individualmente como en forma colectiva. Además, se evaluó la eficacia del tratamiento mediante la siguiente fórmula:

$$Eficacia = \frac{PPI - PPF}{PPI} \times 100\%$$

Donde: PPI= Población inicial de pulgas

PPF= Población final de pulgas

10.8. Métodos estadísticos

Se utilizó estadística descriptiva para presentar los datos obtenidos.

11. Resultados

El cuadro 1, muestra el promedio de pulgas vivas observadas en los diferentes grupos caninos tratados y no tratados, cuyo número varió de 406 a 870 pulgas por animal en todos los grupos del experimento. A partir de los 15 días post tratamiento se observa que los grupos tratados con combinación comercial de fipronil 0.25%/etanol 75% (Fipronex ®) en dosis completa y dosis doble, sufren una reducción dramática de la carga de pulgas, permaneciendo sin pulgas hasta los 60 días y posteriormente la carga se incrementó paulatinamente hasta los 90 días que duro la observación. Mientras que el grupo tratado con una combinación comercial de fipronil 0.25%/isopropanol 80% (Front Line), no presentó pulgas hasta los 45 días y paulatinamente se observó un incremento en su número hasta los 90 días. Mientras el grupo tratado con media dosis de una combinación comercial de fipronil 0.25%/etanol 75% (Fipronex ®), si bien redujo la carga de pulgas a los 15 días post tratamiento, hasta contabilizar 20 pulgas, se observó también que conforme transcurrían los días de observación la carga de pulgas se vio incrementada hasta contabilizarse 55 a los 90 días post tratamiento y finalmente el grupo B tratado con la combinación fipronil/pyriproxyfen permaneció sin pulgas durante los 120 días que duro el experimento.

Cuadro 1. Promedio de pulgas en caninos tratados con tres diferentes dosis de fipronil 0.25% / etanol 75%; fipronil 0.25% / isopropanol 80%; fipronil 0.25% / pyriproxyfen 0.25% y grupo control no tratado. San Borja, Lima 2004.

Observación (días)	Control no tratados	Fipronil 0.25%/ Pyriproxyfen 0.25%	Fipronil 0.25% / Etanol 75 %			Fipronil 0.25%/ Isopropanol 80%
			Media dosis	Dosis completa	Dosis doble	
0	501	425	870	835	458	406
15	507	0	20	0	0	0
30	405	0	22	0	0	0
45	435	0	29	0	0	0
60	555	0	34	0	0	1
75	565	0	43	2	1	2
90	520	0	55	3	3	5

En el cuadro 2, se consignan los porcentajes promedio de efectividad de tres diferentes dosis de una combinación comercial de fipronil 0.25%/etanol 75% (Fipronex ®); una combinación comercial de fipronil 0.25%/isopropanol 80% (Front Line) y el grupo de la combinación fipronil/pyriproxyfen en el control de pulgas de perros infectados con ellas en forma natural y artificial, durante 90 días y 120 días post tratamiento. Los grupos de caninos tratados con una combinación comercial de fipronil 0.25%/etanol 75% tanto en dosis completa y dosis doble; así como los tratados con una combinación comercial de fipronil 0.25%/isopropanol 80% (Front Line) presentaron una efectividad desde 100% hasta 98.8% durante 90 días. Mientras que el grupo tratado con media dosis de una combinación comercial de fipronil 0.25%/etanol 75% (Fipronex ®) mostró

una efectividad a los 15 días de 97.7% y a partir de esa fecha hasta los 90 días que finalizó la evaluación, la efectividad se vio disminuida hasta 93.7%. Mientras que el grupo de caninos tratados con fipronil/pyriproxyfen mostró una efectividad del 100% durante los 120 días que duro el experimento.

Cuadro 2. Porcentaje promedio de efectividad en el control de pulgas, con tres diferentes dosis de fipronil 0.25% / etanol 75%; fipronil 0.25% / isopropanol 80%, y fipronil 0.25% / pyriproxyfen 0.25%. San Borja, Lima 2004.

Observación (días)	Fipronil 0.25% / Pyriproxyfen 0.25%	Fipronil 0.25% / Etanol 75 %			Fipronil 0.25% / Isopropanol 80%
		Media dosis	Dosis completa	Dosis doble	
0-15	100.0	97.7	100.0	100.0	100.0
0-30	100.0	97.5	100.0	100.0	100.0
0-45	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0
0-60	100.0	96.1	100.0	100.0	99.8
0-75	100.0	95.1	99.8	99.8	99.5
0-90	100.0	93.7	99.6	99.3	98.8

Diferencias estadísticas significativas al nivel de 0.05 fueron hallados entre los grupos tratados con: una combinación comercial de fipronil/pyriproxyfen, con fipronil 0.25%/etanol 75% (Fipronex ®) en dosis completa y dosis doble, así como el grupo tratado con una combinación comercial de fipronil 0.25% / isopropanol 80% (Front Line); Versus los grupos control y tratado con una combinación comercial de fipronil 0.25% / etanol 75% (Fipronex ®) en media dosis. Por lo tanto, los resultados obtenidos en los grupos tratados con una combinación comercial de fipronil 0.25% / etanol 75% (Fipronex ®) en dosis completa y dosis doble, así como en el grupo tratado con una combinación comercial de fipronil 0.25% / isopropanol 80% (Front Line ®); ratifican lo demostrado en estudios donde el efecto residual del fipronil no es más de 90 días (Dryden, et al., 2000).

12. Conclusiones

El resultado observado con el grupo tratado fipronil/pyriproxyfen demuestra la acción sinérgica del uso de un pulguicida adulticida (fipronil) y un IGRs que actúa sobre las formas inmaduras de los insectos logrando cortar el ciclo biológico de las pulgas y eliminando las fases no parasíticas de la pulga. Obteniéndose de esta manera un buen control en las mascotas y en el medio ambiente. Asimismo, se debe mencionar que ninguno de los animales tratados con las diferentes dosis, mostraron reacción tóxica (síntomas nerviosos ni reacciones alérgicas) durante y posterior a la aplicación de las drogas empleados en el estudio.

13. Autores del RF

Amanda Chávez V., Médico Veterinario del laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM

Eva Casas A., Médico Veterinario del laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM

José Tang Ploog, Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo de Agroveter Market S.A.

14. Referencias Bibliográficas

Blagburn BL; DS. Lindsay 2001 Ectoparasiticidas. (En: Adams R. Farmacología y Terapéutica Veterinaria) p. 1101-1104. 2da. Ed. Editorial Acribia. Zaragoza España.

Candece A.S. 2003. Las pulgas (reacciones alérgicas y control una revisión). *Dermatology on line Journal* 3(2):7 [OnLine] disponible: <http://dermatology.cdlib.org/DOJvol3num2/Fleas/fleasesp.html> [10/08/2003]

Dryden MW; TM Denenberg; S. Bunch 2000. Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. *Vet. Parasitol.* 93(1):69-75.

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

Leguía G.P. 2002. Enfermedades Parasitarias epidemiología y control de perros y gatos. P. 78-82. 2ºed. Editorial De Mar.Lima-Perú.

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