



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Veterinarias

Corrientes - Argentina

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

- MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA -

OPCIÓN: Clínica de Pequeños Animales

TEMA: “EFICACIA DEL SPINOSAD SOBRE CANINOS NATURALMENTE INFESTADOS POR PULGAS (*Ctenocephalides canis* y *C. felis*)”ⁿ

TUTOR EXTERNO: Dra. Lozina, Laura

TUTOR INTERNO: MV. Del Río Álvarez, Florencia

RESIDENTE: Bissaro, Ricardo Atilio

e-mail: ricardoatiliobissarol@gmail.com

2023

Gracias a mi familia por acompañarme en cada paso, por su apoyo incondicional, por ayudarme a cumplir este objetivo y por tanto amor brindado en todo el proceso.
A la cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE. Especialmente a mi tutora intema MV. Del Río Álvarez, Florencia; tutora extema Dra. Lozina, Laura.
Por sobre todo quiero dar las gracias a Dios por hacerlo posible.

INDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Objetivos.....	6
Materiales y métodos.....	7
Resultados.....	8
Discusión.....	14
Conclusiones.....	15
Referencias bibliográficas.....	16

RESUMEN

Las pulgas son parásitos externos muy frecuentes en nuestras mascotas, la infestación por pulgas en perros es una de las principales causas de consulta con el veterinario ya que provoca malestar en los mismos, produciendo dermatitis prurito e irritación, a menudo se producen costras y las mismas se contaminan con bacterias por el propio rascado, empeorando el cuadro. Por otro lado, representan un riesgo para la vida de nuestra mascota ya que una sola pulga pica a su hospedador unas 10 veces al día e ingiere hasta 15 veces su peso en sangre por lo que una infestación masiva puede producir un caso grave de anemia e incluso la muerte. Las pulgas actúan también como huésped intermediario de parásitos intestinales y vectores bacterianos, son potencialmente peligrosas para el ser humano por la posibilidad de transmitir una zoonosis. En el siguiente ensayo se buscó determinar la eficacia a dosis terapéuticas del spinosad en una población de caninos infestados naturalmente con pulgas (*iCtenocephalides canis*y *C.felis*) a los cuales se les realizó un examen objetivo general, donde se evaluó temperatura, grado de hidratación, tiempo de llenado capilar, frecuencia cardiaca y respiratoria, examen de mucosas, conjuntivas, peso y estado de nutrición. También se realizaron análisis de sangre (hemograma, bioquímica renal y hepática) para determinar el estado de salud previo de la administración del spinosad, una vez obtenidos los resultados de los análisis de laboratorio se pudo corroborar que los animales se encontraban en buen estado de salud y se procedió a la administración de comprimidos orales de spinosad a una dosis de 45 mg spinosad / kg de peso (entre 30 y 60 mg de Spinosad / kg de peso). Luego de la administración se realizó la observación diaria y recuento de los ectoparásitos, así como el monitoreo (medición de parámetros) de los animales durante 35 días. El mismo arrojó por resultado que el spinosad posee una gran eficacia para la eliminación de los ectoparásitos (pulgas) sin ser nocivo para los caninos a dosis terapéuticas.

Introducción

El Spinosad es una molécula de origen natural producida por la fermentación de la bacteria actinomiceta, *Saccharopolyspora spinosa*. Esta molécula es utilizada en el control y prevención de pulgas en perros y gato, además de ser un insecticida natural, está formado por principalmente de 2 componentes, spinosina A y spinosina D, tiene una estructura que consiste en un grupo de amina terciaria, 2 azúcares y un gran complejo hidrofóbico de múltiples anillos (Yano *etal.*, 2002).

La actividad insecticida del Spinosad se caracteriza por la excitación nerviosa, que produce contracciones musculares y temblores, postración, parálisis y muerte rápida de la pulga. Estructuralmente, las spinosinas son macrólidos tetracíclicos con un sistema de anillo único. Exhiben un modo de acción novedoso que involucra principalmente sitios de unión a receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChR), lo cual ocasiona una activación continua de las neuronas motoras que lleva a la muerte de los insectos por agotamiento. Este compuesto también puede unirse a receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en el sistema nervioso. Por lo tanto, el Spinosad tiene un modo de acción distinto al de otros medicamentos destinados al control de pulgas o insectos. No interactúa con centros de unión conocidos de otros insecticidas nicotínicos o gabaérgicos como los neonicotinoides (imidacloprid o nitenpiram), fiproles (fipronil), milbemicinas y avermectinas (Devine, 2008). Las pruebas de toxicidad convencionales indican que el Spinosad no tiene prácticamente ninguna toxicidad para las aves y los mamíferos, por lo que se la considera muy segura (Bret *etal.*, 1997).

Por otro lado, en nuestra sociedad existe una importante interacción entre humanos y diversos grupos de animales de compañía. Estas asociaciones no están libres de riesgos para los propietarios de mascotas, particularmente enfermedades zoonóticas (Ríos, 2003), como ser la dipilidiasis es una zoonosis parasitaria provocada por *Dipylidium caninum*, teniasis que afecta a cánidos felidos y al hombre (Neira, 2008).

A su vez, las picaduras de pulgas provocan lesiones inflamatorias sobre la piel de las mascotas que ocasionan picazón (prurito), inquietud y un desmejoramiento de su estado general. El desplazamiento de estos insectos entre el pelaje de los perros o gatos también provoca comezón y molestias constantes. Debido a la pérdida de sangre producto de la alimentación de las pulgas, los animales parasitados pueden presentar anemia, así como desmejoramiento general de la piel y estado de salud. Mundialmente al referirse a las pulgas se asocia con dermatitis alérgica por picadas de pulgas, presentando síntomas de: inflamación, alopecia, prurito, escoriaciones, hiperpigmentación, hiperqueratosis y acantosis (Carlotti, 2001; Muller y Kirk, 1995).

Por todo lo antes dicho, en el presente ensayo se propone la evaluación de eficacia e inocuidad del spinosad como un antiparasitario oral en caninos para el control de *Ctenocephalides canis* y *C. felis*.

Objetivos:

Objetivo Principal o específico:

- Evaluar la eficacia a dosis terapéuticas del Spinosad en comprimidos para el tratamiento de infestaciones por *Ctenocephalides canis* y *C. felis* en caninos.

Objetivos secundarios:

- Evaluar la tolerancia oral en caninos del producto a ensayar.
- Determinar el poder de voldeo y mortalidad de los ectoparásitos.
- Evaluar el poder residual de producto sobre infestaciones naturales producidas por *Ctenocephalides canis* y *C. felis* durante 35 días.

Materiales y Métodos

1. Animales

El siguiente trabajo se realizó usando 8 caninos, hembras y machos, de entre 1 a 8 años, con pesos superiores a 5kg y un estado de nutrición aceptable, determinado por las tablas correspondientes entre 2 y 4 puntos sobre una tabla de 5 puntos, parasitados naturalmente con *Ctenocephalides canis* y *C. felis*

Los individuos se encontraron clínicamente sanos, libres de enfermedades que comprometan el desarrollo completo del estudio.

Por razones de bienestar animal, y con el objetivo de utilizar la mínima cantidad de animales, sólo se incluyó 8 individuos en los cuales se realizó el control pertinente.

1.1 Selección

Para seleccionar los 8 animales que se incluyeron en el estudio se visitaron refugios y propietarios que asistan a clínicas y estén interesados en la participación de sus mascotas. A partir de esta búsqueda, teniendo en cuenta las características de los animales antes nombradas y disponibilidad de tutores, es que se procedió a la selección de los 8 caninos.

Se incluyeron aquellos individuos cuya intensidad de infestación fue de moderada (6-20) y alta (> 20) según la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (W.A.A.V.P 2006) (Tabla N°1) que no hayan recibido tratamiento antiparasitario externo contra *Ctenocephalides canis* y *C. felis*, dos meses previos al inicio de la prueba.

Intensidad de infestación	Numero de pulgas/animal
0	Ninguno
1(leve)	1-5
2(moderado)	6-20
3 (alto)	+20

Para la discriminación de los participantes, llegado el momento de comenzar la prueba, a los animales se les realizó un examen clínico se tuvo en cuenta el estado nutricional mediante evaluación de condición corporal, la coloración de las mucosas, tiempo de llenado capilar, auscultación cardíaca y pulmonar, palpación abdominal y presencia o ausencia de signos compatibles con enfermedad y de laboratorio mediante un análisis de sangre (hemograma y bioquímica renal y hepática), dando por resultado que los mismos se encontraban libres de enfermedades que pudieran interferir en el estudio.

1.2. Identificación de los animales:

Todos los animales experimentales recibieron una identificación basada en un collar con el nombre del mismo y una numeración colocada mediante marcador indeleble que se mantuvo durante todo el estudio, y asegurado con un precinto plástico en la hebilla. Los datos de los animales fueron registrados en una planilla individual donde se adjuntaba su nombre y foto.

1.3. Estado de Salud:

Se realizaron dos evaluaciones, clínica y por métodos complementarios, mediante muestras de sangre obtenidas por punción venosa, a partir de las cuales se obtuvieron valores de hemograma y bioquímica sérica perfil hepático y renal. Dichos análisis se realizaron los días -2 y +35 del ensayo. El laboratorio que recibió las muestras tomadas fue el “Laboratorio Marcomini”, ubicado en San Martín 1764, Corrientes capital.

1.4. Manejo y Alimentación:

Los individuos experimentales permanecieron en el domicilio particular del propietario, quién aloja a los 8 sin contacto con otros animales ajenos al estudio, en el mismo recinto. El alimento fue el habitual y contaron con agua *ad libitum*.

2. Tratamiento

2.1. Producto en investigación

Spinosad oral en comprimidos

2.2. Dosis y administración:

Dosis promedio: 45 mg SPINOSAD / kg de peso (entre 30 y 60 mg de Spinosad / kg de peso. Se administró vía oral, una tableta de acuerdo al peso del animal.

3. Actividades desarrolladas

La duración del estudio fue de 37 días:

Día -2: Control pre-prueba: Examen clínico general y pesaje de los animales. Identificación individual. Toma de muestra para análisis de sangre: Hemograma, bioquímica sérica renal y hepática. Recuento de parásitos.

Día 0: Documentación y registro de observaciones previas a la dosificación. Recuento de parásitos y administración del producto. Observación de los animales durante 2 hs. Evaluación Clínica, determinación de tolerancia.

Días 1 y 3: Recuento de parásitos. Determinación del poder de volteo. Evaluación Clínica, determinación de tolerancia.

Días 7,14 y 21: Recuento de parásitos. Evaluación Clínica: Examen físico general.

Días 28 y 35: Recuento de parásitos. Determinación del poder residual. Evaluación Clínica: Examen clínico general.

Día 35: Recuento de parásitos. Evaluación Clínica: Examen clínico general. Toma de muestra para análisis de sangre: Hemograma y bioquímica sérica renal y hepática.

Días 0 al 35: Observación diaria de la salud y posibles efectos adversos.

4. Recolección y registro de datos

Evaluación de post aplicación:

Efectos Adversos: No se registraron efectos adversos a la administración durante el transcurso del ensayo.

Caracteres para la observación de inocuidad del producto:

- Ptialismo (salivación excesiva)
- Apatía
- Ataxia
- Desorientación
- Temblores
- Espasmos
- Convulsiones

Disnea

- Diarrea
- Pérdida de peso
- Variaciones de temperatura corporal fuera del rango fisiológico

Los tiempos del estudio en que se realizaron las evaluaciones clínicas individuales fueron coincidentes con la evaluación de la eficacia del pulguicida. Además, el día de la administración se realizó el Examen Objetivo General de los animales cada 2hs por el lapso de 6hs, en busca de signos tempranos de intolerancia/intoxicación.

5. Análisis Estadístico

La eficacia se determinó bajo el supuesto de observaciones pareadas o relacionadas, suponiendo dos variables: A (antes) y D (después), de un n=8, antes y después del tratamiento. La diferencia entre las mediciones, nos arrojó una variable de cada individuo. Las diferencias entre los grupos fueron analizadas mediante la transformación de los datos. Los mismos fueron expuestos a los supuestos del análisis, para luego realizar una prueba de Tukey.

$$\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - D_i)}{n}$$

Donde:

Ai= Media aritmética de parásitos pre aplicación.

Di= Media aritmética de parásitos post aplicación.

n= Número de animales.

RESULTADOS

Observaciones generales y examen clínico. Las observaciones generales del estado de salud y exámenes clínicos realizados, indicaron que los animales no mostraron alteraciones en cuanto comportamiento, salud y aptitud coincidente con la especie, y establecidas para este estudio, todos los animales se encontraban normales en lo que respecta al examen objetivo general incluyendo: estado de nutrición, hidratación, sensorio, sistema digestivo, mucosas y sistema circulatorio. Respecto a la administración oral, se pudo observar la ausencia de efectos adversos, tanto locales como sistémicos, durante todo el ensayo. En el mismo apartado, se anexan resultados del análisis de sangre, que incluye hemograma, bioquímica renal y hepática. Respecto a los efectos adversos, los mismos no fueron observados durante el transcurso del ensayo, tanto locales como sistémicos. En la evaluación clínica se incluyó la valoración del peso corporal al D-14 y D+35, la cual no sufrió alteraciones significativas. Los resultados se presentan en la siguiente Tabla N°2.

Tabla N°2: Pesos corporales al inicio y final del ensayo

Numero de identificación	Paciente	Peso(kg) D-14	Peso(kg)D+35
1	C hispí ta	6.30	6.15
2	Pampa	9.50	10.10
3	Milo	9.80	9.90
4	Marmolada	10.20	10.00
5	Ruth	11.90	12.20
6	Negra	12.40	12.20
7	Negrita	13.40	13.40
8	Negro	16	16.70

Análisis de sangre: La evaluación de los hemogramas realizados al día +34, en los 8 animales incluidos en el ensayo, evidenció un aumento, respecto al día-14, en valores de Hematocrito, recuento de GR y dosaje de Hemoglobina, donde 7 de los 8 pacientes (88%) lograron normalizar sus valores hemáticos. El 100% de los animales evidenció fórmula leucocitaria normal, así como también, valores de Urea y Creatinina dentro de los parámetros esperados para la especie. Los resultados del Hepatograma arrojaron valores normales para las enzimas hepáticas GPT y GOT en el 100% de los animales incluidos en el ensayo. Del análisis del colesterol, se observa que 4 de 8 pacientes (50%) presenta dicho valor por debajo del rango normal. Asimismo, 2 de 8 pacientes (25%) presenta la Fosfatasa Alcalina ligeramente aumentada. Durante los controles realizados, se constató por medio de la anamnesis actividades de coprofagia en algunos individuos pertenecientes al ensayo. Se considera que la hipコレsterolemia primaria rara vez constituye un problema. Algunas causas de hipコレsterolemia pueden ser enteropatías perdedoras de proteínas, hepatopatías, determinados procesos malignos y desnutrición grave (Willard & Tvedten, 2011; Stockham & Scott, 2008), pero debido a que no encontramos alteraciones en otros analitos que generalmente están asociados en estas patologías, podría no significar una disminución clínicamente relevante. A su vez, el Spinosad tiene un metabolismo y excreción hepática, por lo que se descartaría como causal de dicha alteración.

Eficacia sobre pulgas

A partir del análisis de los resultados obtenidos, se determinó la reducción en el conteo de pulgas adultas en todos los tiempos evaluados. El análisis estadístico reveló diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0001$) durante todos los muestreros realizados después del tratamiento, al ser comparados con el DO. En el Gráfico N°1 se observan media y desvío estándar obtenidos.

DÍA	FECHA	MEDIA	D.E	EFICACIA (%)

0	12/05/22	55,88	32,20	-
DÍA 1	13/05/22	0,25	0,71	99,77
DÍA 3	15/05/22	0,00	0,00	100,00
DÍA 7	19/05/22	0,00	0,00	100,00
DÍA 14	26/05/22	4,62	7,03	92,49
DÍA 21	02/06/22	1,75	4,17	98,28
DÍA 28	09/06/22	2,63	5,48	96,79
DÍA 35	16/06/22	4,50	9,56	93,44

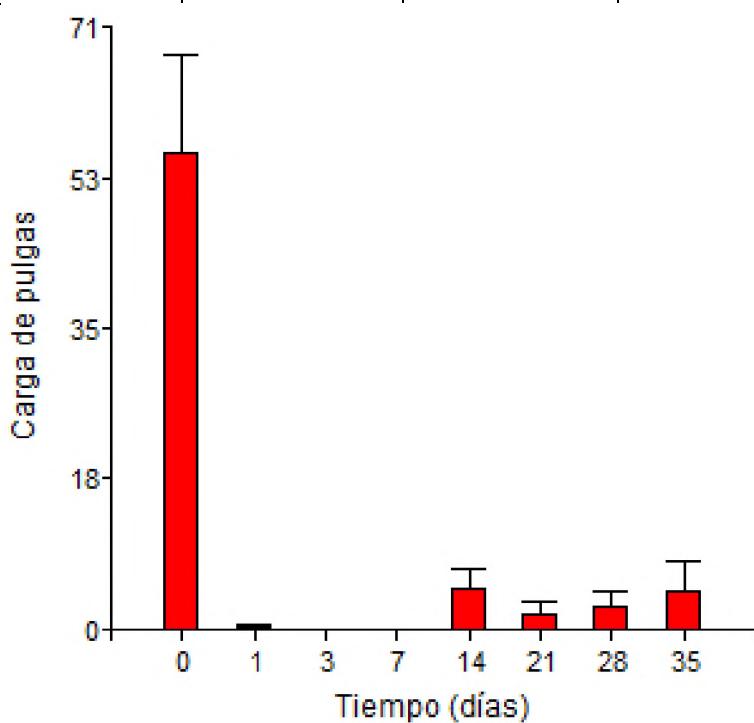


Gráfico N°1: Media aritmética y desvío estándar de la carga parasitaria de pulgas en cada tiempo maestral.

La eficacia del producto fue superior al 90 % a partir del día 1 y durante 35 días posteriores. Dichos resultados se observan en la Tabla N°7 y Gráfico N°2.

Tabla N°3: Eficacia del producto sobre la carga parasitaria de pulgas

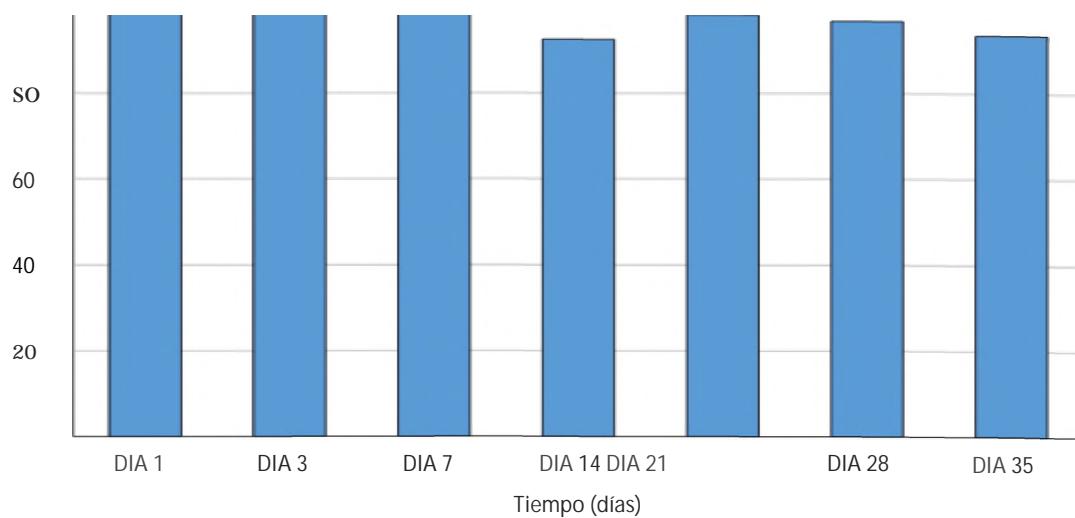


Gráfico N°2: Eficacia del producto sobre la carga parasitaria de pulgas.

DISCUSION

El presente trabajo se realizó sobre caninos bajo una infestación natural por pulgas. Se utilizó una dosis de 30 - 60 mg/kg. En contraste con otros autores como Wolken *et al.* (2012), quienes bajo una infestación artificial, utilizaron dosis más elevadas, de 45-70 mg/kg. Por otro lado, en este ensayo la eficacia obtenida a las 3 semanas fue de 98,28 %, en comparación con los autores previamente citados quienes lograron una eficacia ligeramente superior, siendo del 99% en el mismo tiempo de evaluación.

Otros autores, como Velásquez *et al.* (2012) evaluaron la eficacia del spinosad bajo una infestación natural por pulgas durante 71 días con una dosis de 30 mg/kg, obteniendo un rango de eficacia que osciló entre 84% y 89% durante las primeras 2 semanas post tratamiento, mientras que en el presente trabajo se obtuvo una eficacia de entre 92% al 100%

Por otro lado, en el trabajo de Blagbum, *et al.* (2010), se realizó una infestación artificial con pulgas con un número total de 600 y se administró spinosad luego se procedió al conteo de las mismas obteniendo una disminución del 53,7% a la media hora, del 64,2% a la hora, del 85,8% a las dos horas y del 100% entre las 4 y 8 horas post-tratamiento, mientras que en el ensayo realizado durante este trabajo final de graduación se logró la negativización de los pacientes a los 3 y 7 días post tratamiento.

CONCLUSIONES

En los individuos experimentales la administración de una formulación oral con Spinosad sobre la parasitosis de *Ctenocephalides canis* y *C.felis* en la especie canina se mantuvo por encima del 90% durante 35 días, siendo 100% eficaz hasta el día 7 post aplicación. Por otro lado, el producto se considera seguro para la especie en estudio, ya que no se registraron efectos adversos a la administración del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- Cruthers L., Professional Laboratory and Research Services, Inc., Corapeake. (2007). Evaluation of the Efficacy of Spinosad Administered Orally to Fed Versus Fasted Dogs for the Treatment and Control of Adult Cat Fleas (Ctenocephalides felis). Study T9C370103. F.D.A. Freedom of Information Summary. NADA 141-277 Page 4y Salud Pública. Vol. 1, Núm. 25, pp: 74-100
- Devine, Gregor J., Eza Dominique, Oguksu Elena, y Furlong Michael J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. Revista Peruana de Medicina Experimental
- Yano, B.L., D.M. Bond, M.N. Novilla, L.G. McFadden and M.J. Reasor,2002. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. Toxicol. Sci., 65: 288-98
- Bret, B. L., Larson, L. L., Schoonover, J. R., Sparks, T. C., and Thompson, G. D. 1997. Biological properties of Spinosad. Down to Earth 52, 6-13. Burges, H. D., and Jones, K. A.
- BPC VICH GL9, Cooperación Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos relativos al Registro de Medicamentos Veterinarios, 2000.
- Manual de Bienestar Animal de la OIE (Capítulos VII y VIII), 2018.
- Manual de la W.A.A.P.V. (World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 2006). 1998. Formulation of bacteri.
- B. L., D.M. Bond, M.N. Novilla, L.G. McFadden and M.J. Reasor,2002. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. Toxicol. Sci., 65: 288-98
- Velásquez, M. M. A. C., SA, A. M., Morí, R. A., Balarezo, L. A. C., Quintana, A. G. M., & Castillo, G. 2012. REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF) 1. Título.
- Wolken S, Franc M, Bouhsira E, Wiseman S, Hayes B, Schnitzler B, Jacobs DE. Evaluation of spinosad for the oral treatment and control of flea infestations on dogs in Europe. VetRec. 2012 Jan; 170(4):99. doi: 10.1136/vr.l00211. Epub 2011 Dec 2.

PMTD: 22141112. BPC VICH GL9, Cooperación Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos relativos al Registro de Medicamentos Veterinarios, 2000.