



*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 E INOCUIDAD DEL SPINOSAD COMO ANTIPARASITARIO PARA CANINOS CONTRA INFESTACIONES NATURALES POR PULGAS (*Ctenocephalides canis*)”

**TUTOR EXTERNO:** MV. Del Río Álvarez, Florencia

**TUTOR INTERNO:** Dra. Lozina, Laura

**RESIDENTE:** Sánchez Débora

**e-mail:** sanchezdebora748@gmail.com

**2022**

## ÍNDICE

|                            |           |
|----------------------------|-----------|
| Resumen .....              | Página 2  |
| Introducción .....         | Página 2  |
| Objetivos .....            | Página 3  |
| Materiales y Métodos ..... | Página 3  |
| Resultados .....           | Página 10 |
| Discusión.....             | Página 13 |
| Conclusión.....            | Página 14 |
| Bibliografía .....         | Página 15 |

## **Resumen**

Las pulgas constituyen los ectoparásitos hallados con mayor frecuencia en las mascotas debido a su gran adaptabilidad a las diferentes condiciones ambientales, representando un problema difícil de controlar. En este contexto, el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar eficacia e inocuidad de un comprimido contenido Spinosad, desarrollado por el Laboratorio OVER SRL. Para tal fin, caninos con una alta carga de pulgas fueron divididos dos grupos ( $n=6$  animales cada uno), correspondiente a un grupo control (GC) y otro tratado (GT), al que se le administró una única dosis por vía oral de Spinosad en comprimidos. Se realizó el seguimiento clínico de los mismos en busca de reacciones adversas, así como el recuento de ectoparásitos durante los 35 días que duró el ensayo. Mediante el presente estudio, se concluye que, el Spinosad en comprimidos del Laboratorio OVER presenta una eficacia superior al 90% frente a infestaciones naturales por *Ctenocephalides canis* y un periodo residual de hasta 28 días.

## **Introducción**

Las pulgas son ectoparásitos pequeños de 1 a 10 mm de longitud, del *Phylum Arthropoda*, clase *Insecta*, orden *Siphonaptera*, familias *Pulicidae* y *Tungidae*, con varios géneros y más de 2500 especies descritas en el mundo (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Muller y Durden, 2009; Gunn y Pitt, 2012; Zajac *et al.*, 2012). Las infestaciones causadas por estos ectoparásitos se asocian con pérdida de sangre, hipersensibilidad y transmisión de parásitos como *Hymenolepsis nana*, *Hymenolepsis diminuta* y *Dipylidium caninum* (Pulido-Villamarín *et al.*, 2016), y enfermedades bacterianas como borreliosis, bartonellosis, rickettsiosis y micoplasmosis (Orozco *et al.*, 2008; Krem y Aspöck, 2012; Zapata, 2012; Lawrence *et al.*, 2015). Su ciclo de vida consta de huevo, tres estadios larvales, pupa y adulto; es decir, realiza una metamorfosis completa que puede prolongarse durante tres semanas, siendo las especies que afectan a nuestras mascotas con mayor frecuencia *Ctenocephalides canis* y *C. felis*. (Orozco *et al.*, 2008; Muller y Durden, 2009; Gunn y Pitt, 2012),

Los huéspedes principales del *Ctenocephalides canis* son perros y zorros, pero también pueden infestar a gatos, conejos, ratas y diversos mamíferos silvestres, y con especial preferencia, al hombre. Las hembras colocan los huevos sobre el pelaje desde donde caen al

ambiente, o bien en grietas, en el piso, en las camas de los animales u otras superficies que los beneficien. Según la temperatura y humedad del ambiente al cabo de 4 a 12 días nacen las larvas que se alimentan de residuos orgánicos de distinto tipo, pero sobre todo de la materia fecal de las pulgas adultas que por lo común contienen mucha sangre no digerida. Posteriormente, el estadio larval se prolonga de acuerdo con las condiciones ambientales de 4 a 14 días, pero también puede durar varios meses. Con buenas condiciones de alimentación temperatura y humedad ambiente el lapso evolutivo más corto es de 11 días en *Ctenocephalides felis* y 18 en *Ctenocephalides canis* (Boch y Supperer, 1988).

Para combatir este parásito, el laboratorio OVER desarrolló un comprimido conteniendo spinosad en su formulación. Este es un insecticida de origen natural producido por la fermentación de una bacteria actinomiceto, la *Saccharopolyspora spinosa*. Esta neurotoxina, se encuentra compuesta por una mezcla de las spinosinas A y D (de ahí spinosAD), compuestos tetracíclicos de macrólidos que actúan sobre un grupo de receptores nicotínicos pos-sinápticos de la acetilcolina en algunos insectos (Williams *et al.*, 2003). Es así que, el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la eficacia e inocuidad del mismo, al ser administrado en caninos adultos.

### **Objetivo general:**

- Evaluar la eficacia terapéutica e inocuidad de un comprimido conteniendo Spinosad del Laboratorio Over SRL para el tratamiento de infestaciones por *Ctenocephalides canis*.

### **Objetivos particulares:**

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

### **Materiales y Métodos**

Animales: El presente ensayo, se realizó con 12 caninos (*Canis lupus familiaris*), adultos, de raza indefinida y ambos sexos, los cuales se encontraban parasitados naturalmente con *Ctenocephalides canis*. Los animales fueron divididos en dos grupos, identificados como

Grupo control (GC) (fig. 1) y Grupo tratado (GT) (fig. 2), cada uno con la misma cantidad de individuos ( $n=6$ ), según los requerimientos de la W.A.A.V.P. (World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 2006).

Proceso de Selección: La selección de los individuos se realizó mediante la búsqueda en refugios, así como mediante el contacto con propietarios interesados en la inclusión de sus mascotas al estudio (con consentimiento informado). Es así que se seleccionaron 12 caninos, naturalmente infectados, clínicamente sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y metabólicas, que comprometieran el desarrollo completo del estudio.

Se realizó la selección del grupo inicial en función de una evaluación clínica individual y la determinación de la carga parasitaria. Se incluyeron aquellos animales cuya intensidad de infestación fue entre moderada (6-20) y alta ( $\geq 20$ ) según la W.A.A.V.P. (2006).



**Figura 1.** Grupo control.



**Figura 2.** Grupo tratado.

Para la discriminación de los participantes se tomó 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.

Tampoco fueron incluidos animales que hayan recibido previamente el principio activo en evaluación o que hayan recibido tratamiento antiparasitario externo contra *Ctenocephalides canis*, dos meses previos al inicio de la prueba.

Se excluyeron, sin excepción, aquellos que por su estado fisiológico (gestación, amamantamiento, bajo peso o condición corporal, etc.) o patológico al momento del desarrollo de la prueba, pudieran comprometer el resultado de la misma o su propia condición.

Manejo de animales: Todos los animales experimentales fueron identificados con un número, único e irrepetible, asociado a su nombre propio colocado en un collar mediante marcador indeleble que se mantuvieron durante todo el estudio. Los datos de los animales fueron consignados en planillas individuales.

Los animales experimentales permanecieron en su lugar habitual, domicilio particular de su propietaria, en una habitación cerrada de 7 por 5 metros y un pequeño patio con carpeta, al que excedían por breves momentos al día, sin contacto con otros animales ajenos al estudio. El alimento fue el habitual y contaron con agua *ad libitum*. Cabe destacar que ambos grupos, GT y GC, permanecieron en el mismo ambiente.

Participaron del ensayo un equipo de investigadores, de los cuales, dos Médicos Veterinarios, ayudantes y un tesista realizaron las tareas de manejo de los animales y procedimientos.

#### Producto en investigación

Nombre comercial: OVERDOG

Forma farmacéutica: comprimidos

Dosis y administración:

La dosificación fue a razón de 30 mg/kg de spinosad, en una única toma.

Se administrará vía oral, una tableta de acuerdo al peso del animal, siguiendo las indicaciones del fabricante.

**Tabla 1:** Tabla de dosificación.

| Presentación | Rango de peso | Concentración de Spinosad |
|--------------|---------------|---------------------------|
| 1            | 2,5 - 5 kg    | 150 mg                    |
| 2            | 5,1 – 10 kg   | 300 mg                    |
| 3            | 10,1 – 20 kg  | 600 mg                    |
| 4            | 20,1 – 30 kg  | 900 mg                    |
| 5            | 30,1 – 40 kg  | 1.200 mg                  |

### Procedimiento

Dos días previos a la administración del producto, se realizó evaluación clínica de los animales. Se seleccionaron 12 individuos que tengan buen estado de salud y se determinó su parasitosis mediante el conteo directo con peines finos, recogiendo las pulgas en frascos estériles que volverían a dejarse sobre el animal al finalizar el recuento en cada uno, clasificándolos según grado de infestación en baja (1 a 5), moderada (de 6 a 20) o alta (más de 20). Los caninos fueron pesados y separados aleatoriamente, para conformar los grupos. (Tabla 2).

**Tabla 2.** Registro de pesos de caninos incluidos en GT y GC.

| PACIENTE         | Peso  | Producto    |
|------------------|-------|-------------|
| <b>TRATADOS</b>  |       |             |
| 1. Negra         | 18 kg | 10,1- 20 kg |
| 2. Pancho        | 10 kg | 10,1- 20 kg |
| 3. Negrita       | 15 kg | 10,1- 20 kg |
| 4. Ruth          | 14kg  | 10,1- 20 kg |
| 5. Milo          | 9 kg  | 5,1 – 10 kg |
| 6. Loli          | 6 kg  | 5,1 – 10 kg |
| <b>CONTROLES</b> |       |             |
| 1. Pretiño       | 19 kg | -           |
| 2. Luna          | 15 kg | -           |
| 3. Marmolada     | 12 kg | -           |
| 4. Negra Pampa   | 10 kg | -           |
| 5. Negro         | 18 kg | -           |
| 6. Tina          | 6 kg  | -           |

El día 0 fue tomado como día de administración del principio activo a los animales pertenecientes al grupo tratado (fig. 3). Una vez medicados, se realizó el Examen Objetivo General (fig. 4) de todos los animales cada 2hs por el lapso de 6hs, en buscó de signos tempranos de intolerancia/intoxicación.



**Figura 3.** Administración vía oral del comprimido.



**Figura 4.** Examen clínico general.

Durante los siguientes días y hasta el día +35 (tabla 3), se realizaron visitas periódicas para realizar el recuento de parásitos (fig.5) y se determinó poder de volteo y residual de la molécula, así se evalúo también posibles efectos adversos a la administración de la misma.

**Tabla 3.** Cronograma de actividades.

| DIAS DEL ESTUDIO | ACTIVIDADES  |
|------------------|--|
| -2               | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Examen físico general y pesada de los animales.</li> <li>2. Conformación de grupos experimentales e identificación individual.</li> </ol>  |
| 0                | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Documentación y registro de observaciones previos a la dosificación.</li> <li>2. Recuento de parásitos y administración del producto.</li> <li>3. Observación de los animales durante 2 hs.</li> <li>4. Evaluación Clínica y determinación de tolerancia.</li> </ol> |
| 1-2              | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Recuento de parásitos. Determinación del poder de volteo.</li> <li>2. Evaluación Clínica y determinación de tolerancia.</li> </ol>   |
| 7-12-17          | Recuento de parásitos  |
| 22-25-28-35      | Recuento de Parásitos. Determinación de  |

|      |   |
|------|---|
|      | poder residual.   |
| 1-35 | <p>1. Observación diaria de la salud y efectos adversos.</p> <p>2. Documentación y registro de observaciones.</p> |



**Figura 5.** Recuento de parásitos.

#### Análisis estadístico – Evaluación de eficacia

La eficacia se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia (\%)} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

Donde:

A: Media aritmética del N° de parásitos del GC.

B: Media aritmética del N° de parásitos del GT.

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 un ANOVA a dos vías. En caso de no cumplirse los supuestos del análisis se utilizará estadística no paramétrica de Wilcoxon.

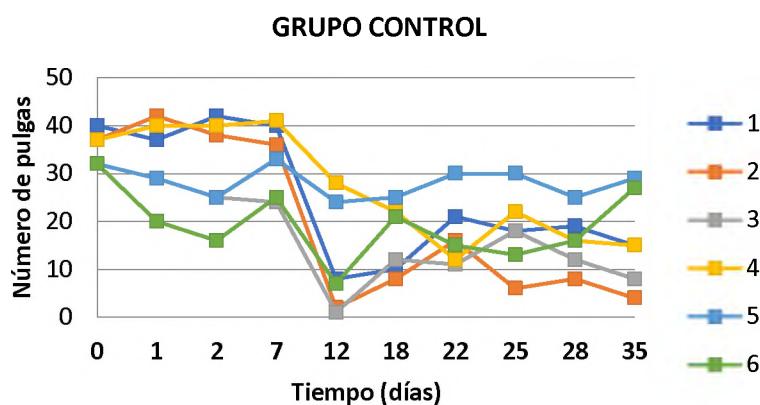
## Resultados

### Observaciones generales y examen clínico:

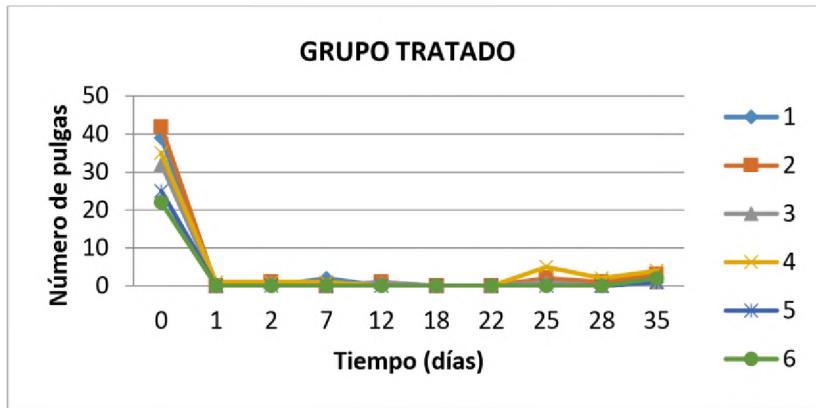
Las observaciones generales del estado de salud y exámenes clínicos realizados indicaron que los animales mostraron comportamiento, salud y aptitud coincidente con la especie, y establecidas para este estudio. Se determinó que todos los animales se encontraban normales en lo que respecta al examen objetivo general incluyendo: estado de nutrición, hidratación, sensorio, sistema digestivo, mucosas y sistema circulatorio. Esta apreciación se observó durante todo el ensayo y se describió según fichas clínicas anexas al presente informe (Anexo II). Respecto a la administración oral, se pudo observar la total deglución del comprimido y ausencia de efectos adversos, durante todo el ensayo.

### Eficacia:

A partir del análisis de los resultados obtenidos en la prueba de eficacia de Spinosad sobre pulgas, se determinó la reducción en el conteo de pulgas adultas en todos los tiempos evaluados. El análisis estadístico reveló diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,001$ ) entre los grupos control y tratado, hasta los 35 días. Estos resultados se observan en Gráficos 1 y 2.



**Gráfico 1.** Evolución de la carga parasitaria del grupo control durante el ensayo. Los números al margen izquierdo hacen referencia a los individuos evaluados.



**Gráfico 2.** Evolución de carga parasitaria en grupo tratado durante el ensayo. Los números al margen izquierdo hacen referencia a los individuos evaluados.

Respecto a la Eficacia del producto, se observó un porcentaje de Eficacia superior al 90% hasta el día +28 postratamiento, y una disminución de la misma al 88 % el día +35 (Tabla 4).

**Tabla 4: Prueba de Eficacia para el recuento del número de pulgas.**

| GRUPO TRATADO |              |              |
|---------------|--------------|--------------|
| Día           | Media ± D.E. | Eficacia (%) |
| 0             | 32,50 ± 7,82 |              |
| 1             | 0,17 ± 0,41  | 99,49        |
| 2             | 0,50 ± 0,55  | 98,39        |
| 7             | 0,50 ± 0,84  | 98,49        |
| 12            | 0,33 ± 0,52  | 97,14        |
| 18            | 0,00         | 100,00       |
| 22            | 0,00         | 100,00       |
| 25            | 1,33 ± 1,97  | 92,52        |
| 28            | 0,50 ± 0,84  | 96,88        |

|    |                 |       |
|----|-----------------|-------|
| 35 | $2,00 \pm 1,26$ | 87,76 |
|----|-----------------|-------|

## Discusión

En el presente trabajo se determinó una eficacia del 99,49% 24 h después de la administración del producto, observándose un alto poder de volteo durante las 2 primeras horas de observación. Blagburn *et al.* (2010) realizaron un estudio para determinar la velocidad de muerte en perros infestados experimentalmente, a fin de evaluar la eficacia de spinosad contra pulgas adultas. Los perros tratados con spinosad tenían significativamente menos pulgas vivas 1 hora después del tratamiento (64,2% de eficacia), a las 2 h postratamiento (85,8% de eficacia) y todos los recuentos posteriores (4, 8, 24 y 48 h después del tratamiento), ( $p < 0,05$ ) momento en el cual spinosad fue 100% eficaz. A diferencia de lo observado en nuestro estudio donde no se encontró ninguna reacción clínica adversa a la administración del antiparasitario spinosad, en el ensayo realizado por Blagburn, se registraron tres eventos adversos leves durante el estudio (vómitos de alimentos no digeridos).

Otros estudios realizados por Wolken *et al.* (2011) en Europa evaluaron la eficacia de Spinosad en comprimidos sobre caninos infestados artificialmente y con un rango de dosis entre 45 a 70 mg/kg. Se pudo evidenciar actividad persistente contra *Ctenocephalides felis* superior al 99 % a las tres semanas postratamiento, y, con valores de 96,5 a 97,8 % a las cuatro semanas. A diferencia del presente estudio que, usando una dosis media de 30 mg/kg obtuvo una eficacia de 100% entre los días 18 y 22 post aplicación sobre infestaciones naturales de *Ctenocephalides sp.*

Los mismos autores realizaron un estudio comparativo entre Spinosad y Selamectina, donde se administraron dosis mensuales en caninos naturalmente infestados con pulgas, durante los meses de verano. Los hogares con perros tratados con Spinosad mostraron beneficios acumulativos con la carga de las pulgas en el cual, se redujo en aproximadamente un 97 % a los 14 y 30 días y en un 99,6 % a los 60 y 90 días. Las cifras correspondientes para la Selamectina fueron significativamente más bajas ( $P < 0,05$ ): entre el 88,5 y el 91 % a los 14 y 30 días, luego el 97,8 y el 98,2 % a los 60 y 90 días. Por tanto,

la eficacia del Spinosad se comparó favorablemente con el del producto de referencia establecido (Wolken *et al.*, 2011).

En comparación con otras drogas de administración oral, un estudio realizado por McTier *et al.* (2017), demostró que la droga Sarolaner al día 43 seguía manteniendo la eficacia en un 100% en contraste con nuestro estudio realizado que había descendido en el día 25.

Asimismo, un estudio realizado por Kilp *et al.* (2014) sobre caninos artificialmente intestados *C. felis* demostró que luego de una dosis única de Fluralaner a las 2 y a las 4 horas tras el tratamiento, la reducción de pulgas fue significativa con un 36,7 % y un 88 % de eficacia, respectivamente. En los estudios de la velocidad a la que el fluralaner mata a las pulgas, la eficacia contra las mismas tras el tratamiento con fluralaner fue del 80,5 % a las 4 horas y siguió ≥ 99,4 % a las 8, 12 y 24 horas. Tras las reinfecciones de pulgas en las semanas 4, 8 y 12, la eficacia a las 4 horas fue del 96,8, del 91,4 y del 33,5 % respectivamente. La eficacia a las 8, a las 12 y a las 24 horas tras las reinfecciones con pulgas fue de entre el 98,0 y el 100 % para las 12 semanas del estudio. Excepto durante 4 horas tras la reinfección con pulgas en la semana 12, la reducción de pulgas fue significativa para todos los puntos temporales de evaluación tras la reinfección con pulgas. Evidenciando que una única administración oral de fluralaner elimina rápidamente las infestaciones de pulgas existentes y proporciona una excelente protección frente las pulgas durante las 12 semanas posteriores al tratamiento. La duración del presente estudio fue de 35 días, donde se registró una eficacia de 87%.

### **Conclusiones:**

Los caninos incluidos en el presente ensayo no presentaron reacciones clínicas adversas a la administración durante el periodo de prueba de la formulación antiparasitaria, por lo que se confirma su inocuidad.

La eficacia de la presentación *Spinosad comprimidos*, sobre una alta parasitosis y un mantenimiento de la infestación de *Ctenocephalides spp* en la especie canina se mantuvo por encima del 90% durante 28 días.

## Bibliografía:

- Blagburn, B. L., Young, D. R., Moran, C., Meyer, J. A., Leigh-Heffron, A., Paarlberg, T., ... & Snyder, D. E. (2010). Effects of orally administered spinosad (Comfortis®) in dogs on adult and immature stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Veterinary parasitology*, 168(3-4), 312-317.
- Boch, J.; Supperer, R. (1988). Cap. 5 Parasitosis de los carnívoros, Parasitología en medicina (pp.477-480). Buenos Aires, Argentina. Editorial Hemisferio Sur S.A.
- BPC VICH GL9, Cooperación Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos
- Del Campillo, M. C., Rojo Vázquez, F. A., Martínez Fernández, A. R., Sanchez Acedo, M. C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., ... & Carvalho Varela, M. (1999). Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana de España, SAU.
- Gunn, A., & Pitt, S. J. (2012). Parasitology: an integrated approach. John Wiley & Sons.
- Krenn HW, Aspöck H. 2012. Form, function and evolution of the mouthparts of blood-feeding Arthropoda. *Arthropod Struct Dev* 41: 101-118. Doi: 10.1016/j.asd.2011.12.001.
- Kilp, S., Ramírez, D., Allan, MJ, Roepke, RK y Nuernberger, MC (2014). Farmacocinética de fluralaner en perros tras una única administración oral o intravenosa. *Parásitos y vectores* , 7 (1), 1-5.
- Lawrence AL, Hii SF, Jirsová D, Panáková L, Ionica AM, Gilchrist K, Modrý D, et al. 2015. Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas (*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. *Vet Parasitol* 210: 215-223. Doi: 10.1016/j.vetpar.2015.03.029
- 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).
- McTier, T. L., Six, R. H., Fourie, J. J., Pullins, A., Hedges, L., Mahabir, S. P., & Myers, M. R. (2016). Determination of the effective dose of a novel oral formulation of sarolaner

(Simparica<sup>TM</sup>) for the treatment and month-long control of fleas and ticks on dogs. *Veterinary parasitology*, 222, 12-17.

-Mullen G, Durden L. 2009. Medical and veterinary entomology. 2nd ed. USA: Academic Press. 627 p.

-Orozco JA, Sánchez MS, Jaramillo M, Hoyos LM. 2008. Frecuencia de Ctenocephalides canis y Ctenocephalides felis obtenidas de caninos infestados naturalmente en el valle de Aburrá. *Rev CES Med Vet Zootec* 3(2): 73-77.

-Pulido-Villamarín, A. D. P., Castañeda-Salazar, R., Ibarra-Ávila, H., Gómez-Méndez, L. D., & Barbosa-Buitrago, A. M. (2016). Microscopia y principales características morfológicas de algunos ectoparásitos de interés veterinario. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(1), 91-113.

-Relativos al Registro de Medicamentos Veterinarios, 2000.

-Williams, T., Valle, J. & Viñuela, E. (2003) Is the naturally-derived insecticide Spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science & Technology* 13, 459-475.

-Wolken, S., Franc, M., Bouhsira, E., Wiseman, S., Hayes, B., Schnitzler, B., & Jacobs, D. E. (2012). Evaluation of spinosad for the oral treatment and control of flea infestations on dogs in Europe. *Veterinary Record*, 170(4), 99-99.

-Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). Detection of parasites in the blood. *Veterinary clinical parasitology*, 185, 211.

-Zapata R. 2012. Artrópodos como ectoparásitos y vectores de microorganismos relacionados con el proceso de infección – salud – enfermedad en animales de producción, animales de compañía y humanos. *Hechos Microbiológicos* 3(1): 63-