

REPORTE FINAL DE ESTUDIO DE EFECTIVIDAD

1. Título

Eficacia de la Selamectina (Xelamec® Spot on) para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

2. Número de Ensayo

03-2017

3. Investigador Principal

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

4. Investigadores Colaboradores

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

Ana María Gomez Aquino, Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

5. Sponsor

Agroveter Market S.A.

5.1. Equipo de Trabajo

MV. Luis Alfredo Chávez Balarezo – Supervisor de Investigación en Sanidad Animal

MV. Jose Tang Ploog – Sub gerente de Investigación en Sanidad Animal

6. Lugar de Estudio

Albergue Canino “Can Martin”, ubicado en el distrito de Cieneguilla, Lima.

7. Objetivo General

Determinar la eficacia de Xelamec 6%® Spot on en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

8. Antecedentes y Justificación

Las pulgas constituyen uno de los ectoparásitos más abundante en perros y gatos y están presentes en muchas áreas del mundo, siendo la especie más frecuentemente hallada *Ctenocephalides felis* (Stanneck et al. 2012). Más allá de causar malestar en las mascotas y propietarios, las pulgas están asociadas con diversas enfermedades, incluyendo infecciones por taenias y la dermatitis alérgica por pulgas (Rust 2005; Ross et al. 2012), siendo inclusive vectores de diversos agentes con implicancia zoonótica (Marx 1991; Dryden and Rust 1994; Schriefer et al. 1994; Jameson et al. 1995).

Durante los últimos 10 años, las aplicaciones de insecticidas orales y topicales tales como el fipronil, imidacloprid, lufenuron y la más reciente, selamectina, han revolucionado el control de la pulga del gato (Rust 2005). Cabe mencionar, que

las pulgas adultas viven la mayor parte de su vida en los hospederos, sin embargo los estadios inmaduros (huevo, larvas y pupas) que corresponden al 95% de la población, completan su desarrollo en el medio ambiente fuera del hospedador. Así, para erradicar efectivamente la infestación por pulgas, el control debe enfocarse tanto en la población adulta como en los estadios inmaduros (Ross et al. 2012). El primer objetivo del tratamiento es aliviar al animal infestado por pulgas, y el segundo debería ser prevenir la reproducción de las mismas (Rust and Dryden 1997).

La selamectina, una lactona macrocíclica, que actúa sobre los canales de cloro y la puerta glutamato- cloro de los artrópodos causando su muerte por parálisis (Rust 2005), posee una eficacia comprobada en el control de las pulgas adultas, así como de sus estadios inmaduros. Además de poseer un buen margen de seguridad en perros y gatos (Bishop et al. 2000).

La selamectina elimina más del 90% de las pulgas entre las 36 y 48 horas post aplicación topical en perros, y dentro de 24 horas en gatos, a una dosis de 6mg por kg de p.v. (McTier, Jernigan, et al. 2000; McTier, Shanks, et al. 2000; Dryden et al. 2013). A su vez, provee una eficacia cerca del 100% por al menos 21 días (McTier, Jones, et al. 2000) y mayor al 90% hasta los 30 días post-tratamiento (Dryden et al. 2013).

Su actividad sobre los estados inmaduros de la pulga ha sido comprobada. Los niveles de producción de huevos disminuyen en un 98% en las hembras expuestas, y un 92% de los huevos fallan en eclosionar. El debris contaminado con selamectina tiene acción letal sobre huevos y larvas (McTier, Shanks, et al. 2000). Las larvas mueren probablemente por ingestión y contacto (McTier et al. 2003).

Es interesante mencionar que el baño de los animales con champú sin contenido de insecticidas, no afecta la eficacia del tratamiento topical con selamectina (McTier, Jones, et al. 2000).

El presente documento, propone evaluar la eficacia y residualidad de su nueva fórmula comercial **Xelamec® Spot on** en el control de las pulgas en caninos bajo condiciones de infestación natural.

9. Fecha de Estudio y duración

El estudio se inició en Setiembre del 2016 y se culminó en Marzo del 2017. Tuvo una duración de 7 meses.

10. Materiales y Métodos

10.1. Diseño experimental

El presente estudio propone un diseño aleatorio por bloques, donde un canino representará una unidad experimental. Se establecieron dos grupos experimentales de 36 animales cada uno, el Grupo Tratamiento (Grupo A) recibió una solución a base de Selamectina al 6% ("Xelamec 6%® spot on") a una dosis de 6 mg/kg, el Grupo Control Positivo (Grupo B) recibió Fipronil a una dosis de 6,7 mg/kg de peso vivo (p.v.), vía topical, y el Grupo Control



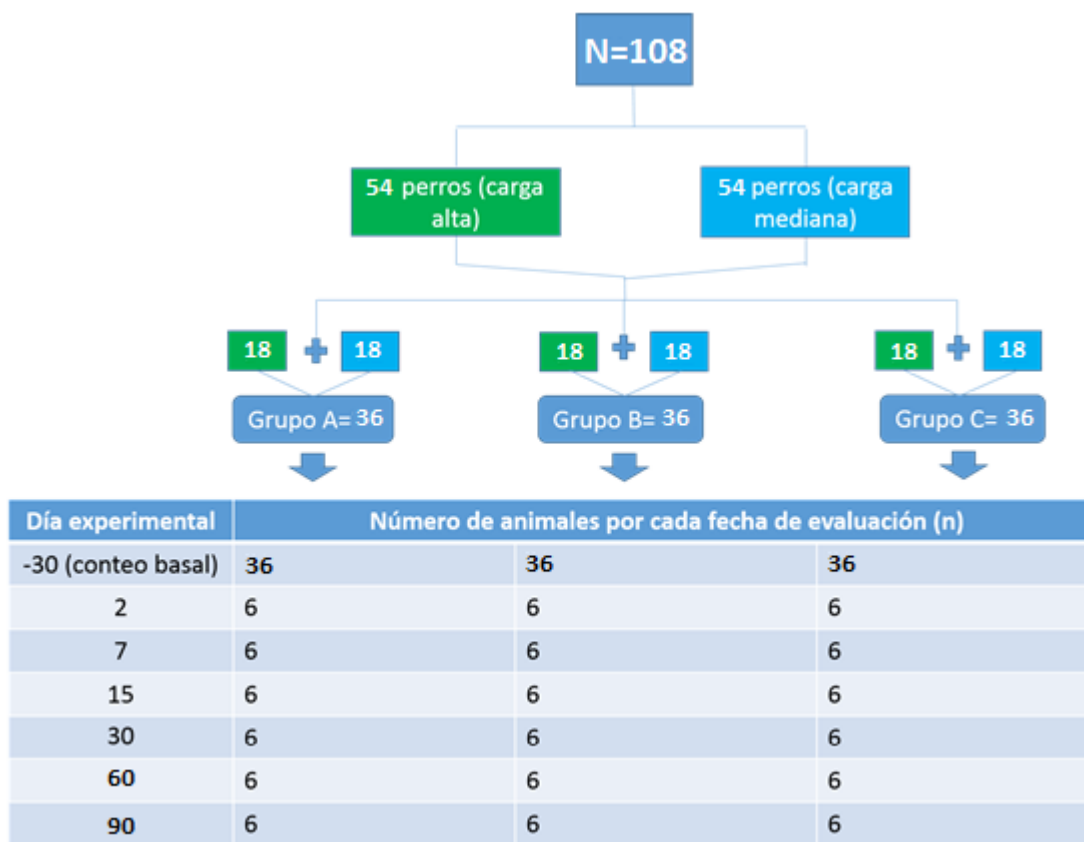
Negativo (Grupo C) recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal. El día de tratamiento se estableció como día experimental "0".

Se empleó un método de randomización estratificada restrictiva empleando una tabla de números aleatorios. Se realizó un recuento de pulgas al día experimental "- 30" mediante la técnica del peine fino descrita por (Dryden, Boyer, and Smith 1994), en base al cual los animales fueron divididos en dos estratos según su carga parasitaria, considerando como punto de división el promedio geométrico obtenido. Así, se tuvieron: el estrato de perros con carga alta de pulgas y el estrato de perros con carga mediana de pulgas. El período de conteo de 30 días antes de iniciar el tratamiento fue determinado por estudios previos como el tiempo adecuado para permitir la re-infestación de los animales después de la extracción de pulgas durante el conteo (datos no publicados).

Los 36 animales de cada estrato, fueron aleatoriamente distribuidos en los tres grupos experimentales (18 animales de cada estrato por grupo experimental). De esta manera cada grupo constó de 36 animales (18 perros con carga alta de pulgas y 18 perros con carga mediana de pulgas).

A su vez, los 36 animales de cada grupo experimental (2 estratos de 18 animales) fueron distribuidos aleatoriamente en 6 bloques, de 6 animales c/u (3 animales de cada estrato), para su evaluación en 6 diferentes fechas de muestreo. De esta manera el proceso de extracción y conteo de pulgas no interfirió con la eficacia real de cada tratamiento, dado que los animales fueron sometidos a un conteo con extracción total de pulgas y sólo estuvieron expuestos a infestación natural. Además, en cada canil se mantuvieron en promedio 5 animales sin tratamiento para que sirvieran como fuente de re-infestación.

Para un mejor entendimiento del diseño experimental se presenta el siguiente esquema:



El estudio fue enmascarado para el personal encargado del cuidado y alimentación de los animales, así como para los veterinarios encargados de realizar el conteo de pulgas.

La evaluación de la eficacia se realizó a los 2, 7, 15, 30, 60 y 90 días post tratamiento, en base al número de pulgas total de cada animal.

Luego de la aplicación del tratamiento, los animales fueron evaluados clínicamente dentro de los 15 y 30 minutos posteriores al tratamiento para determinar la posible presencia de efectos adversos.

10.2. Selección e identificación de animales

Se seleccionaron 108 caninos mayores de 6 meses, de ambos sexos, de cualquier raza, de pelo corto a mediano, de buena condición clínica, provenientes del albergue canino antes mencionado.

Los animales fueron identificados mediante su nombre, asignándoles un número de identificación. Para lograr el reconocimiento durante el seguimiento se les colocó una cinta con su nombre y número de identificación, y se obtuvo un registro fotográfico de cada uno. La información de todos los animales tales como nombre, número de identificación, sexo, peso, edad, raza, fue registrada en la ficha de identificación incluida en el formato de ensayo clínico respectivo.

10.3. Criterios de Inclusión, Exclusión y Post-Exclusión

Se incluyeron animales con una infestación mayor a 5 pulgas por animal, según lo recomendado en estudios bajo infestaciones naturales (Marchiondo et al. 2013). Se excluyeron hembras lactantes, gestantes, animales que estuvieran recibiendo tratamientos que puedan interactuar con el PFVI y animales que hayan recibido tratamiento antipulgas durante los 60 días antes del inicio del tratamiento.

Si algún animal pudiera tener una reacción adversa, o sufrir alguna condición morbosa que requiera tratamiento y aislamiento, durante el curso del estudio, será excluido del estudio.

10.4. Manejo de los animales experimentales

Los caniles fueron contruidos de madera y el piso es de tierra. Los animales contaron con dormideros en base a madera y colchones. La zona de estudio presentó las condiciones epidemiológicas requeridas para permitir la re-infestación de los animales tratados. La dieta de los animales fue a base de comida balanceada. Recibieron agua ad libitum.

Los animales no fueron bañados ni peinados durante la duración del estudio. Los animales no tuvieron contacto con los animales de otros caniles durante todo el periodo de estudio. No se emplearon otros productos con propiedades insecticidas durante el desarrollo del estudio.

10.5. Producto Farmacéutico Veterinario en Investigación (PFVI), producto control

El PFVI es una solución conteniendo selamectina al 6% (Xelamec 6%® Spot on). Presentación para ser administrada vía topical.

Los productos controles fueron dos:

- Control Positivo: una fórmula comercial conteniendo Fipronil al 10%. Presentación para ser administrada vía topical.
- Control Negativo: placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal, a ser aplicado vía topical.

Los productos fueron almacenados de acuerdo a las recomendaciones del laboratorio o al certificado de análisis del producto, según aplique.

10.6. Tratamiento

El Grupo A recibió Selamectina "Xelamec 6%® spot on" a una dosis de 6mg/kg de peso vivo (p.v.), vía topical.

El Grupo B recibió Fipronil a una dosis de 6,7 mg/kg de peso vivo (p.v.), vía topical.

El Grupo C recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal.

El día de tratamiento se estableció como día experimental "0". Para el cálculo de la dosis total a ser administrada, los animales fueron pesados con una balanza electrónica. El tratamiento se aplicó en un único punto, en diferentes puntos, o en una línea en el lomo, tomando como referencia la base del cuello, entre la unión de los dos hombros, según las recomendaciones del producto.



10.7. Disposición final de animales y del PFVI

Posterior al periodo de estudio los animales continuaron viviendo en el albergue bajo el manejo habitual que vienen recibiendo.

El PFVI y productos controles que no fueron utilizados fueron llevados al laboratorio para su adecuada eliminación.

10.8. Evaluación de Efectividad / Eficacia

Para determinar la carga de pulgas se utilizó la técnica del peine fino descrita por Dryden et al, 1994. Para el desarrollo de la técnica de extracción de pulgas, se formaron grupos de trabajo con dos personas capacitadas en la técnica. Cada grupo experimental fue evaluado por los mismos grupos 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 posteriormente fueron peinados durante 10 minutos. Si un número menor a 5 pulgas vivas fueron recuperadas durante los 10 primeros minutos, el peinado se dió por finalizado. Si se encontraron más de 5 pulgas vivas en los 10 primeros minutos de peinado, el animal fue 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 ser llevado al laboratorio en el cual se realizó el conteo respectivo. A su vez, se realizó la identificación de las especies de pulgas.

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

$$Eficacia (\%) = \frac{(x_{d=-30}) - (x_{d=2,7,15,30,60,90})}{x_{d=-30}} \times 100$$

Donde:

x= promedio geométrico de pulgas

d= día post tratamiento

Se identificó a los animales que presenten dermatitis alérgica por pulgas, a los cuales se les realizó una observación clínica diaria, para evaluar si el tratamiento mejora la condición. Así mismo, en cada período de evaluación se determinó la presencia y gravedad de: prurito, eritema, descamación, pápulas y alopecia.

10.9. Métodos estadísticos

Se esperó que el tratamiento con Xelamec 6%® spot on obtenga una eficacia mayor que el grupo control negativo en un 90%. En base a esta hipótesis, se calculó el tamaño muestral empleando la fórmula de diferencia de proporciones, obteniéndose 5 animales como mínimo por cada bloque de cada grupo experimental, bajo un 95% de nivel de confianza y 80% de poder.

Se utilizó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y de dispersión para presentar los datos obtenidos. Para comprobar la distribución



normal de los datos se utilizó el test de Shapiro-Wilk. Si los datos presentaron una distribución con cola a la izquierda, se procedió a realizar la transformación logarítmica de los datos con el fin de que se aproximen a la distribución normal (Petrie and Watson 2013). Se calculó el promedio geométrico y su respectivo intervalo de confianza, definido por el promedio de los valores logarítmicos ± 1.96 veces su desviación estándar (95% confianza), según lo descrito (Petrie and Watson, 2013). Así mismo, se realizó el análisis de varianza para determinar la existencia de diferencia estadística entre los grupos experimentales, y el test de Bonferroni para determinar los grupos que presentan tal diferencia. A su vez, se realizó un test de Student pareado para determinar la diferencia estadística entre la medida basal de cada observación con el conteo respectivo post-tratamiento. Para el desarrollo del análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Stata® v. 11.1.

10.10. Manejo de Datos Crudos

Para el registro de las variables se empleará la ficha de ensayo clínico (identificación y monitoreo) así como fichas de monitoreo diario. Las fichas, los resultados de laboratorio y las bases de datos serán almacenados en físico y en virtual en el área de Sanidad Animal de Agroveter Market S.A.

11. Evaluación de Efectos adversos (EA)

Luego de la aplicación del tratamiento, los animales serán evaluados clínicamente dentro de los 15 y 30 minutos posteriores al tratamiento para determinar la posible presencia de efectos adversos. A su vez, los animales serán monitoreados diariamente para la observación de posibles reacciones adversas, tanto reacciones locales en el área de aplicación del producto, como reacciones sistémicas. De existir alguna reacción adversa al producto, el animal afectado será excluido del estudio y los EA serán reportados en el informe final de estudio.

12. Resultados

En el cuadro N°1 se muestran los resultados obtenidos en el presente trabajo. El grupo C (placebo) fue retirado del estudio, debido a la excesiva cantidad de ectoparásitos que presentaron al día 1, y por motivos humanitarios, todos fueron tratados.

Cuadro N°1. Efectividad del Xelamec 6% y Fipronil al 10% en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados en Cieneguilla, 2017

GRUPO		DÍAS POST-TRATAMIENTO						
		-30	2	7	15	30	60	90
A (XELAMEC 6%)	PG	33.92 ^a	0 ^a	0 ^a	7.29 ^a	0 ^a	0 ^a	23.4 ^a
	Eficacia	-	100.00%	100.00%	78.51%	100.00%	100.00%	31.01%
B (FIPRONIL 10%)	PG	36.65 ^a	7.22 ^a	0 ^a	20.44 ^a	10.5 ^b	16.48 ^b	85.86 ^b
	Eficacia	-	80.30%	100.00%	44.23%	71.35%	55.03%	-134.27%
C (PLACEBO)	PG	33.94 ^a	-	-	-	-	-	-
	Eficacia	-	-	-	-	-	-	-

Se evidencia la efectividad del 100% desde el día 2 hasta el día 60 post-tratamiento del grupo A (Xelamec 6%), excepto en el día 15. Se observa una diferencia estadística entre los tratamientos a partir del día 30 hasta el día 90.

13. Conclusiones

- El tratamiento con Selamectina al 6% (Xelamec 6%® spot on) presentó una eficacia de 100% a partir de los 2 días post-tratamiento, para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.
- La disminución de la efectividad al día 15 puede ser producto de un factor ajeno al estudio que no se haya tomado en cuenta.
- El periodo residual de la Selamectina al 6% (Xelamec 6%® spot on) en el control de pulgas en caninos es de 60 días, con una eficacia del 100%.
- El empleo de la Selamectina al 6% (Xelamec 6%® spot on) para el control de pulgas en caninos es más eficaz que el uso individual de Fipronil.

14. Autores del RF

Luis Alfredo Chávez Balarezo

M.V. Supervisor de Investigación en Sanidad Animal
Agroveter Market S.A.

15. Referencias Bibliográficas

- Bishop BF, Bruce CI, Evans NA, Goudie AC, Gratton KA, Gibson SP, Pacey MS, Perry DA, Walshe ND, Witty MJ. 2000. Selamectin: a novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 91:163–176.
- Dryden MW, Boyer JE, Smith V. 1994. Techniques for estimating on-animal populations of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.* 31:631–634.
- Dryden MW, Payne PA, Smith V, Berg TC, Lane M. 2013. Efficacy of selamectin, spinosad, and spinosad/milbemycin oxime against the KS1 *Ctenocephalides felis* flea strain infesting dogs. *Parasit. Vectors* 6:80.
- Dryden MW, Rust MK. 1994. The cat flea: biology, ecology and control. *Vet. Parasitol.* 52:1–19.
- Gordis L. 2004. *Epidemiology*. Edición: 3. Philadelphia, Pa: Saunders.
- Jameson P, Greene C, Regnery R, Dryden M, Marks A, Brown J, Cooper J, Glaus B, Greene R. 1995. Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. *J. Infect. Dis.* 172:1145–1149.
- Marchiondo AA, Holdsworth PA, Fourie LJ, Rugg D, Hellmann K, Snyder DE, Dryden MW, World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 2013. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition: guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 194:84–97.
- Marx MB. 1991. Parasites, pets, and people. *Prim. Care* 18:153–165.



- McTier TL, Evans NA, Martin-Short M, Gration K. 2003. Comparison of the activity of selamectin, fipronil, and imidacloprid against flea larvae (*Ctenocephalides felis felis*) in vitro. *Vet. Parasitol.* 116:45–50.
- McTier TL, Jernigan AD, Rowan TG, Holbert MS, Smothers CD, Bishop BF, Evans NA, Gration KA, Giles CJ. 2000. Dose selection of selamectin for efficacy against adult fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 91:177–185.
- McTier TL, Jones RL, Holbert MS, Murphy MG, Watson P, Sun F, Smith DG, Rowan TG, Jernigan AD. 2000. Efficacy of selamectin against adult flea infestations (*Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*) on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 91:187–199.
- McTier TL, Shanks DJ, Jernigan AD, Rowan TG, Jones RL, Murphy MG, Wang C, Smith DG, Holbert MS, Blagburn BL. 2000. Evaluation of the effects of selamectin against adult and immature stages of fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 91:201–212.
- Petrie A, Watson P. 2013. *Statistics for Veterinary and Animal Science*. Wiley.
- Ross DH, Arther RG, von Simson C, Doyle V, Dryden MW. 2012. Evaluation of the efficacy of topically administered imidacloprid + pyriproxyfen and orally administered spinosad against cat fleas (*Ctenocephalides felis*): Impact of treated dogs on flea life stages in a simulated home environment. *Parasit. Vectors* 5:192.
- Rust MK. 2005. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. *Trends Parasitol.* 21:232–236.
- Rust MK, Dryden MW. 1997. The biology, ecology, and management of the cat flea. *Annu. Rev. Entomol.* 42:451–473.
- Schriefer ME, Sacci JB Jr, Taylor JP, Higgins JA, Azad AF. 1994. Murine typhus: updated roles of multiple urban components and a second typhuslike rickettsia. *J. Med. Entomol.* 31:681–685.
- Stanneck D, Rass J, Radeloff I, Kruedewagen E, Le Sueur C, Hellmann K, Krieger K. 2012. Evaluation of the long-term efficacy and safety of an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% polymer matrix collar (Seresto®) in dogs and cats naturally infested with fleas and/or ticks in multicentre clinical field studies in Europe. *Parasit. Vectors* 5:66.