

Evaluación de la efectividad, tolerancia y residualidad de dos formulaciones orales a base de fluralaner^{1,2} para el tratamiento y control de garrapatas en caninos naturalmente infestados

Luis Alfredo Chávez Balarezo*, Valeria Patricia Liao Grimaldi**

*Jefe de Sanidad Animal en Agrovet Market S.A. **Asistente de Sanidad Animal en Agrovet Market S.A.

Código de Reporte Final 008-21

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la efectividad de una tableta masticable a base de fluralaner para tratamiento y control de garrapatas en caninos naturalmente infestados. Para ello se trabajó con un grupo de 30, y dos grupos de 8 caninos naturalmente infestados por garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*). Al grupo 1 (FLA) se le administró una nueva formulación de fluralaner a razón de 25-56 mg/Kg¹ por vía oral, al grupo 2 (FLB) se administró una formulación comercial a base de fluralaner a razón de 25-56 mg/Kg² por vía oral y al grupo 3 (PLA) se le administró una tableta sin principio activo por animal. Se realizaron conteos de garrapatas 7 días antes de la aplicación del producto, así como conteos control a las 8 horas, 1, 2, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84 y 98 días post tratamiento. FLA logró una efectividad superior al 88% desde las 8 horas post aplicación; 100% en reducción de garrapatas al día 7, manteniendo esta efectividad hasta el día 42; desde el día 42 en adelante la efectividad se mantuvo por encima del 97% hasta el día 98. En ningún caso se evidenció diferencias estadísticas significativas en el tratamiento con FLA y FLB. Se puede concluir que la aplicación de fluralaner a razón de 25-56 mg/Kg es altamente efectiva y segura para el control de infestaciones en garrapatas en caninos.

Palabras clave: Fluralaner, garrapatas, *Rhipicephalus sanguineus*, caninos

Abstract

The present study aimed to determine the effectiveness of a fluralaner-based chewable tablet for the treatment and control of ticks in naturally infested canines. A group of 30, and two groups of 8 dogs naturally infested by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) were selected. Group 1 (FLA) was administered a new formulation of fluralaner at a rate of 25-56 mg/Kg¹ orally, group 2 (FLB) received a commercial formulation based on fluralaner at a rate of 25-56 mg/Kg² orally and group 3 (PLA) was administered one tablet without active ingredient per animal. Tick counts were performed 7 days before the application of the product, as well as control counts at 8 hours, 1, 2, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84 and 98 days post treatment. FLA achieved an effectiveness greater than 88% from 8 hours after application; 100% reduction of ticks on day 7, maintaining this effectiveness until day 42; from day 42 onwards, the effectiveness remained above 97% until day 98. No statistically significant differences were observed between the treatment with FLA and FLB. In conclusion, the application of fluralaner at a rate of 25-56 mg/Kg is highly effective and safe for the control of tick infestations in dogs.

Keywords: Fluralaner, ticks, *Rhipicephalus sanguineus*, dogs

1. Introducción

Fluralaner es un ectoparasitario sistémico, perteneciente a la clase de las isoxazolininas, utilizado para el control de pulgas y garrapatas en

perros (Walther et al. 2014). Tiene actividad inhibitoria en el sistema nervioso de los artrópodos; siendo un potente inhibidor de los canales de cloruro regulados por ácido γ -

¹ Atrevia® XR es una formulación oral a base de 50 mg de fluralaner por cada gramo de tableta, de aplicación trimestral. Atrevia® es una marca Registrada de Agrovet Market S.A. en Perú.

² Bravecto® es una formulación a base de fluralaner de aplicación trimestral. Bravecto® es una marca registrada de Intervet International B.V. en Perú.

aminobutírico (GABA) y L-glutamato (Gassel et al., 2014; Rohdich et al., 2014).

La administración oral de fluralaner a través de tabletas masticables brinda una eficacia en el control de infestaciones de pulgas y garrapatas hasta por 12 semanas en perros (Kilp et al., 2014; Walther, Paul, et al., 2014). Es eficaz contra una gran variedad de especies de garrapatas: *Ixodes ricinus*, *Ixodes scapularis*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor variabilis* y *Rhipicephalus sanguineus* (Wengenmayer et al., 2014). También se ha observado efectividad contra otros ectoparásitos como *Triatoma infestans*, vector que transmite la enfermedad de chagas (Laiño et al., 2019).

Fluralaner logra una reducción de garrapatas de 89.6% a las 4 horas iniciado el tratamiento y un efecto casi completo a las 12 horas, logrando mantenerse hasta las 12 semanas (Wengenmayer et al., 2014). En un estudio in vitro, demostraron que tiene gran actividad garrapaticida en todas las etapas de vida de la *Rhipicephalus sanguineus* y ninfas de *Ornithodoros moubata* (Williams et al., 2015).

La dosis clínica por vía oral administrada en tabletas masticables a perros es de 25-56 mg/kg de peso vivo (Laiño et al., 2019; Rohdich et al., 2014; Walther, Allan, et al., 2014; Williams et al., 2014). Fluralaner se absorbe fácilmente después de la administración oral a dosis única, teniendo un periodo residual muy amplio. En un estudio, administraron dosis de 12.5, 25 y 50 mg/kg de p.v. a dosis única, resultando que la concentración máxima (C_{máx}) en plasma se observó al día 1 de haber sido tratados, y progresivamente fueron declinando, siendo aún cuantificable (>10 ng/mL) en el día 84 de tratamiento, demostrando una larga persistencia sistémica (Kilp et al., 2014).

Por otro lado, la seguridad y tolerancia del fármaco se ha medido en perros de raza Collie con comprobada mutación del gen MDR1 (gen resistente a múltiples fármacos), tratándolos con 168 mg/kg de p.v., evidenciándose que fluralaner es muy seguro en perros con esta condición genética, ya que no se observó ningún signo clínico que se asocie a neurotoxicidad, además no se evidenció ninguna reacción adversa durante los 112 días de observación post tratamiento (Walther, Allan, et al., 2014). Lo mismo se evidencia en un estudio previo en perros de raza Beagle, sanos, administrándoles dosis de hasta 280 mg/kg (5 veces la dosis recomendada), en intervalos de 8 semanas, no dando lugar a ningún hallazgo relacionado a los tratamientos que pudieron ser contrastadas mediante la observación clínica, patológica o en el examen

post-mortem macro y microscópico (Walther, Allan, et al., 2014).

2. Objetivos

Determinar la efectividad de fluralaner oral para el tratamiento y control de garrapatas en caninos naturalmente infestados.

3. Lugar de Estudio

El estudio se realizó en el albergue canino "Can Martin", ubicado en la zona de Santa Rosa de Cieneguilla, en el distrito de Cieneguilla, provincia de Lima, Departamento de Lima, ubicado a una altitud de 73 msnm.

4. Fecha de Estudio y Duración

El estudio se llevó a cabo desde el Noviembre del 2020 hasta Marzo del 2021, y tuvo una duración total de 5 meses.

5. Materiales y Métodos

5.1. Diseño experimental

Se trabajó con 46 animales, tomando como unidad experimental a un canino. Se estableció 3 grupos experimentales, 1 grupos de 30 animales y 2 grupos de 8 animales.

Se empleó un método de randomización empleando una tabla de números aleatorios. Se realizó un recuento de garrapatas al día experimental "- 7" mediante la técnica de conteo digital (Marchiondo et al., 2013)

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 garrapatas.

La aplicación del tratamiento se realizó al día 0. La evaluación de la efectividad se realizó a las 8 horas, 1, 2, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84 y 98 días post tratamiento, en base al número de garrapatas total de cada animal.

5.2. Animales de estudio

Los animales fueron caninos provenientes del albergue Can Martin, ubicado en Cieneguilla. Cada animal fue identificado mediante su nombre, código para el ensayo y fueron registrados fotográficamente. Los caninos fueron mayores de 6 meses, de ambos sexos, cualquier raza, con un peso mayor a 1 kg.

Se incluyeron animales con una infestación mayor a 5 garrapatas por animal, según lo recomendado en estudios bajo infestaciones naturales. Se excluyeron hembras lactantes, gestantes, animales que estuvieran recibiendo tratamientos que puedan interaccionar con el Producto Farmacéutico Veterinario en Investigación (PFVI) y animales que hayan recibido tratamiento contra las garrapatas durante los 60 días antes del inicio del tratamiento.

5.3. Tratamientos

El presente PFVI fue una tableta masticable de administración oral a base 125 mg de fluralaner por gramo de tableta. Se tuvieron las siguientes presentaciones:

- Mini: para perros de 2.5 a 4.5 Kg
- Pequeños: para perros de 4.5 a 10 Kg
- Medianos: para perros de 10 a 20 Kg
- Grandes: para perros de 20 a 40 Kg

El grupo A (FLA) recibió una tableta masticable a base de fluralaner a una dosis de 25-56 mg/kg¹ por vía oral, el grupo B (FLB) recibió una tableta a base de fluralaner a razón de 25-56 mg/kg² por vía oral, y el grupo control (PLA) recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 1 tableta por animal. La administración de las tabletas fue realizada por personas instruidas y aptas para dicha tarea.

Para el cálculo de la dosis total administrada, los animales fueron pesados con una balanza electrónica.

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

6. Evaluación de Efectividad

Para determinar la carga de garrapatas se utilizó la técnica conteo digital (Marchiondo et al., 2013). Las garrapatas contadas no se eliminaron. Todos los recuentos de cada animal fueron realizados por una misma persona (Dryden et al., 1994).

Se evaluó la efectividad en base al porcentaje de reducción del número de garrapatas, según la siguiente fórmula (Celentano & Szkló, 2018):

$$\text{Efectividad (\%)} = \frac{(x_{\text{basal}}) - (x_t)}{x_{d=-30}} \times 100$$

¹ Atrivia® XR es una formulación oral a base de 50 mg de fluralaner por cada gramo de tableta, de aplicación trimestral. Atrivia® es una marca Registrada de Agrovét Market S.A. en Perú.

Donde:

x= Promedio de garrapatas

t= tiempo post tratamiento (8 horas; 1,2,7,14,28,42,56,70,84 y 98 días post-tratamiento).

Se utilizó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y de dispersión para presentar los datos obtenidos. Así también se usó la diferencia de cada medida con la basal para determinar el porcentaje de efectividad en cada animal para poder compararlo entre grupos. Para comprobar la distribución normal de los datos se utilizó el test de Shapiro-Wilk. Dada la distribución no normal de los datos se usó la prueba de kruskal wallis con su variante kwallis2 en el paquete estadístico. A su vez, se realizó un test de rangos signados de wilcoxon 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. 15.

7. Evaluación de Seguridad

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. A su vez, los animales fueron monitoreados diariamente para la observación de posibles reacciones adversas, tanto reacciones locales como reacciones sistémicas. De existir alguna reacción adversa al producto, el animal afectado habría sido excluido del estudio y los efectos adversos reportados en el informe final de estudio.

8. Resultados

La efectividad para cada grupo puede ser observada en el cuadro N°1. Los datos nos indican que tanto FLA como FLB lograron una efectividad superior a 88% a las 8 horas post aplicación.

La efectividad aumentó en ambos grupos por encima de 96% el día 1, llegando a encima del 98 % el día 2 y 100% desde el día 7 hasta el día 28. La efectividad se mantuvo por encima del 99% hasta el día 84; y el día 98 se obtuvo una efectividad superior al 96% en ambos grupos. La reducción de la efectividad hasta el día 84 se debió a la presencia de garrapatas errantes, las cuales posiblemente se movieron de otros ambientes del albergue.

² Bravecto® es una formulación a base de fluralaner de aplicación trimestral. Bravecto® es una marca registrada de Intervet International B.V. en Perú.

La reducción de la efectividad al día 98 se debe a la reducción de los niveles plasmáticos de Fluralaner (Kilp et al., 2014).

El grupo control que sólo recibió placebo no mostró recuperación alguna, aumentando la carga parasitaria en más de 40% al día 7, por lo que fueron retirados del estudio para ser tratados adecuadamente.

La reducción del número de garrapatas en los animales tratados demuestra no solo su efectividad para el tratamiento, sino también el efectivo control ambiental que posee el Fluralaner.

Al realizar las pruebas estadísticas ya mencionadas, se observó que no hubo diferencia alguna en la cantidad de garrapatas entre los grupos al conteo basal. Si existió una diferencia estadística significativa ($p < 0.01$), desde el conteo realizado a las 8 horas hasta el día 7, entre los grupos tratados y el control. No se observó diferencia estadística significativa entre FLA y FLB en ninguno de los conteos post aplicación.

Todos los conteos de ambos grupos, posteriores a la aplicación del tratamiento, mostraron una reducción de la cantidad de garrapatas estadística significativa al ser comparados con sus conteos basales.

Los registros determinaron que ningún animal mostró sintomatología alguna, que pueda ser indicativo de una reacción negativa al producto.

9. Conclusiones

- La aplicación de fluralaner oral a una dosis de 25-56 mg/Kg¹ es efectiva para el tratamiento de garrapatas.
- El efecto residual en el control de garrapatas de fluralaner oral a dosis de 25-56 mg/Kg¹ se mantiene hasta por un mínimo de 98 días.
- No se evidenció diferencias estadísticas entre la aplicación oral de las dos formulaciones de fluralaner a razón de 25-56 mg/Kg^{1,2}.
- El uso de fluralaner oral a dosis de 25-56 mg/Kg¹ es seguro para su uso en el tratamiento y control de garrapatas en caninos naturalmente infestados.

¹ Atrivia® XR es una formulación oral a base de 50 mg de fluralaner por cada gramo de tableta, de aplicación trimestral. Atrivia® es una marca Registrada de Agrovét Market S.A. en Perú.

10. Autores del RF

Agrovét MARKET

Luis Chávez
Jefe de Investigación
Animales Menores y Farmacovigilancia
Agrovét Market S.A.

Agrovét MARKET

Valeria Liao
Asistente de Investigación
Animales Menores y Farmacovigilancia
Agrovét Market S.A.

11. Referencias Bibliográficas

- Celentano, D., & Szкло, M. (2018). *Gordis Epidemiology*. 6th Edition.
- Dryden, M. W., Boyer, J. F., & Smith, V. (1994). Techniques for estimating on-animal populations of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 31(4), 631–634. <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.4.631>
- Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H., & Ilg, T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and l-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45(1), 111–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.11.009>
- Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014). Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-85>
- Laiño, M. A., Cardinal, M. V., Enriquez, G. F., Alvedro, A., Gaspe, M. S., & Gürtler, R. E. (2019). An oral dose of Fluralaner administered to dogs kills pyrethroid-resistant and susceptible Chagas disease vectors for at least four months. *Veterinary Parasitology*, 268, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.03.005>
- Marchiondo, A. A., Holdsworth, P. A., Fourie, L. J.,

² Bravecto® es una formulación a base de fluralaner de aplicación trimestral. Bravecto® es una marca registrada de Intervet International B.V. en Perú.

- Rugg, D., Hellmann, K., Snyder, D. E., & Dryden, M. W. (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. *Veterinary Parasitology*, 194(1), 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.02.003>
- Rohdich, N., Roepke, R. K., & Zschiesche, E. (2014). A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. *Parasites and Vectors*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-83>
- Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014). The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasites and Vectors*, 7(1), 84. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-84>
- Walther, F. M., Paul, A. J., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014). Safety of fluralaner, a novel systemic antiparasitic drug, in MDR1(-/-) Collies after oral administration. *Parasites and Vectors*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-86>
- Wengenmayer, C., Williams, H., Zschiesche, E., Moritz, A., Langenstein, J., Roepke, R. K. A., & Heckerroth, A. R. (2014). The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against Ixodes ricinus ticks on dogs. *Parasites and Vectors*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0525-3>
- Williams, H., Young, D. R., Qureshi, T., Zoller, H., & Heckerroth, A. R. (2014). Fluralaner, a novel isoxazoline, prevents flea (*Ctenocephalides felis*) reproduction in vitro and in a simulated home environment. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-275>
- Williams, H., Zoller, H., Roepke, R. K. A., Zschiesche, E., & Heckerroth, A. R. (2015). Fluralaner activity against life stages of ticks using *Rhipicephalus sanguineus* and *Ornithodoros moubata* IN in vitro contact and feeding assays. *Parasites and Vectors*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0704-x>

12. Anexos

Anexo 1

Cuadro N°1. Efectividad de cada grupo para el control de garrapatas en cada fecha de muestreo

Garrapatas				
Muestreo	Medida	FLA	FLB	PLA
Basal	Media (Mediana)	51.77(28.5)	38.88(30.5)	30.63(31)
	Rango de conteo	6-126	12-106	16-45
	Efectividad	-	-	-
8 horas	Media (Mediana)	5.87(4.5)	4.13(1.5)	31.25(32)
	Rango de conteo	0-21	0-21	19-44
	Efectividad	88.67%	89.39%	-2.04%
Día 1	Media (Mediana)	0.67(0)	1.25(0.5)	31.75(32)
	Rango de conteo	0-7	0-6	19-44
	Efectividad	96.01%	96.78%	-3.67%
Día 2	Media (Mediana)	0.67(0)	0.5(0)	36.5(35.5)
	Rango de conteo	0-4	0-4	25-49
	Efectividad	98.71%	98.71%	-19.18%
Día 7	Media (Mediana)	0(0)	0(0)	43.38(42.5)
	Rango de conteo	0	0	29-76
	Efectividad	100%	100%	-41.63%
Día 14	Media (Mediana)	0(0)	0(0)	
	Rango de conteo	0	0	
	Efectividad	100%	100%	
Día 28	Media (Mediana)	0(0)	0(0)	
	Rango de conteo	0	0	
	Efectividad	100%	100%	
Día 42	Media (Mediana)	0.03(0)	0.13(0)	
	Rango de conteo	0-1	0-1	
	Efectividad	99.94%	99.68%	
Día 56	Media (Mediana)	0.03(0)	0.13(0)	
	Rango de conteo	0-1	0-1	
	Efectividad	99.93%	99.68%	
Día 70	Media (Mediana)	0.17(0)	0.13(0)	
	Rango de conteo	0-2	0-1	
	Efectividad	99.68%	99.68%	
Día 84	Media (Mediana)	0.33(0)	0.13(0)	
	Rango de conteo	0-2	0-1	
	Efectividad	99.36%	99.68%	
Día 98	Media (Mediana)	1.17(0.5)	1.25(0.5)	
	Rango de conteo	0-7	0-6	
	Efectividad	97.75%	96.78%	

FLA= fluralaner oral a 25-56 mg/Kg¹, FLB = fluralaner oral a 25-56 mg/Kg², PLA=placebo

¹ Atrivia® XR es una formulación oral a base de 50 mg de fluralaner por cada gramo de tableta, de aplicación trimestral. Atrivia® es una marca Registrada de Agrovat Market S.A. en Perú.

² Bravecto® es una formulación a base de fluralaner de aplicación trimestral. Bravecto® es una marca registrada de Intervet International B.V. en Perú.