

Efectividad de la una solución epicutánea a base de Fipronil, Pyriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Drop on) para el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados.

Luis Alfredo Chávez Balarezo¹, José Tang Ploog¹, Lelia Sánchez¹

¹ Agroveter Market Animal Health/ Área de Sanidad – Animales Menores y Farmacovigilancia
Código de Reporte Final 008-15

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la eficacia de una asociación de fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran para el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados. Se trabajó con 64 caninos mayores de 6 meses infestados naturalmente por garrapatas, provenientes del albergue Can Martín ubicado en Cieneguilla, Lima-Perú. Se realizaron conteos de garrapatas usando la técnica del conteo digital considerando como punto de división el promedio geométrico obtenido. Se establecieron 2 grupos de 32 animales, siendo el Grupo A o grupo control, recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal; y el Grupo B recibió el tratamiento a base Fipronil (45 mg), Piriproxifen (45 mg), Dinotefuran (58 mg), Butóxido de piperonilo (10 mg), Permetrina (360 mg) por cada ml de producto, por vía epicutánea a una dosis de 1.5 ml por cada 10 kg de P.V. Se realizó un primer conteo el día 0 (día de aplicación) el cual fue considerado como el conteo basal. Los conteos de garrapatas controles se realizaron a los 2, 15, 30, 45 y 60 días post aplicación del Producto farmacéutico veterinario en investigación (PFVI). Los animales que fueron incluidos en el estudio tuvieron un conteo de garrapatas hembras adultas superior o igual a 5 en total. La efectividad del grupo B al día 2 fue de 70.73% y desde el día 15 hasta el día 60 la efectividad se mantuvo en 100%. Hubo diferencia estadística significativa entre la medida basal y el conteo de todos los días post-tratamiento ($p < 0.05$). Así, se puede concluir que la aplicación de una combinación a base fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran para el control de garrapatas en perros representa una alternativa efectiva desde el momento de aplicación hasta los 60 días post aplicación.

Palabras clave: fipronil, piriproxifen, dinotefuran, butóxido de piperonilo, permetrina, Fipronex® G5 Drop on.

INTRODUCCIÓN

Rhipicephalus sanguineus (la garrapata parda) es una garrapata de distribución mundial, siendo extremadamente específicas en relación con el hospedero, pero pueden afectar a seres humanos en algunos casos. Las garrapatas son artrópodos hematófagos que actúan como vectores en un gran número de enfermedades, muchas de las cuales pueden ser de alto riesgo. Entre las enfermedades que los caninos pueden contraer de las garrapatas podemos mencionar la enfermedad de Lyme (*Borrelia burgdorferi*), hepatozoonosis (*Hepatozoon americanum*), erlichiosis canina (*Ehrlichia canis*), y babesiosis canina (*Babesia canis*). Una infestación masiva de garrapatas puede provocar suficiente pérdida de sangre como para causar anemia, y algunos componentes de su saliva son inmunosupresores. Así, el control de infestaciones en caninos es, efectivamente, extremadamente importantes para la salud tanto de canes como de animales (Jernigan et al., 2000).

Ante la necesidad de controlar la presencia de estos parásitos, se han desarrollado distintos compuestos, entre los cuales se puede mencionar alfipronil, pyriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran.

El fipronil es un derivado de los fenilpirazoles. Actúa como un antagonista del GABA, fijándose al receptor en el interior del canal ionóforo. Esto provoca la inhibición del flujo intracelular del cloro, lo que conduce a una muerte del parásito por hiperexcitación. Una sola aplicación en caninos proporciona protección contra infestaciones por *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus* y *Dermacentor reticulatus*, entre otros, tanto en sus formas adultas como juveniles, durante 1 mes como mínimo. La característica principal de este compuesto es la excelente distribución que tiene por el pelo a partir del sitio de aplicación focal hacia la parte superior del cuello, ambos flancos y zona lumbar (desde el segundo día de tratamiento). Esta rápida transposición en el pelo de los caninos puede deberse a una diseminación mecánica y a la naturaleza lipófila del fipronil, que permite su difusión rápida por la grasa de la piel (Botana, 2002; Boyce, 2000). En 16 estudios experimentales, el control de garrapatas fue efectivo por 5 semanas cuando se usó vía spray (Widermann, 2000). En un estudio en África, se evaluó la infestación por garrapatas, el estado clínico de los animales y la seroprevalencia de Erlichiosis canina durante 1 año. Los perros tratados con fipronil no mostraron

erlichiosis mocitica canina, ni infestación por garrapatas (Davoust, 2003).

El pyriproxyfen es un pesticida basado en piridina que es altamente efectivo contra los artrópodos. El pyriproxyfen es un análogo de la hormona juvenil, un regulador del crecimiento de insectos con un modo de acción único que afecta la morfogénesis, reproducción y embriogénesis de los insectos. El efecto morfogénico del pyriproxyfen es visto en primaria instancia durante la transformación de larva a pupa. Así, la muerte ocurre en el estadio de pupa o ninfa, y los parásitos no llegan a la adultez (Invest, 2008). En un experimento realizado sobre *Amblyoma americanum* se observó que el pyriproxifen inhibió la eclosión y tuvo un efecto positivo en el control de huevos y larvas (Teel, 1996). En otro experimento con la misma especie de garrapatas se observó que las ninfas que lograron completar su desarrollo a adultos después del tratamiento fueron letárgicas, exhibieron patrones de defecación alterados y tuvieron un tiempo de vida corto a comparación de garrapatas que no recibieron el tratamiento con PPF (Donahue, 1997).

La Permetrina pertenece a la clase de los insecticidas y acaricidas piretroides tipo I y actúa también como repelente. Los piretroides afectan a los canales de sodio de vertebrados e invertebrados. Los piretroides se denominan "bloqueadores de canal abierto" afectando al canal del sodio ya que ralentizan tanto las propiedades de activación como de inactivación, dando lugar a un estado de hiperexcitación y muerte del parásito (Bayer, 2009). Controla pulgas y garrapatas por 4 semanas (Boyce, 2000). Algunos artrópodos pueden degradar los piretroides en su cuerpo; por esta razón, a menudo estos se combinan con el sinergista butóxido de piperonil que previene esta inactivación (Barriga, 2002).

El butóxido de piperonil es un sinergista de insecticidas, principalmente piretroides. Ejerce su acción al inhibir el citocromo P450. Esta familia de enzimas son las principales que actúan en los mecanismos de detoxificación de muchos plaguicidas. Inhibiendo los mecanismos de detoxificación permite que las concentraciones del insecticida dentro del organismo sean mayores ya que impide su metabolización haciendo que permanezca más tiempo dentro del cuerpo del insecto u organismo a eliminar (EMEA, 1999)

Por otro lado, el dinotefuran es un insecticida perteneciente al grupo de los insecticidas neonicotinoides, en la subclase de la nitroguanidina. Posee acción sistémica, de contacto y por ingestión; y afecta el sistema nervioso central de los insectos al ser un agonista nicotínico de receptores de acetilcolina (FAO, 2013)

El presente documento, propuso evaluar la efectividad y residualidad de una nueva fórmula comercial a base de fipronil, pyriproxifen, permetrina, butóxido de piperonil y dinotefuran (Fipronex G5 Drop on) en el control de las

garrapatas en caninos bajo condiciones de infestación natural.

OBJETIVOS

Determinar la efectividad de Fipronex G5 Drop on en el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados.

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, Perú; ubicada a una altitud de 73 msnm.

FECHA DE ESTUDIO Y DURACIÓN

El estudio se inició en el mes de mayo del año 2015 y fue terminado en Julio del 2015.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El presente trabajo se realizó con 64 caninos, se propuso un diseño aleatorio, donde un canino representó una unidad experimental. Se establecieron dos grupos experimentales de 32 animales cada uno, el Grupo Tratamiento recibió una solución de aplicación epicutánea a base de Fipronil, Pyriproxifen, Butóxido de piperonil, Permetrina y Dinotefuran a una dosis de 6,75 mg/kg de peso vivo (PV) de Fipronil y Pyriproxifen, 8.7 mg/Kg de dinotefuran, 1.5 mg/Kg de butóxido de piperonil y 54 mg/Kg de permetrina, equivalente a 0.15 mL cada 10 Kg de PV, vía epicutánea, el Grupo Control recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal. El tratamiento fue aplicado en la base del cuello frente a la escapula (Jernigan et al., 2000). El día de tratamiento se estableció como día experimental "0".

Se empleó la técnica del conteo digital descrita por Marchiondo et al. (2013), considerando como punto de división el promedio geométrico obtenido.

La evaluación de la efectividad se realizó a los 2, 15, 30, 45 y 60 días post tratamiento, en base al número de garrapatas total de cada animal.

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

$$Efectividad (\%) = \frac{(x_{d=0}) - (x_{d=2,15,30,45,60})}{x_{d=0}} \times 100$$

Donde:

x= promedio geométrico de garrapatas

d= día post tratamiento

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; se continuó el monitoreo diario mientras duró la evaluación.

Animales de estudio

Se seleccionaron 64 caninos mayores de 6 meses, de ambos sexos, de cualquier raza, de pelo corto a mediano, de buena condición clínica, provenientes del albergue canino "Can Martin".

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 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.

Criterios de inclusión, exclusión y post-exclusión

Se incluyeron animales con una infestación mayor o igual a 5 garrapatas hembras adultas por animal. Se excluyeron hembras lactantes, gestantes, animales que estuvieran recibiendo tratamientos que puedan interactuar con el Producto Farmacéutico veterinario en investigación y animales que hayan recibido tratamiento acaricida durante los 60 días antes del inicio del tratamiento.

Si algún animal pudiera haber tenido una reacción adversa, o sufrir alguna condición morbosa que hubiera requerido tratamiento y aislamiento, durante el curso del estudio, habría sido excluido del estudio.

Tratamientos

El Grupo Tratamiento (Grupo A) recibió "Fipronex® G5 Drop on" a una dosis de 6.75 mg/kg PV (peso vivo) de Fipronil y de piriproxifen, 8.7 mg/Kg de dinotefuran, 1.5 mg/Kg de butóxido de piperonilo y 54 mg/Kg de permetrina, equivalente a 1.5 mL cada 10 Kg de PV, vía epicutánea, equivalente a 0.15 mL de solución por cada 1 Kg. de peso vivo.

El Grupo Control (Grupo B) 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

EVALUACIÓN DE EFECTIVIDAD

Para determinar la carga de garrapatas se utilizó la técnica de conteo digital (Marchiondo et al., 2013). Se formaron grupos de trabajo con dos personas capacitadas en la técnica para la evaluación in situ de las garrapatas. Cada unidad experimental fue evaluada por un grupo de trabajo, siendo los mismos grupos los que evaluaron a los animales en sus

controles. Para ello, cada animal fue colocado en una mesa de trabajo. El método consiste en localizar las garrapatas adheridas, usando los dedos, identificar la especie y contarlas sin removerlas. Se prestó atención especial a las orejas, pabellón auricular, pliegue marginal auricular y espacios interdigitales en la búsqueda. A su vez se determinó el efecto garrapaticida en la viabilidad de las garrapatas por lo que se evaluaron como vivas mediante la confirmación de movimiento tras el toque suave de la garrapata con una sonda. Una vez finalizada la evaluación, el perro fue retirado y se procedió a examinar al siguiente animal.

Cabe mencionar que se tomaron en promedio una muestra de 3 a 5 garrapatas por animal, las cuales no fueron contabilizadas y fueron enviadas al laboratorio de parasitología de la FMV-UNMSM, para su identificación.

RESULTADOS

Se evaluaron un total de 64 caninos, 21 machos y 41 hembras, con un peso promedio inicial de 18.1 Kg (7 - 36 Kg). Las especies de garrapatas identificadas fueron *Rhipicephalus sanguineus* (100%). Los dos grupos iniciaron con un promedio geométrico de garrapatas estadísticamente no similar (Tabla 1), siendo el promedio más alto para los animales del grupo tratado. El promedio geométrico de garrapatas del grupo tratado con Fipronex® G5 Drop on disminuyó desde 60.73 (día 0) a 0 correspondiendo al 100% de efectividad a los 60 días post-tratamiento. El promedio de garrapatas de los dos grupos experimentales durante los diferentes períodos de evaluación se puede apreciar en la tabla 1.

Como se observa en la tabla 1, a pesar de que el grupo control no fue considerado para los análisis estadísticos, pues los animales debieron ser tratados debido a la alta carga parasitaria que estos tenían y al alto riesgo que suponía esto para su salud, la elevada carga parasitaria por garrapatas que presentaron los animales centinela complementa la evidencia de una fuerte presión de infección en el ambiente del albergue canino, asegurando así la exposición de los grupos experimentales.

A los 2 días post-tratamiento se logra obtener una efectividad del 73.07% con Fipronex® G5 Drop on, para luego incrementar a los 15 días a 100% y mantenerse hasta finalizar el punto de corte del presente estudio (Gráfico 1).

Al realizar el test de Student pareado para determinar si existe diferencia entre la medida basal (día 0) de cada observación con el conteo respectivo post-tratamiento, se evidenció que para el Grupo B

(Fipronex® G5 Drop on) hubo diferencia estadística significativa entre la medida basal y el conteo de todos los días post-tratamiento ($p < 0.05$); para el grupo A (Control) hubo diferencia estadística significativa entre la medida basal y el conteo del día 2 post-tratamiento ($p < 0.05$), aumentando la cantidad de parásitos en los animales.

Por su parte, ningún animal presentó algún tipo de reacción adversa dentro de los 120 minutos post-tratamiento. Cabe mencionar que todos los animales habían recibido alimento dentro de las 2 horas anteriores al tratamiento.

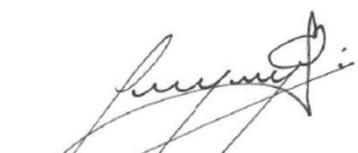
CONCLUSIONES

El tratamiento con Fipronex® G5 Drop on presentó una efectividad superior al 70% (73.07%) a partir de los 2 días post-tratamiento, para el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados, teniendo un efecto rápido.

El periodo residual del Fipronex® G5 Drop on para el control de garrapatas en caninos fue de 60 días, con una efectividad del 100%, pudiendo ser más largo aún, pero en este diseño experimental se contempló realizar muestreos hasta el día 60.

El empleo de Fipronex® G5 Drop on es una opción de efectividad rápida y de una efectividad bastante alta para el control de garrapatas en caninos.

AUTORES DEL RF



M.V. Luis Alfredo Chávez Balarezo
Supervisor de Investigación en Sanidad Animal en
Agrovét Market S.A.



M.V. Lelia Sanchez
Jefe de Investigación y Diseño Experimental en
Agrovét Market S.A.



M.V. José Tang
Sub Gerente de Investigación en Sanidad Animal en
Agrovét Market S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bayer Hispania SL. 2011 Advantix. VS06.
- Bishop BF, Bruce CI, Evans NA, Goudie AC, Gration 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.
- Botana LM, Landoni F, Martí-Jiménez T. 2002. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. McGraw-Hill/Interamericana De España. p 734.
- Boyce P, Wanamarker C, Pettes L. *Applied Pharmacology for the Veterinary Technician*. Second Edition. USA: Saunders Company. pp: 246-247.
- Davoust B, Marié JL, Mercier S, Bon MI, Vandeweghe A, Parzy D, Beugnet F. 2003. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. *Veterinary Parasitology: Volume: 112, Issue: 1-2, Pages: 91-100*
- Donahue WA, Teel PD, Strey OF, Meola RW. 1997. Pyriproxyfen effects on newly engorged larvae and nymphs of the lone star tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology: Volume: 34, Issue: 2, Pages: 206-211*
- Dryden MW, Rust MK. 1994. The cat flea: biology, ecology and control. *Vet. Parasitol.* 52:1-19.
- EMA. 1999. Committee for veterinary medicinal products: Piperonyl Butoxide.
- FAO. 2013. Specifications and evaluations for agricultural pesticides: Dinotefuran.
- Gordis L. 2004. *Epidemiology*. Edición: 3. Philadelphia, Pa: Saunders.
- Invest JF, Lucas JR. 2008. Pyriproxyfen as a mosquito larvicide. William H Robinson and Daniel Bajomi.
- 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.
- Jernigan AD, McTier TL, Chieffo C, Thomas CA, Krautmann MJ, Hair JA, Young DR, Wang C, Rowan TG. 2000. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (Rhipicephalus sanguineus and Dermacentor variabilis) infestations on dogs. *Vet. Parasitol.* 91:359-375.
- 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 parasitocides 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, 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 and Ctenocephalides canis) on dogs and cats. Vet. Parasitol. 91:187-199.

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, Dryden MW. 1997. The biology, ecology, and management of the cat flea. Annu. Rev. Entomol. 42:451-473.

Rust MK. 2005. Advances in the control of Ctenocephalides felis (cat flea) on cats and dogs. Trends Parasitol. 21:232-236.

Teel PD, Donahue WA, Strey OF, Meola RW. Effects of pyriproxyfen on engorged females and newly oviposited eggs of the lone star tick (Acari:Ixodidae). Journal of Medical Entomology :Volume: 33, Issue: 5, Pages: 721-725

Widermann C. 2000. Studies on the efficacy of Fipronil against ectoparasites - II. Tick control. Volume: 55, Issue: 4.

ANEXOS

Tabla N°1. Efectividad del Fipronex® G5Drop on en el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados, Cieneguilla, 2015.

		DIAS POST-TRATAMIENTO					
		0	2	15	30	45	60
FIPRONEX® G5 DROP ON (Grupo B)	PROMEDIO GEOMETRICO	60.73 ^a	16.36 ^c	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e
	IC (95%)	(48.26; 158.68)	(20.98; 44.02)	(3.26; 9.18)	(1.63; 4.31)	(3.09; 7.47)	(4.53; 8.59)
	EFFECTIVIDAD (%)	-	73.07%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
CONTROL* (Grupo A)	PROMEDIO GEOMETRICO	27.12 ^b	45.31 ^d	-	-	-	-
	IC (95%)	(27.08 ; 49.67)	(44.88; 84.5)	-	-	-	-
	EFFECTIVIDAD (%)	-	-67.12%	-	-	-	-

^{abcde} =letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05)

(*) Grupo control, este grupo no participó del análisis estadístico luego del día 2

Gráfico N°1. Evolución de la efectividad del Fipronex® G5 Drop on en el control de garrapatas en caninos naturalmente infestados, Cieneguilla, 2015.

