

REPORTE FINAL DE ESTUDIO

1. **Título**
Evaluación del grado de aceptación de una nueva formulación para el control de las pulgas en caninos.
2. **Número de Ensayo Clínico**
03-11
3. **Tipo de Estudio**
Ensayo clínico cruzado
4. **Objetivo General**
Determinar el sabor con mayor aceptación en caninos.
5. **Objetivos Específicos**
 - ✓ Determinar el grado de aceptación de cada uno de los ocho sabores de la nueva formulación comercial en caninos de la provincia de Lima.
 - ✓ Determinar el sabor con mayor promedio de aceptación
6. **Equipo de investigación**
Roxana Angelats Mori, Médico Veterinario Jefe de Investigación y Diseño experimental, Agroveter Market S.A.; José Tang Ploog, Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo, Agroveter Market S.A.; Ana Murguía Quintana, Médico Veterinario Jefe de Investigación en Sanidad Animal Agroveter Market S.A.; Gino Castillo Yañez, Bach. Medicina Veterinaria, Agroveter Market SA.
7. **Lugar de Estudio**
El estudio se realizó en las provincias de Lima y Cañete pertenecientes al departamento de Lima. Dentro de la provincia de Lima se trabajó en los distritos de Miraflores, San Isidro, Surco, la Molina, Surquillo y Chorrillos. En la provincia de Cañete se trabajó en los distritos de Chilca y Cerro Azul. Ambas provincias están ubicadas en la costa central del país. Se sitúan entre los 10° 16' 18" de latitud sur y los meridianos 76° 54' 16" y 77° 53' 2" de longitud oeste. El clima se caracteriza por ser subtropical, desértico y húmedo; con temperaturas que fluctúan entre templadas y cálidas. La temperatura promedio es de 19 °C, siendo la temperatura promedio anual de 14 °C durante el invierno y de 25,5 °C durante el verano. El grado de humedad tiene un promedio permanente de 80%.
8. **Fecha de Estudio y duración**
El estudio tuvo una duración de 35 días y se llevó a cabo durante la estación de invierno. Se desarrolló entre el 10/08/2011 al 13/09/2011.
9. **Antecedentes**
Las pulgas constituyen los ectoparásitos hallados con mayor frecuencia en las mascotas (Liberato, 1998; Estares, 1999). Más aún, debido a la gran adaptabilidad del parásito a las diferentes condiciones ambientales, representan un problema difícil de controlar (Leguía, 2002). En este contexto, Agroveter Market ha desarrollado una nueva formulación para el control de las pulgas en base a lufenuron y spinosad, dos sustancias con efectividad conocida para el control de los estadios inmaduros y la fase adulta del parásito, respectivamente (Plumb, 2002; Elanco Animal Health, 2007).

Así, la combinación de una droga que logre efectividad en corto tiempo (spinosad) con una que produzca un largo período residual (lufenuron) representa una alternativa ideal para el control de pulgas en caninos. Esta nueva formulación ha sido elaborada para su administración vía oral, como una pastilla masticable, de manera que el mismo dueño pueda dosificar a su mascota sin depender del médico veterinario. Sin embargo, para lograr la mejor aceptación del producto por parte de la mascota, es indispensable evaluar diversas sustancias que hagan el producto palatable para la mascota y se asegure la dosificación completa y sencilla.

La palatalabilidad es la medida de la preferencia subjetiva de una comida y depende del sabor, textura y olor de la misma. La evaluación de la palatalabilidad es importante para la industria farmacéutica veterinaria así como para la industria de alimentos balanceados para mascotas: una mayor palatalabilidad equivale a una más fácil y placentera administración de la sustancia y/o droga. Empero, dado que los animales no son capaces de declarar las preferencias de una manera directa, la evaluación de la palatalabilidad debe basarse en una medida objetiva en la cual 2 o más alimentos o sabores pueden ser medidos en un ranking en base a la preferencia (Araujo y Milgram, 2004).

Con el objetivo de asegurar una alta aceptación de la nueva droga, se diseñaron ocho sabores diferentes, los cuales fueron evaluados según su grado de predilección en el primer bocado. Esta prueba analiza la primera impresión del animal ante el aroma y el aspecto del alimento. El método que se utilizará es una adaptación de la prueba de dos bandejas, la cual consiste en comparar el consumo de dos tipos diferentes de alimentos (Farrell, 1984a,b; Griffin et al., 1984). Este procedimiento nos permitirá determinar la palatalabilidad rápidamente.

10. Materiales y Métodos

10.1. Tratamiento

Nueva formulación comercial a base de Spinosad 150mg + Lufenuron 50mg vía oral presentados en 8 sabores diferentes, los cuales correspondieron a 8 tratamientos A, B, C, D, E, F, G y H. Todos los animales recibieron cada uno de los 8 tratamientos. Para ello, cada tableta fue dividida en 4 partes y la cuarta parte correspondió a una dosis.

10.2. Tamaño de muestra

Para el cálculo del tamaño muestral se empleó la fórmula de diferencia de medias. Tomando como variable el grado de aceptación promedio, se consideró un promedio de aceptación de 4.4 para el tratamiento preferido y de 4.3 para el tratamiento que ocupara el segundo puesto. Con una desviación estándar esperada de 0.9, bajo un nivel de significancia del 95% y un poder estadístico del 80% se obtuvo un tamaño de muestra de 59 animales como mínimo para muestras pareadas.

10.3. Diseño experimental

El estudio utilizó un diseño cruzado ciego. Sesentainueve (69) caninos fueron seleccionados en base a los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Todos los animales recibieron cada uno de los 8 tratamientos. Cada animal se trabajó en un lugar familiar con la presencia de su dueño y/o entrenador. Luego de un período de 15 minutos de adaptación al observador, se procedió a brindar el primer tratamiento en la palma de la mano. Cuando el animal no prestó interés se procedió a colocar la



tableta en el suelo y observar la reacción del animal por un período de 2 minutos. Pasado ese tiempo, si el tratamiento fue rechazado, se procedió a retirarlo. No se forzó al animal bajo ninguna circunstancia a comer la tableta. Luego, se procedió con el siguiente tratamiento tras un período de espera de 15 minutos. Se estableció un tiempo de espera de 15 minutos entre un tratamiento y otro, en la que la condición del ambiente fue en reposo y sin provocar excitación en el animal (calmado).

Los tratamientos se ofrecieron en el siguiente orden: A, B, C, D, E, F, G y H, en el primer animal bajo estudio. En el siguiente animal se empezó en el tratamiento B, siguiendo el orden dispuesto hasta retornar al tratamiento A. Así, sucesivamente se realizó la rotación de los tratamientos para contrarrestar el efecto del orden.

10.4. Selección de animales e identificación

Se seleccionaron 69 caninos de diferentes razas de ambos sexos, edades y tipo de alimentación. Entre los criterios de inclusión se consideró a todos los caninos clínicamente sanos, de ambos sexos, mayores de 14 semanas de edad, con un peso mayor de 5kg y sin restricción alimenticia. Entre los criterios de exclusión no se consideraron hembras lactantes ni gestantes, ni perros con antecedentes de epilepsia.

Se verificó que todos los animales hayan sido alimentados antes de realizar la prueba, de manera que la restricción alimenticia no afecte el grado de palatabilidad de los tratamientos.

La identificación se realizó mediante el registro de los nombres de los caninos en las fichas de identificación y monitoreo, y se le asignó un número de ID a cada individuo.

10.5. Parámetros evaluados

Se evaluó el grado de aceptación o palatabilidad de cada tratamiento. La palatabilidad fue medida en una escala del 0 al 5, donde “0” correspondió a la menor palatabilidad y “5” al más alto grado. La escala para evaluar el grado de aceptación de los tratamientos se describe a continuación:

Escala	Guía de aceptación
5	Que lo huela y lo coma, y pida más (moviendo la cola, buscando más)
4	Que lo huela, lo coma pero se demore en terminarla
3	Que lo huela, lo mastique y elimine pedazos de la pastilla.
2	Que lo huela, lo lama, pero no se lo coma
1	Sólo lo huele
0	Total indiferencia (no se acerca a oler)

Se registraron los datos de los animales tales como nombre, edad, sexo, procedencia, peso, condición corporal y tipo de alimento recibido.

10.6. Métodos estadísticos

Se utilizaron medidas de tendencia central para determinar el promedio y desviación estándar de cada tratamiento.

11. Resultados

Un total de 69 caninos (39 hembras y 30 machos) participaron en el estudio como sujetos evaluadores. Los animales iniciaron el estudio clínicamente sanos, con un peso promedio de $19.4 \pm 14\text{Kg}$ (2–86 kg) y una edad promedio de 42.6 ± 29.3 meses.

Los puntajes totales para cada sabor fluctuaron entre 100 a 105 puntos. Los 69 sujetos evaluadores presentaron un comportamiento diferencial, el 30.4% (21/69) de ellos gustaron casi por igual de todos los sabores, totalizando desde 38 a 40 puntos entre los ocho sabores. En el otro extremo, un 20.3% (14/69) de sujetos evaluadores rechazaron casi todos los sabores. En este conjunto el sabor F alcanzó una puntuación promedio de 2.2. Los sujetos que discriminaron los sabores, que corresponde al 49.3% (34/69) nos permitieron identificar a los sabores preferidos: Sabor F con una preferencia promedio de 4.7 ± 0.9 ; Sabores D y E con una preferencia promedio de 4.4 ± 1.2 y 4.4 ± 1.3 respectivamente; Sabores B, C y H con una preferencia promedio de 3.7 ± 1.4 ; 3.6 ± 1.5 y 3.5 ± 1.8 respectivamente. Considerando la sumatoria de la puntuación otorgada por el jurado a partir del valor 3 al 5, el 85.5% de los perros prefirieron el sabor F, es decir 9 de cada 10 perros prefirieron el sabor F.

12. Conclusiones

Existe una tendencia a la preferencia del sabor F, considerándose su aceptación en una escala mayor a 3, por 9 de cada 10 perros.

13. Reacciones adversas

No se evidenciaron reacciones adversas.

14. Referencias bibliográficas

Araujo J.A., Milgram N.W. A novel cognitive palatability assessment protocol for dogs. *J ANIM SCI*, 82:2200-2208.

Elanco Animal Health. 2007. Freedom of Information Summary. Original New animal drug application. NADA 141-277.

Estares L.P. 1999. Prevalencia de ectoparásitos en Canis familiares en los distritos de San Juan de Lurigancho, San Martín de Porres, Comas, Independencia, Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. 21 p.

Farrell F. 1984a. Effects of restricted dietary flavor experience before weaning on postweaning food preference in puppies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8:191–198.

Farrell F. 1984b. Preference for sugars and nonnutritive sweeteners in young beagles. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8:199–203.