

INVESTIGACIÓN

Acceso libre

Evaluación de los efectos antialimentación e insecticida de una combinación de imidacloprid y permetrina para administración tópica (Advantix[®]) frente a *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus* (Newstead, 1911) en perros tras la administración mensual



Emilie Bouhsira^{1†}, Katrin Deuster^{2†}, Emmanuel Lienard¹, Christophe Le Sueur³ y Michel Franc¹

Resumen

Antecedentes: Se llevaron a cabo dos ensayos de laboratorio (estudios 1 y 2) con el fin de evaluar la eficacia de una combinación de imidacloprid y permetrina (Advantix[®] Spot-on, Bayer) para repeler y eliminar los flebótomos *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus* cuando se aplica de forma tópica una vez al mes a perros.

Métodos: En ambos estudios, se compararon perros tratados con una combinación que contenía 100 mg/ml de imidacloprid + 500 mg/ml de permetrina (Advantix[®] Spot-on, Bayer) y perros de control tratados con placebo. Los productos se administraron por vía tópica el día -28 (estudio 2) y el día 0 (estudios 1 y 2). Los perros fueron expuestos a 80 hembras de flebótomo que no se habían alimentado, antes del primer tratamiento, a efectos de asignación, y después del tratamiento, en los días del estudio (DE) 1, 7, 14, 21 y 28 (tras el primer o segundo tratamiento mensual para los estudios 1 y 2, respectivamente). Transcurridos 60 minutos, se evaluaron la mortalidad y el estado de ingurgitación de los flebótomos.

Resultados: La evaluación como repelente (efecto antialimentación) en los días posteriores a la infestación mostró eficacias del orden del 88,1 % al 99,3 % durante el primer mes y del 92,2 % al 98,9 % durante el segundo. Los análisis comparativos de los recuentos de flebótomos alimentados correspondientes a cada grupo de tratamiento pusieron de manifiesto una reducción muy significativa ($P < 0,0001$) en todos los puntos temporales posteriores a la infestación en el caso de los perros tratados con Advantix[®]. También se pudo demostrar un significativo efecto insecticida ($P < 0,0001$ en todos los puntos temporales). Durante el estudio, no se observaron acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento.

Conclusiones: En los presentes estudios, Advantix[®] Spot-on demostró que era seguro y proporcionaba un excelente efecto repelente durante 4 semanas frente a los flebótomos (*P. perniciosus*) $\geq 88,1$ % y $\geq 92,2$ % tras un primer y segundo tratamiento mensual, respectivamente. También se observó un significativo efecto insecticida.

* Correspondencia: katrin.deuster@bayer.com

† Colaboradores en igualdad de condiciones

²Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen (Alemania)

Al final del artículo se incluye la información completa sobre los autores



© Los autores. 2018 **Acceso libre** Este artículo se distribuye según los términos de la Licencia Internacional de Creative Commons Atribución 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que otorgue el crédito apropiado al autor o autores originales y a la fuente, proporcione un enlace a la licencia de Creative Commons e indique si se realizaron cambios. Los datos facilitados en este artículo están sujetos a dispensa de cesión completa al dominio público de Creative Commons (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>), excepto que se indique lo contrario.

Antecedentes

En Europa existe un número significativo de especies de flebotomos, con una distribución geográfica que depende de la temperatura, siendo más alta la probabilidad relativa de que esté presente *Phlebotomus perniciosus* en zonas donde la temperatura diurna en verano oscila entre 25 °C y 33 °C, mientras que la temperatura límite inferior se estima en 16,5 °C [1]. En las últimas décadas, se han observado cambios en su distribución, habiéndose capturado la especie en países más septentrionales y a mayor altitud [2–10]. *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus* (Diptera: Psychodidae) está presente actualmente en Bulgaria, Croacia, Francia, Macedonia, Malta, Portugal, España, el sur de Suiza y el oeste de Alemania, y recientemente se ha encontrado por primera vez en Andorra [8, 10]; su distribución geográfica ha aumentado en Italia [11, 12], y se prevé su expansión por España y Alemania debido a cambios climáticos que le son favorables [13, 14].

En el sudoeste de Europa y el noroeste de África, las hembras hematófagas de *P. perniciosus* son los vectores flebótomo más extendidos de *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), el protozoo parásito que causa la mayor parte de las leishmaniosis viscerales y cutáneas en los hospedadores reservorio humanos y caninos de la región [15–18]. Las hembras de flebotomos no parece que tengan una preferencia clara por un hospedador u otro, sino que se alimentan de forma oportunista en aquellos a los que tengan mayor facilidad de acceso. Por consiguiente, es probable que, en entornos urbanos y periurbanos, las personas y los perros domésticos sean los objetivos principales de los flebotomos [19]. En Europa se han notificado durante las últimas décadas otras infecciones transmitidas por flebotomos, a saber, flebovirus causantes de enfermedades en los seres humanos que van desde fiebres de corta duración y que remiten espontáneamente, hasta encefalitis y fiebre hemorrágica mortal [20, 21]. Y se teme una mayor propagación, dada la persistencia de los fenómenos subyacentes: desplazamientos de los vectores y los animales y cambios ambientales relacionados especialmente con el calentamiento global [10, 22, 23].

Se pueden prevenir las picaduras de flebotomos a perros mediante el uso de productos veterinarios tópicos eficaces que ejerzan un efecto repelente (p. ej., a base de permetrina) [24–27]. La suma de un efecto insecticida a los productos repelentes utilizados en perros reduce el riesgo de infección por *L. infantum* en seres humanos [28–30]. El objetivo de los presentes estudios fue confirmar la eficacia repelente e insecticida frente a los flebotomos (*P. perniciosus*) de una combinación que contiene 100 mg/ml de imidacloprid + 500 mg/ml de permetrina (Advantix® Spot-on, Bayer) en perros, tras un primer y un segundo tratamiento mensual.

Métodos

Se llevaron a cabo dos ensayos de laboratorio en la Escuela Nacional de Veterinaria de Toulouse (Francia). El agente utilizado en los estudios es un flebótomo común en la cuenca mediterránea y uno de los principales vectores de

leishmaniosis canina. No hay disponible ninguna alternativa a una evaluación *in vivo*.

Animales

Se utilizaron 14 perros Beagle adultos sanos en cada estudio (estudio 1: 10 hembras, 2 machos y 2 machos castrados, con pesos que oscilaban entre 8,31 kg y 12,90 kg en el momento de la inclusión; estudio 2: 11 hembras, 1 hembra esterilizada y 2 machos castrados, con pesos que oscilaban entre 8,63 kg y 11,14 kg en el momento de la inclusión). No habían estado expuestos a ectoparasitocidas de acción corta durante los 3 meses previos a la inclusión en estos estudios, y nunca habían sido tratados con ectoparasitocidas de acción prolongada. Los perros estuvieron alojados de acuerdo con la normativa de la Unión Europea sobre bienestar animal (aproximadamente 4m² por perro) en un entorno controlado con aproximadamente 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Cada perro se identificó mediante el número de un microchip implantado subcutáneamente. Fueron alimentados con raciones adecuadas de comida seca para perros disponible en el mercado y agua a voluntad. Los perros se mantuvieron y manipularon teniendo debidamente en cuenta su bienestar, y se permitió que se adaptaran al entorno durante 2 semanas antes del primer tratamiento. Se observó diariamente su estado de salud general a lo largo de su estudio respectivo y permanecieron sanos durante todo el periodo de participación.

Exposiciones al flebótomo

La variedad de flebótomo utilizada en este estudio procedía de Lisboa (Portugal) y se había mantenido en condiciones de laboratorio durante 10 años sin exponerla a ningún insecticida. Las hembras del flebótomo se alimentaron con sangre de conejo y las larvas se mantuvieron en un medio específico que contenía heces de conejo. El ciclo desde el huevo al adulto dura de 5 a 7 semanas, en condiciones óptimas de temperatura (25–30 °C) y humedad relativa (70 %–80 %).

La exposición al flebótomo se indujo con ejemplares adultos criados en laboratorio (solo hembras no alimentadas). Todos los animales se infestaron con hembras de *P. perniciosus* un total de seis veces. Las hembras de flebótomo se aspiraron desde su jaula de cría con una bomba de vacío 24 horas antes de cada infestación y se colocaron en redes adecuadas (80 por red) con acceso a algodón empapado en agua azucarada. Se las sometió a ayuno; para ello, se eliminó el algodón de las jaulas aproximadamente 2 horas antes de exponerlas a los perros. La primera infestación se realizó dentro de las 2 semanas previas al primer tratamiento y se hizo solo a efectos de asignación. Se realizaron cinco infestaciones postratamiento, los días 1, 7, 14, 21 y 28 después del primer y segundo tratamiento para los estudios 1 y 2, respectivamente. En cada día de infestación, los animales se pesaron y se sedaron mediante inyecciones intramusculares con una mezcla de dexmedetomidina (Dexdomitor®, Elanco Santé Animale, Lilly, Suresnes, Francia) y ketamina (Clorketam®, Laboratoire Vetoquinol S.A., Lure, Francia). Cuando los efectos de la anestesia fueron visibles, se les inyectó por vía intramuscular diazepam (Valium®, Roche inyectable, Neuilly s/ Seine,

Francia) con dosis de 4 µg/kg, 9 mg/kg y 5 mg/perro, respectivamente. Los perros se colocaron entonces en redes a prueba de infestación individuales que contenían los flebótomos. Cuando fue necesario, se les administró una nueva dosis de la combinación de dexmedetomidina y ketamina mediante inyección intramuscular. Una vez que el primer perro se introdujo en su red de infestación, la luz se atenuó. Durante la infestación, los perros tratados y los perros de control se colocaron en cubículos de infestación separados, con una temperatura de 18 °C a 27 °C y una humedad relativa de entre el 40 % y el 60 %.

Tras 60 minutos de exposición, los perros se sacaron cuidadosamente de la red y se examinaron para buscar flebótomos muertos (con o sin ingurgitación) y se devolvieron a su cubículo. Al final del periodo de exposición, se recogieron todos los flebótomos vivos y muertos y se contabilizaron los que habían ingurgitado sangre y los que no. El estado de ingurgitación se determinó mediante observación a simple vista de la distensión del abdomen y la presencia de sangre.

Tras cada exposición a los flebótomos, las redes se limpiaron minuciosamente.

Asignación y tratamiento

Cada estudio siguió un diseño de bloques aleatorizados basado en el número de flebótomos *P. perniciosus* con ingurgitación de sangre (vivos + muertos) recogidos de cada perro tras la infestación pretratamiento. Los perros que cumplían los criterios de inclusión se asignaron a uno de los grupos del estudio (7 perros por grupo) tras la primera infestación y antes del primer tratamiento. Los perros se clasificaron según el número de flebótomos con ingurgitación de sangre (vivos + muertos) en orden descendente. Se utilizó el número de identificación del animal para romper los vínculos. Los perros se colocaron entonces en bloques de dos animales y se asignaron aleatoriamente a 2 grupos mediante sorteo. Estudio 1: El grupo 1 recibió la dosis con el tamaño de pipeta recomendado (Advantix[®] Spot-on para perros de más de 4 kg hasta 10 kg o bien Advantix[®] Spot-on para perros de más de 10 kg hasta 25 kg) con lo que se aplicó ≥ 10 mg/kg de peso corporal (PC) de imidacloprid y ≥ 50 mg/kg PC de permetrina. Esta dosis corresponde a $\geq 0,1$ ml de Advantix[®] Spot-on por kg de PC. El grupo 2 recibió placebo. El tratamiento se realizó el día 0. Estudio 2: Al grupo 1 se le administró la dosis terapéutica mínima recomendada (10 mg/kg PC de imidacloprid y 50 mg/kg PC de permetrina). Esta dosis corresponde a 0,1 ml de Advantix[®] Spot-on por kg PC. El grupo 2 recibió placebo. El tratamiento se realizó los días -28 y 0. Para el cálculo de la dosis, el peso corporal de los perros se redondeó a dos decimales. Para todos los animales tratados en ambos estudios, el producto se administró de acuerdo con las instrucciones del fabricante: se apartó el pelo y se aplicó la formulación directamente sobre la piel. Los perros con peso $\leq 10,0$ kg se trataron con una pipeta entre las escápulas, mientras que los animales con peso $>10,0$ kg y hasta 20 kg (incluidos) recibieron el volumen de la dosis distribuido uniformemente entre cuatro puntos del lomo, desde el hombro hasta la base de la cola. Se tuvo cuidado de no derramar

ninguna cantidad de producto. Los perros se inmovilizaron durante aproximadamente 1 minuto tras la administración para permitir la dispersión del producto. Los perros se sometieron a observación 2 y 4 horas después del tratamiento para detectar cualquier posible reacción adversa al producto.

Análisis de los datos

Los datos recopilados en cada ocasión fueron el número de flebótomos vivos y con ingurgitación de sangre, vivos y sin ingurgitación de sangre, muertos y con ingurgitación de sangre, y muertos y sin ingurgitación de sangre. Los efectos se evaluaron por grupos (el número total de cada tipo de flebótomo en cada grupo de siete perros). La unidad estadística fue el perro individual.

Eficacia repelente (antialimentación)

La eficacia repelente de la combinación se evaluó comparando el número de flebótomos (vivos o muertos) que se habían alimentado en los animales tratados, con el número de flebótomos (vivos o muertos) que se habían alimentado en los animales del grupo de control con placebo, para cada día de infestación. La eficacia repelente se determinó de la siguiente manera:

$$\text{Eficacia repelente (\%)} = [(MFC - MFT) / MFC] \times 100$$

siendo MFC el número medio de flebótomos alimentados en los perros de control y MFT el número medio de flebótomos alimentados en los perros tratados.

Además del enfoque clásico consistente en evaluar el efecto del producto basado en la fórmula de Abbott y en ofrecer una medición del porcentaje de repelencia, se calculó la proporción de hembras alimentadas respecto a no alimentadas en cada punto temporal para cada estudio por separado.

Eficacia insecticida

La eficacia insecticida de la combinación (medida por el efecto de atenuación a los 60 minutos) se evaluó comparando el número de flebótomos vivos (tanto si se habían alimentado como si no lo habían hecho) en los animales tratados con la combinación, con el número de flebótomos vivos en los animales del grupo de control con placebo, para cada día de infestación (1 hora después de la infestación con el flebótomo).

La eficacia insecticida (1 hora después de la infestación) se determinó de la siguiente manera:

$$\text{Eficacia insecticida (\%)} = [(MLC - MLT) / MLC] \times 100$$

siendo MLC el número medio de flebótomos vivos en los perros de control y MLT el número medio de flebótomos vivos en los perros tratados.

Métodos estadísticos

Se generaron estadísticas descriptivas para ambos grupos del estudio en cada punto temporal de exposición después del tratamiento. Se calcularon tanto la media aritmética como la geométrica de los recuentos para ambos tipos de recuento de flebótomos (vivos y alimentados).

Se evaluaron las dos tendencias principales para los cálculos de eficacia (medias geométricas y medias aritméticas) mediante el examen de las distribuciones dentro de cada grupo de tratamiento para el recuento en cada punto temporal. Los datos con distribuciones aproximadamente normales indicarían que las medias aritméticas serían apropiadas para el cálculo de la eficacia, mientras que las distribuciones no normales sugerirían la necesidad de una transformación antes de calcular el porcentaje de eficacia.

Resultados

En los estudios no se observaron anomalías de salud relacionadas con el tratamiento.

Los recuentos tanto de flebótomos vivos como alimentados mostraron una distribución prácticamente normal, por lo que se utilizaron las medias aritméticas para calcular la eficacia, así como un método paramétrico de análisis de varianza (ANOVA) utilizando el grupo de tratamiento, ya que el único efecto fijo se aplicó al recuento real (no transformado) de flebótomos para cada período posterior a la infestación.

Se recuperaron grandes cantidades de flebótomos que se habían alimentado de todos los perros en la infestación para la asignación, lo que significaba que los perros de ambos estudios tenían una capacidad similar y elevada de retención de los parásitos antes del tratamiento. Posteriormente, todos los perros de control mantuvieron un número adecuado de hembras con ingurgitación a lo largo del estudio (con medias entre 57,9 y 68,6 de los 80 flebótomos; tabla 1). El número medio de flebótomos encontrados vivos en el grupo de control, 1 hora después de la exposición, se mantuvo elevado a lo largo del estudio: entre 75,0 y 77,4 flebótomos por perro de control, lo que apoya la solidez del modelo de exposición.

Tabla 1 Porcentaje de repelencia de *Phlebotomus perniciosus* en perros tratados con la combinación de imidacloprid y permetrina, basado en medias aritméticas

Día de exposición	Número de flebótomos con ingurgitación				Repelencia (%)	
	Perros de control		Perros tratados			
	Estudio 1	Estudio 2	Estudio 1	Estudio 2	Estudio 1	Estudio 2
1	58,6	57,9	0,4	2,0	99,3**	96,5**
7	62,0	62,6	1,9	0,7	97,0**	98,9**
14	64,6	63,0	7,7	2,3	88,1**	96,4**
21	65,4	63,9	7,7	5,0	88,2**	92,2**
28	68,6	63,9	6,0	4,4	91,3**	93,1**

** Diferencia estadísticamente significativa entre las medias de la población de los grupos de perros tratados y controles ($P < 0,0001$)

Repelencia (antialimentación)

En los grupos tratados con Advantix[®], los recuentos medios de flebótomos que se habían alimentado oscilaron entre 0,4 y 7,7 por punto temporal, mientras que los recuentos medios de flebótomos que se habían alimentado oscilaron entre 57,9 y 68,6 en los animales de control. Al final del periodo de exposición, los perros tratados tenían significativamente menos flebótomos que se había alimentado, en comparación con los perros de control, todos los días del estudio (ANOVA: $F_{(1,12)} > 72$, $P < 0,0001$ para todos los datos analizados). La repelencia de los flebótomos a los 60 min de la exposición fue del 99,3 %, 97,0 %, 88,1 %, 88,2 % y 91,3 % (estudio 1) y del 96,5 %, 98,9 %, 96,4 %, 92,2 % y 93,1 % (estudio 2) los días 1, 7, 14, 21 y 28, respectivamente (tabla 1).

El cálculo de la proporción de hembras alimentadas respecto a no alimentadas mostró valores elevados y una amplia distribución de las tasas de alimentación de *P. perniciosus* en los animales de control, en contraste con los agrupamientos homogéneos de muy bajas proporciones de hembras alimentadas respecto a no alimentadas en los perros tratados, en cada punto temporal, para ambos estudios (figuras 1 y 2).

Efecto insecticida

En los grupos tratados con Advantix[®], los recuentos medios de flebótomos que sobrevivieron a la exposición oscilaron entre 0 y 36,3 por punto temporal, mientras que los recuentos medios de flebótomos que se mantenían vivos oscilaron entre 74,0 y 76,7 en los animales de control. Al final del periodo de exposición, los perros tratados tenían significativamente menos flebótomos vivos, en comparación con los perros de control, todos los días del estudio en ambos estudios (ANOVA: $F_{(1,12)} > 86$, $P < 0,0001$ en todos los datos analizados). El efecto insecticida a los 60 min de la exposición fue del 100 %, 100 %, 93,6 %, 95,0 % y 79,1 % (Estudio 1) y del 76,8 %, 81,7 %, 73,0 %, 58,9 % y 52,3 % (Estudio 2) los días 1, 7, 14, 21 y 28, respectivamente.

Discusión

Una formulación comercial que contiene imidacloprid y permetrina (Advantix[®] Spot-on, Bayer), aplicada a la dosis mínima recomendada en la ficha técnica, presenta una significativa eficacia repelente (antialimentación) frente al flebótomo *P. perniciosus* durante las 4 semanas posteriores a su aplicación mensual en perros. Se observó una eficacia antialimentación sostenida $\geq 88,1$ % y $\geq 92,2$ % entre los días 1 a 28 tras el primer y segundo tratamiento mensual, respectivamente. Miró [31] evaluó la actividad de la misma combinación tras un único tratamiento tópico y notificó una eficacia antialimentación $> 92,7$ % durante 3 semanas (basada en las medias aritméticas) con una eficacia ligeramente por debajo del umbral del 80 % el día 28. Las autoridades reguladoras consideran una eficacia antialimentación por encima del 80 % como el umbral mínimo, con unos niveles que deben preferentemente superar el 90 % [32]. Las proporciones muy bajas de hembras alimentadas respecto a no alimentadas que se observaron en los perros tratados de ambos estudios indican claramente un potente efecto continuado para prevenir que *P. perniciosus* se alimente de la sangre de los perros. Estos resultados de laboratorio están respaldados por los datos de campo obtenidos por Otranto et al. [29]. Los

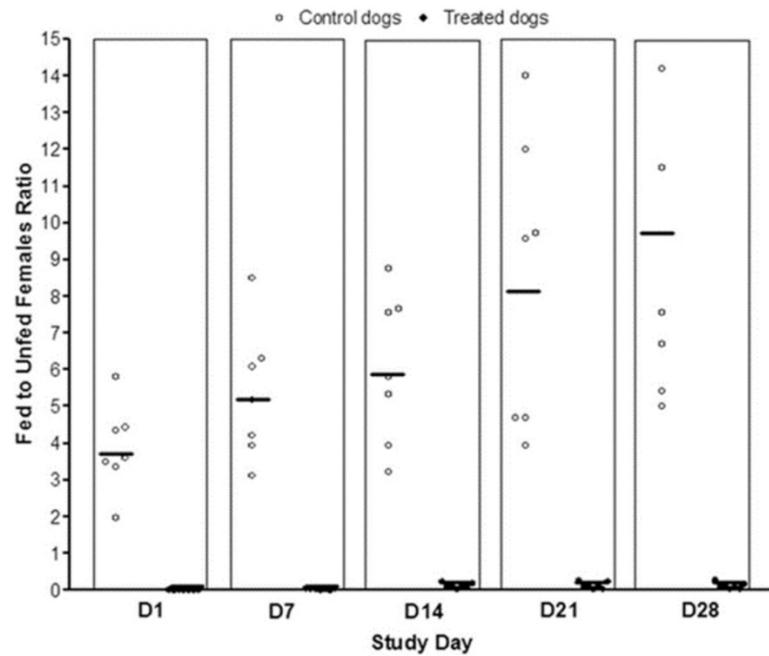


Figura 1 Proporciones de hembras alimentadas respecto a no alimentadas en el estudio 1. La media de las proporciones (barras) para los perros de control se muestra a la izquierda y la de los perros tratados a la derecha de cada columna. No se muestra un valor para la relación alimentadas/no alimentadas mayor de 15,0 en un perro de control no tratado, aunque se incluyó en la media del cálculo de proporciones (DE28 = 25,0)

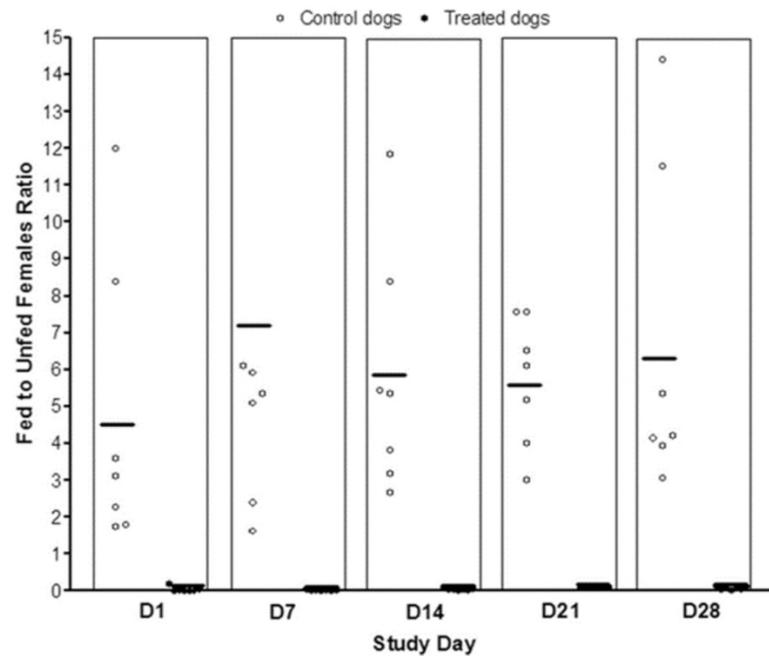


Figura 2 Proporciones de hembras alimentadas respecto a no alimentadas en el estudio 2. La media de las proporciones (barras) para los perros de control se muestra a la izquierda y la de los perros tratados a la derecha de cada columna. No se muestra un valor para la relación alimentadas/no alimentadas mayor de 15,0 en un perro de control no tratado, aunque se incluyó en la media del cálculo de proporciones (DE7 = 25,3)

resultados demuestran que Advantix[®] Spot-on reduce significativamente el riesgo de transmisión de *Leishmania* en condiciones naturales en zonas endémicas. Se obtuvo una reducción del 88,9 % en la infección por *Leishmania infantum* en perros tratados con Advantix[®] Spot-on, con tasas de incidencia de infección significativamente menores que en el grupo de control no tratado ($P < 0,05$).

Los resultados obtenidos en estos y otros estudios confirman que los tratamientos mensuales regulares durante el periodo de actividad de los flebótomos tienen niveles de eficacia elevados y constantes y ayudan a prevenir las infestaciones y la transmisión de *Leishmania infantum* en perros. El mismo nivel de eficacia se observó en otros estudios similares que evaluaron otras combinaciones tópicas que incluían permetrina [33, 34]. La eficacia insecticida a corto plazo (efecto de atenuación) se evaluó como un segundo parámetro y fue $\geq 93,6$ % durante las tres semanas posteriores al tratamiento, reduciéndose hasta el 79,1 % en la cuarta semana en el estudio 1. En el estudio 2 se observó una eficacia insecticida a corto plazo menor ($\geq 73,0$ %) para las 2 semanas posteriores al tratamiento, eficacia que se redujo al 60 % a partir de ese momento. El efecto de atenuación obtenido aquí concuerda con los resultados observados en estudios equivalentes para otros productos que contienen permetrina [35].

Conclusiones

La combinación de imidacloprid y permetrina demostró un efecto repelente significativo frente a las picaduras de *P. perniciosus* en perros, que se mantuvo durante 4 semanas tras el primer tratamiento. Se demostró que la eficacia repelente se mantenía también durante 4 semanas tras el segundo tratamiento. Por tanto, los resultados indican que, en zonas endémicas, la aplicación de este producto cada cuatro semanas a lo largo de la temporada de los vectores sería una buena herramienta para reducir significativamente las picaduras de flebótomos. Por consiguiente, debería incluirse en un programa integrado de control de la leishmaniosis en perros. La formación de los propietarios sobre patógenos transmitidos por artrópodos y la importancia de tales programas de prevención es primordial para aumentar el cumplimiento, y se prevé que tendrá cada vez más importancia con la propagación prevista de los vectores en zonas actualmente no endémicas.

Agradecimientos

Los autores agradecen sinceramente al Profesor Luigi Gradoni la elaboración de los gráficos sobre las proporciones de hembras de flebótomo. Nuestro especial agradecimiento a Martine Roques y Sonia Gounaud, que participaron en este estudio, aseguraron el mantenimiento de la colonia de flebótomos y garantizaron el cumplimiento de las normas de BPC, y a Terry Settle, que compiló y analizó los datos.

Financiación

Este estudio fue financiado por Bayer Animal Health.

Disponibilidad de datos y materiales

Los conjuntos de datos utilizados y analizados en los presentes estudios están disponibles bajo petición razonable al autor correspondiente.

Contribuciones de los autores

KD, MF, EB y CLS participaron en el diseño del estudio y la elaboración del protocolo. EB, EL y MF llevaron a cabo el estudio. KD redactó el primer borrador del artículo, que luego fue revisado en profundidad por EB y después por todos los autores. Todos los autores han leído y aprobado la versión final del artículo.

Aprobación del comité de ética y consentimiento para participar

Los ensayos fueron aprobados por el comité de ética local (Science et Santé Animale, SSA, número de contrato: 115) y se realizaron conforme a las buenas prácticas clínicas (BPC) según se describen en la directriz 9 de la Conferencia Internacional sobre Armonización de los Requisitos Técnicos para el registro de Medicamentos de Uso Veterinario (VICH) [36].

Consentimiento para la publicación

No procede.

Conflictos de intereses

Los autores son empleados o personal contratado de Bayer Animal Health. Advantix[®] es una marca comercial registrada de Bayer Animal Health. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Este documento se proporciona solo con fines científicos. Cualquier referencia a una marca o marca registrada en este documento es solo para fines informativos y no está destinada a un propósito comercial ni a reducir los derechos de los respectivos propietarios de las marcas o marcas comerciales.

Nota del editor

Springer Nature se mantiene neutral con respecto a las reclamaciones jurisdiccionales en mapas publicados y afiliaciones institucionales.

Información sobre los autores

¹Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 31076 Toulouse Cedex (Francia). ²Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen (Alemania). ³Bayer Animal Health, 92254 La Garenne Colomnes (Francia).

Responsable traducción: Bayer

<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2690-2>

Recibido: 26 de abril de 2017 Aceptado: 31 de enero de 2018

Publicado en Internet: 02 de marzo de 2018

Bibliografía

- Signorini M, Cassini R, Drigo M, Frangipane di Regalbono A, Pietrobelli M, Montarsi F, Stensgaard AS. Ecological niche model of *Phlebotomus perniciosus*, the main vector of canine leishmaniasis in north-eastern Italy. *Geospat Health*. 2014;9(1):193-201.
- Aransay AM, Testa JM, Morillas-Marquez F, Lucientes J, Ready PD. Distribution of sand fly species in relation to canine leishmaniasis from the Ebro Valley to Valencia, northeastern Spain. *Parasitol Res*. 2004;94(6):416-20.
- Depaquit J, Naucke TJ, Schmitt C, Ferte H, Leger N. A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, Diptera, Psychodidae) inferred from ND4 mtDNA with new northern records of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908. *Parasitol Res*. 2005;95(2):113-6.
- Naucke TJ, Menn B, Massberg D, Lorentz S. Sandflies and leishmaniasis in Germany. *Parasitol Res*. 2008a;103(Suppl. 1):S65-8.
- Naucke TJ, Menn B, Massberg D, Lorentz S. Winter activity of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascitti* Grassi, 1908 (Diptera: Psychodidae) on the Island of Corsica. *Parasitol Res*. 2008b;103(2):477-9.
- Naucke TJ, Lorentz S, Rauchenwald F, Aspöck H. *Phlebotomus (Transphlebotomus) masciati* Grassi, 1908, in Carinthia: first record of the occurrence of sand flies in Austria (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Parasitol Res*. 2011;109(4):1161-4.
- Dereure J, Vanwaambeke SO, Male P, Martinez S, Pralong F, Balard Y, et al. The potential effects of global warming on changes in canine leishmaniasis in a focus outside the classical area of the disease in southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2009;9(6):687-94.
- Ballart C, Baron S, Alcocer MM, Portus M, Gallego M. Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Andorra: first finding of *P. perniciosus* and wide distribution of *P. ariasi*. *Act Trop*. 2012;122(1):155-9.
- Kasbari M, Ravel C, Harold N, Pesson B, Schaffner F, Depaquit J. Possibility of leishmaniasis transmission in Jura, France. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(6):1030.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Phlebotomine sandflies maps: *Phlebotomus perniciosus* - current known distribution in Europe, April 2017; Available from: <https://ecdc.europa.eu/en>, last Accessed 14 Aug 2017.
- Rossi E, Rinaldi L, Musella V, Veneziano V, Carbone S, Gradoni L, et al. Mapping the main *Leishmania* phlebotomine vector in the endemic focus of the Mt. Vesuvius in southern Italy. *Geospat Health*. 2007;1(2):191-8.
- Maroli M, Rossi L, Baldelli R, Capelli G, Ferroglio E, Genchi C, et al. The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Tropical Med Int Health*. 2008;13(2):256-64.
- Fisher D, Thomas SM, Beierkuhnlein C. Temperature-derived potential for the establishment of phlebotomine sand flies and visceral leishmaniasis in Germany. *Geospat Health*. 2015;5(1):59-69.
- Galvez R, Descalzo MA, Guerrero I, Miro G, Molina R. Mapping the current distribution and predicted spread of the leishmaniasis sand fly vector in the Madrid region (Spain) based on environmental variables and expected climate change. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011;11(7):799-806.
- Rioux JA, Lanotte G. *Leishmania infantum* as a cause of cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1990;84:898.
- Beugnet F, Marié JL. Emerging anthropod-borne diseases of companion animals in Europe. *Vet Parasitol*. 2009;163(4):298-305.
- Biglino A, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, Ferroglio E. Asymptomatic *Leishmania infantum* infection in an area of northwestern Italy (Piedmont region) where such infections are traditionally nonendemic. *J Clin Microbiol*. 2010;48:131-6.
- Aoun K, Bouratbine A. Cutaneous leishmaniasis in North Africa: a review. *Parasite*. 2014;21:14.
- Cotteaux-Lautard C, Leparç-Goffart I, Berenger JM, Plumet S, Pages F. Phenology and host preferences *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Phlebotominae) in a focus of Toscana virus (TOSV) in South of France. *Acta Trop*. 2016;153:64-9.
- Bichaud L, Izri A, de Lamballerie X, Moureau G, Charrel RN. First detection of Toscana virus in Corsica, France. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(2):O101-4.
- Faucher B, Bichaud L, Charrel R, Mary C, Izri A, de Lamballerie X, Piarroux R. Presence of sand flies infected with *Leishmania infantum* and Massilia virus in the Marseille urban area. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(5):O340-3.
- Semenza JC, Menne B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:365-75.
- Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol*. 2012;27:123-47.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol*. 2009; 165(1-2): 1-18.
- Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, Crotti A, Lubas G, et al. Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2010;236(11):1200-6.
- Gramiccia M. Recent advances in leishmaniasis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Vet Parasitol*. 2011;181(1):23-30.
- Beugnet F, Franc M. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. *Trends Parasitol*. 2012;28(7):267-79.
- Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereure J, Puech MP, Cadiegues MC. Protection of dogs from bites of phlebotomine sand flies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol*. 1997;11(2):105-11.
- Otranto D, Paradise P, Lia RP, Latrofa MS, Testini G, Cantacessi C, et al. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/ 50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Vet Parasitol*. 2007;144(3-4):270-8.
- Quinnell RJ, Courtney O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*. 2009;136(14):1915-34.
- Miró G, Gálvez R, Mateo M, Montoya A, Descalzo MA, Molina R. Evaluation of the efficacy of a tropically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Vet Parasitol*. 2007;143(3-4):375-9.
- Directive 81/852/EEC, 7AE17a Volume 7, Demonstration of efficacy of ectoparasiticides, September 1994.
- Lienard E, Bouhsira E, Jacquiet P, Warin S, Kaltsatos V, Franc M. Efficacy of dinotefuran, permethrin and pyriproxyfen combination spot-on on dogs against *Phlebotomus perniciosus* and *Crenocephalides canis*. *Parasitol Res*. 2013;112:3799-805.
- Dumont P, Frankhauser B, Bouhsira E, Lienard E, Jacquiet P, Beugnet F, Franc M. Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against the main vector of canine leishmaniasis in Europe (*Phlebotomus perniciosus*). *Parasit Vectors*. 2015;8:49.
- Mercier P, Jamin P, Sanquer A. Prevention of sandfly attack by tropical application of a permethrin/pyriproxyfen combination on dogs. *Vet There*. 2003;4:309-16.
- VICH Guideline 9: Good Clinical Practice. Veterinary International Cooperation on Harmonization, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, CVMP/ViCH/595/98-Final, June 2000.

Envíe su próximo artículo a BioMed Central y le ayudaremos paso a paso:

- Aceptamos consultas previas al envío
- Nuestra herramienta de selección le ayuda a encontrar la revista más relevante
- Brindamos asistencia al cliente las 24 horas
- Un cómodo envío por Internet
- Una escrupulosa revisión por expertos
- Inclusión en PubMed y todos los principales servicios de indexación
- Máxima visibilidad de su investigación

Envíe su manuscrito a
www.biomedcentral.com/submit

