

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

**Eficácia de uma Formulação “Spray” de Fipronil Associado ao Piriproxifen
no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) e *Rhipicephalus
sanguineus sensu lato* (Latreille, 1806) em Cães Artificialmente Infestados**

Diefrey Ribeiro Campos

2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFICÁCIA DE UMA FORMULAÇÃO “SPRAY” DE FIPRONIL
ASSOCIADO AO PIRIPROXIFEN NO CONTROLE DE *Ctenocephalides
felis felis* (Bouché, 1835) e *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Latreille,
1806) EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS**

Diefrey Ribeiro Campos

Sob a orientação do Professor
Fabio Barbour Scott

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor** em
Ciências, no Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ

Março, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Diefrey Ribeiro Campos

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 27/03/2018.



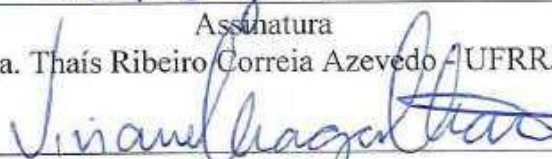
Assinatura

Ph.D. Fabio Barbour Scott – UFRRJ
(Orientador)



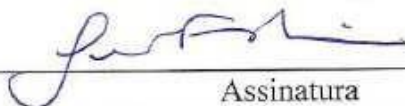
Assinatura

Dra. Thaís Ribeiro Correia Azevedo - UFRRJ



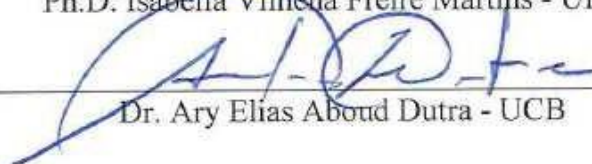
Assinatura

Dr. Viviane de Souza Magalhães -UFRRJ



Assinatura

Ph.D. Isabella Vilhena Freire Martins - UFES



Dr. Ary Elias Aboud Dutra - UCB

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C198e CAMPOS, DIEFREY RIBEIRO, 1988-
Eficácia de uma formulação "Spray" de Fipronil
Associado ao Piriproxifen no Controle de
Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835) e
Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Latreille, 1806)
em Cães Artificialmente Infestados / DIEFREY RIBEIRO
CAMPOS. - 2018.
82 f.

Orientador: Fabio Barbour Scott.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias, 2018.

1. Carrapatos. 2. Pulgas. 3. Speed of Kill. 4.
Regulador de Crescimento de Insetos. 5. Tratamento.
I. Scott, Fabio Barbour, 1966-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias III.
Titulo.

*Aos meus pais
À minha querida avó
Aos meus gatos Horácio, Amy, Tobias, Alice, Fígaro e Jasmim*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus por ter me sustentado e dado forças para superar as dificuldades e por permitir mais essa vitória.

Aos meus pais, Edimar Pedro Campos e Maria Ines Ribeiro Campos, e meu irmão Rhuan Ribeiro Campos, que sempre estiveram comigo me apoiando e ajudando em todos os momentos da minha vida.

Ao Venícios Oliveira Alves por toda a paciência, carinho, incentivo e compreensão em todos os momentos.

À meu Orientador Fabio Barbour Scott pela amizade, por ter me dado a oportunidade e acreditado em mim para a realização deste sonho.

Aos professores Isabella Vilhena Freire Martins, Julio Israel Fernandes, Thaís Ribeiro Correia Azevedo e Heloisa Justen Moreira de Sousa por todas as oportunidades, orientações e ensinamentos.

À Aline Pereira Neves da Costa, Barbara Rauta de Avelar, Brena Gava Guimarães, Caroline Muniz Cunha Rodrigues, Gabriela Salça Pereira de Almeida, Gabriele Bernardo Amaral, Jéssica Karoline Oliveira Chaves, Monique Moraes Lambert, Rayane Christine Pereira de Assis, Rosângela Rodrigues Santos, grandes amigos que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária Mariana Silva Revoredo Alves, Debora Azevedo Borges, Priscila Cardim de Oliveira, Paula de Abreu Moraes, Tatiane Paula da Silva, Alana Cristina Oliveira Francisco, Rafaela Rodrigues Vizzoni, Jéssica de Souza Lobato, Anne Marie Yasui, Gabriela de Oliveira Ferreira, Viviane de Souza Magalhães, Profa. Yara Peluso Cid e Profa. Katherina Coumendouros.

Agradeço também aos estagiários bolsistas, Maria Natalia Corteletti Martins, Patricia Oliveira, Nathália Alves de Senne, Nathalia Alecrim Vilella, Isabela Pessôa Barbieri Bastos, Ana Beatriz Domingues de Carvalho, Gustavo Farias Parreiras de Andrade, Thalita Xavier de Araújo da Silva, Renan Bernardes Tavares, Manuela Silva Gomes de Souza, Roxanne Marina da Silva Roque pela amizade e ajuda fundamental no LQEPV.

À Ceva Saúde Animal Ltda. pelo fornecimento dos produtos utilizados neste estudo.

Ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo apoio financeiro recebido para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!!

BIOGRAFIA

Diefrey Ribeiro Campos, filho de Edimar Pedro Campos e Maria Inês Ribeiro Campos, nascido em 10 de março de 1988, no município de Nova Venécia, Estado do Espírito Santo.

Cursou o ensino fundamental na Escola Municipal de Ensino Fundamental São Cristovão em Nova Venécia – ES. O ensino médio foi cursado na Escola Municipal de Ensino Fundamental e Médio Veneciano também no município de Nova Venécia-ES.

No ano de 2007 ingressou no Curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo em Alegre -ES. Durante a graduação foi monitor voluntário das disciplinas de Bioquímica Veterinária, Fisiologia Veterinária, Histologia Básica e Embriologia, Histologia Veterinária e Nutrição Animal Básica e Clínica. Foi bolsista de Iniciação Científica durante três anos na graduação (2008 – 2011), trabalhando com Biologia e Diagnóstico de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Diplomando-se em fevereiro de 2012.

Em 2012 foi aprovada no Processo de Seleção para o Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, nível Mestrado, na Universidade Federal do Espírito Santo sob orientação da Professora Isabella Vilhena Freire Martins e Co-Orientação da Professora Karina Preising Aptekamann, sendo bolsista CAPES entre março de 2012 e fevereiro de 2014.

Durante o período de Mestrado foi monitor das Disciplinas de Técnica Cirúrgica e Clínica Cirúrgica de Animais de Companhia. Também atuou como Clínico Veterinário no Hospital Veterinário de Pequenos Animais-UFES. Foi professor voluntário das Disciplinas de Biofísica Básica e Fisiologia Animal Comparada do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Espírito Santo no período de 2013/2.

Em março de 2014 foi aprovado para ingresso no doutorado em Ciências Veterinárias pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do professor Fabio Barbour Scott, sendo bolsista CNPq. Em 2015 iniciou a Especialização *lato sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica dos Felinos Domésticos e concluiu em 2017. Desde de 2016 atua como preceptor no Programa de Residência Multiprofissional na Área de Saúde – Área de Concentração em Diagnóstico em Parasitologia Animal.

RESUMO

Campos, Diefrey Ribeiro. **Eficácia de uma Formulação “Spray” de Fipronil Associado ao Piriproxifen no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) e *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Latreille, 1806) em Cães Artificialmente Infestados** 2018. 98 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um produto na formulação em “spray” contendo a associação de fipronil e piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*. Este trabalho consistiu em três estudos distintos e em todos os cães do grupo tratado receberam pela via tópica (“spray”), a associação de fipronil e piriproxifen nas concentrações de 7,5 e 4,44 mg/kg respectivamente. Os animais do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento. Para a avaliação da eficácia pulicida e carrapaticida foram utilizados 14 cães, divididos em dois grupos experimentais. As infestações foram realizadas com 100 exemplares de *C. felis felis* e 50 de *R. sanguineus*, e ocorreram nos dias: +5, +12, +19, +23, +26, +33, +40, +47, +54, +61, +68 e +75. As avaliações para o cálculo de eficácia ocorreram nos dias: +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70 e +77. A eficácia carrapaticida foi superior a 90% por até 28 dias, enquanto a eficácia pulicida foi superior a 90% por até 63 dias. Para a avaliação da ação “speed of kill” foram selecionados 36 cães, divididos em seis grupos experimentais. Os cães foram infestados nos dias -2, +5, +12, +19 e +26 com 100 exemplares de *C. felis felis* e 50 de *R. sanguineus*. As avaliações foram realizadas nos tempos de duas, quatro e 24 horas após o tratamento e infestações por um período de 28 dias. As datas de contagem dos parasitos para a determinação da eficácia foi nos dias experimentais 0, +1, +7, +8, +14, +15, +21, +22, +28, +29. a associação não apresentou eficácia maior que 90% em nenhum dos momentos experimentais. Contudo, no que se trata da eficácia pulicida a eficácia foi superior a 90% no grupo de avaliação com duas horas por sete dias, no grupo com avaliação com quatro horas por 14 dias e no grupo com avaliação com 24 horas durante 28 dias. Para o estudo da ação na inibição do desenvolvimento de ovo a adulto de *C. felis felis* foram utilizados 12 cães, formaram-se dois grupos experimentais. As infestações com 200 exemplares de *C. felis felis* ocorreram nos dias: -7, -2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91 e +98. As avaliações para o cálculo de eficácia pulicida e coleta dos ovos dos canis foram realizados nos dias +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101. Os ovos recuperados foram incubados em duas repetições contendo 20 ovos, por um período de 30 dias. Após esse período, foi realizada a contagem do número de pulgas adultas emergidas em cada repetição para determinar o percentual de emergência. A associação testada apresentou eficácia superior a 90% no mortalidade de adultos de *C. felis felis* por até 45 dias, reduziu a produção de ovos por 52 dias e a emergência de adultos por 66 dias. A associação testada foi eficaz para o controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

Palavras chaves: Carrapatos; Pulgas; “Speed of kill”; Regulador de Crescimento de Insetos; Tratamento

ABSTRACT

Campos, Diefrey Ribeiro 2018. **Efficacy of a Spray Formulation Containing Fipronil Associated with Piriproxifen in the Control of *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) and *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Latreille, 1806) in Artificially Infested Dogs.** 98p. Thesis (Doctor in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The objective of this work was to evaluate the efficacy of a product in the spray formulation containing the combination of fipronil and pyriproxyfen in the control of *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*. This study consisted of three distinct studies, and the combination of fipronil and pyriproxyfen at the concentrations of 7.5 and 4,44mg/kg respectively, was administered to all dogs in the treated group. The animals in the control group did not receive any type of treatment. For the evaluation of pulicidal and acaricidal efficacy, 14 dogs were used, divided into two experimental groups. The infestations were carried out with 100 specimens of *C. felis felis* and 50 of *R. sanguineus*, and occurred on days: +5, +12, +19, +23, +26, +33, +40, +47, +54, +61, +68 and +75. The evaluations for the calculation of effectiveness occurred on days: +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70 and +77. The acaricidal efficacy was greater than 90% for up to 28 days, while the pulicidal efficacy was greater than 90% for up to 63 days. For the evaluation of the action of speed of kill 36 dogs were selected, divided in six experimental groups. Dogs were infested on days -2, +5, +12, +19 and +26 with 100 specimens of *C. felis felis* and 50 of *R. sanguineus*. The evaluations were carried out at two, four and 24 hours after treatment and infestations for a period of 28 days. The counting dates of the parasites for the determination of efficacy were on the experimental days 0, +1, +7, +8, +14, +15, +21, +22, +28, +29. Regarding the acaricidal efficacy, the association did not show efficacy greater than 90% in any of the experimental moments. However, in terms of pulicidal efficacy was greater than 90% in the two-hour assessment group for seven days, in the four-hour assessment group for 14 days, and in the 24-hour assessment group for 28 days. For the study of the action in the inhibition of the development of egg to adult of *C. felis felis* were used 12 dogs, forming two experimental groups. Infestations with 200 specimens of *C. felis felis* occurred on days: -7, -2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91 and +98. The evaluations for the calculation of pulicidal efficacy and collection of kennel eggs were performed on days +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 and +101. The recovered eggs were incubated in two repetitions containing 20 eggs, for a period of 30 days. After this period, the number of emerged adult fleas was counted in each repetition to determine the emergency percentage. The association tested showed more than 90% efficacy in control of *C. felis felis* adults for up to 45 days, reduced egg production by 52 days and emergence of adults for 66 days. The association tested is effective for the control of *R. sanguineus* and *C. felis felis* in artificially infested dogs.

Key words: Ticks; Fleas; Speed of kill; Insect Growth Regulator, Treatment

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da molécula de fipronil	8
Figura 2. Fórmula estrutural do piriproxifen	11
Figura 3. Eficácia geométrica para o carrapato (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray”	22
Figura 4. Eficácia geométrica para a pulga (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”	23
Figura 5. Eficácia geométrica para o carrapato (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray” nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações	32
Figura 6. Eficácia geométrica para a pulga (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray” nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações	34
Figura 7. Eficácia geométrica para a pulga (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”	44
Figura 8. Eficácia geométrica para recuperação de ovos da pulga (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”	45
Figura 9. Eficácia geométrica para emergência de pulgas adultas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil-piriproxifen.	21
Tabela 2. Média geométrica da contagem de carrapatos (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) vivos e fixados nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen.	21
Tabela 3. Média geométrica da contagem de pulgas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen.	23
Tabela 4. Número de animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil-piriproxifen.	31
Tabela 5. Média geométrica da contagem de carrapatos (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) vivos e fixados nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações..	32
Tabela 6. Média geométrica da contagem de pulgas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações	33
Tabela 7. Identificação dos animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil e piriproxifen.	43
Tabela 8. Média geométrica da contagem de pulgas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil- piriproxifen.	43
Tabela 9. Média geométrica da contagem de ovos de pulgas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) nos canis dos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “Spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen sobre a produção de ovos	45
Tabela 10. Média geométrica do número de pulgas adultas (<i>Ctenocephalides felis felis</i>) emergidas, percentual da emergência dos ovos incubados do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen sobre a emergência de pulgas adultas.	46

LISTA DE ABREVIACES

Ache – Acetilcolinesterase

AHJ – Análogo do Hormonio Julvenil de Artrópodes

BHC – Hexaclorobenzeno

BOD – Demanda Bioquimica de Oxignio

CEUA – Comitê detica em Utilização de Animais

DAPE – Dermatite Alérgica a Presença de Ectoparasito

DAPP – Dermatite Alérgica a Picada de Pulga

DDT – Diclorodietiltricloroetano

EP – Eficácia Pulcida

FeLV – Vírus da Leucemia Felina

FIV – Vírus da Imunodeficiencia Felina

GABA – cido gamaaminobutrico

GC – Grupo Controle

GT – Grupo Tratado

ISQ – Inibidor da Síntese de Quitina

IV – Instituto de Veterinária

LQEPV – Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

IGR – Regulador de Crescimento de Insetos

TNT – Tecido não tecido

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i>	2
2.1.1 Biologia e Ecologia	2
2.1.2 Importância Veterinária e Médica	4
2.2 <i>Ctenocephalides felis felis</i>	4
2.2.1 Biologia e Ecologia	4
2.2.2 Importância Veterinária e Médica	6
2.3 Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	6
2.3.1 Controle químico: principais ectoparasiticidas presentes no Brasil	7
2.3.1.1 Organoclorados, Carbamatos e Organofosforados	7
2.3.1.2 Formamidinas.....	7
2.3.1.3 Piretrinas e Piretróides	7
2.3.1.4 Fenilpirazoles	8
2.3.1.5 Lactonas macrocíclicas	9
2.3.1.6 Semicarbazona	10
2.3.1.7 Oxadiazinas	10
2.3.1.8 Spinosinas	10
2.3.1.9 Reguladores de crescimento de insetos	11
2.3.1.10 Neonicotinóides.....	12
2.3.1.11 Isoxazolinás.....	12
2.3.2 Formulações veterinárias contendo ectoparasiticidas	12
CAPÍTULO I	14
EFICÁCIA ADULTICIDA PARA <i>Ctenocephalides felis felis</i> E <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> DA ASSOCIAÇÃO FIPRONIL-PIRIPROXIFEN NA FORMULAÇÃO “SPRAY” EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 MATERIAL E MÉTODOS	18
2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais	18
2.2 Seleção e Manejo dos Cães	18
2.3 Infestações	18

2.4 Contagem de Ectoparasitos	18
2.5 Randomização	19
2.6 Tratamento	19
2.7 Avaliação da Eficácia Adulticida	19
2.8 Análise Estatística	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
CAPÍTULO II	25
EFICÁCIA “SPEED OF KILL” DA ASSOCIAÇÃO DE FIPRONIL-PIRIPROXIFEN NA FORMULAÇÃO “SPRAY” SOBRE <i>Ctenocephalides felis felis</i> E <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
1 INTRODUÇÃO	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais.....	29
2.2 Seleção e Manejo dos Cães	29
2.2 Randomização	29
2.3 Infestações.....	29
2.4 Contagem de Ectoparasitos	30
2.5 Tratamento	30
2.6 Avaliação da Eficácia	30
2.7 Análise Estatística	30
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CAPÍTULO III	35
EFICÁCIA DA FORMULAÇÃO “SPRAY” CONTENDO FIPRONIL ASSOCIADO AO PIRIPROXIFEN EMPREGADO EM CÃES NA INTERRUÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVO A ADULTO (AÇÃO IGR) DE <i>Ctenocephalides felis felis</i>	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
1 INTRODUÇÃO	38
2 MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais.....	40
2.2 Seleção e Manejo dos Cães	40
2.3 Infestações.....	40
2.4 Contagem de Pulgas	40

2.5 Ranqueamento	41
2.6 Tratamento	41
2.7 Avaliação da Eficácia Pulicida	41
2.8 Avaliação da Inibição do Desenvolvimento	41
2.8 Análise Estatística	42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
CONCLUSÃO	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	67
Anexo A. Certificado de Aprovação na CEUA-IV-UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia Pulicida para <i>Ctenocephalides felis felis</i> e Carrapaticida para <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> de um produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen em Cães Artificialmente Infestados.”	67
Anexo B. Errata do Certificado de Aprovação na CEUA-IV–UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia Pulicida para <i>Ctenocephalides felis felis</i> e Carrapaticida para <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> de um produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen em Cães Artificialmente Infestados.”	68
Anexo C. Valores das contagens individuais de carrapatos da espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , adultos, vivos e fixados recuperados sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “Spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.....	69
Anexo D. Valores das contagens individuais de pulgas vivas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “Spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.	70
Anexo E. Certificado de Aprovação na CEUA/IV–UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia “Speed Of Kill” – Ação Imediata – do Produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen sobre <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> em Cães”	71
Anexo F. Valores das contagens individuais de carrapatos da espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , adultos, vivos e fixados recuperados sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, nos tempos de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.....	72
Anexo G. Valores das contagens individuais de pulgas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> , adultas vivas recuperadas sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, nos tempos de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.....	73
Anexo H. Certificado de Aprovação na CEUA-IV–UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia do Produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen Empregado em Cães na Interrupção do Desenvolvimento de Ovo à Adulto (Ação IGR) de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .”	74
Anexo I. Valores das contagens individuais de pulgas vivas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.....	75

Anexo J. Valores das contagens individuais de ovos de pulgas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.....	76
Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto.....	77
Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto. (continuação 1).....	78
Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto. (continuação 2).....	79
Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões	80
Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões (continuação 1)	81
Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões (continuação 2)	82

1 INTRODUÇÃO

Carrapatos e pulgas são os ectoparasitos mais prevalentes em todo o mundo. No Brasil, se destacam com maior importância a espécie de carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) e a pulga *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae).

Estes dois parasitos estão envolvidos na transmissão de diversos agentes patogênicos para animais de companhia e para o homem. Devido a maior proximidade de cães com seus tutores, é crescente a preocupação dos órgãos de saúde pública, com doenças transmitidas por estes artrópodes ao homem. Além da transmissão de agentes patogênicos, causam grande irritabilidade e espoliação de seus hospedeiros devido a seu hábito hematófago. Sua presença em cães pode estar relacionada ao desenvolvimento de um quadro de hipersensibilidade do tipo I a antígenos que compõe a saliva destes parasitos. Nestes casos o animal desenvolve prurido intenso predispondo a formação de áreas alopecicas e a infecção secundária da pele por bactérias ou fungos.

O controle de pulgas e carrapatos sempre é considerado um desafio para médicos veterinários e tutores de cães e gatos. Apenas 5% do total de parasitos estão presentes sobre o animal, enquanto os 95% restante estão no ambiente nas suas formas evolutivas não parasitárias. Portanto, para o sucesso é importante lançar mão de produtos que sejam capazes de atuar em todas as fases com a finalidade de interromper o ciclo.

Diversos produtos estão disponíveis no mercado “pet” para o controle de ectoparasitos de cães e gatos. Os organoclorados, organofosforados e carbamatos foram usados durante décadas, mas devido a sua elevada toxicidade e o surgimento de moléculas mais seguras tem caído em desuso. As formamidinas e piretróides apresentam excelente ação repelente, o que impede ao parasito de se fixar no animal, estando atualmente sendo associados à outros produtos devido esta característica.

Por outro lado os fenilpirazoles, as lactonas macrociclicas, os neonicotinoides e isoxazolininas possuem excelente eficácia adulticida, isto é, são capazes de eliminar pulgas e carrapatos adultos de cães e gatos parasitados.

O fipronil é um fenilpirazole usado a décadas para o controle de pragas agrícolas e que tem sido utilizado na medicina veterinária. Apresenta baixa toxicidade para mamíferos, no entanto, apresenta excelente eficácia acaricida e inseticida, sendo empregado com frequência para o controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos.

Apesar de a longo prazo os produtos adulticidas serem capazes controlar a infecção presente no ambiente, atualmente diversos reguladores de crescimento de insetos (IGR) vêm sendo associados para auxiliar nesta função. O piriproxifen é um IGR análogo ao hormônio juvenil apresentando excelente eficácia sobre as formas imaturas de artrópodes. Não existem trabalhos disponíveis na literatura com a associação do fipronil-piriproxifen para o controle de *C. felis felis* e *R. sanguineus*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de uma formulação tópica (“spray”) contendo a associação de fipronil-piriproxifen no controle de pulgas (*C. felis felis*) e carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) em cães artificialmente infestados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*

2.1.1 Biologia e Ecologia

Os carrapatos são ectoparasitos que apresentam distribuição por todo o mundo. Pertencem ao Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Superordem Parasitiformes, Ordem Ixodida, Família Ixodidae. Nesta família estão incluídos os popularmente conhecidos como carrapatos duros. Os principais gêneros de importância veterinária são: *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemophysalis* e *Rhipicephalus*, são conhecidos desta forma por possuírem um escudo dorsal densamente esclerotizado (DANTAS-TORRES et al., 2013; FREITAS et al., 1978; SERRA-FREIRE; MELLO, 2006).

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* foi descrita pela primeira vez pelo zoologista francês Pierre André Latreille em 1806 e está inserida na subfamília Rhipicephalinae. Atualmente esta espécie está incluída em um grupo que engloba 17 diferentes espécies: *Rhipicephalus aurantiacus*, *Rhipicephalus bergeoni*, *Rhipicephalus boueti*, *Rhipicephalus camicase*, *Rhipicephalus guilhoni*, *Rhipicephalus leporis*, *Rhipicephalus moucheti*, *Rhipicephalus pumilio*, *Rhipicephalus pusillus*, *Rhipicephalus ramachandrai*, *Rhipicephalus rossicu*, *R. sanguineus sensu stricto*, *Rhipicephalus schulzei*, *Rhipicephalus sulcatus*, *Rhipicephalus tetracornus*, *Rhipicephalus turanicus*, e *Rhipicephalus ziemanni* (CAMICAS et al., 1998).

Na América Latina é discutida a existência de duas diferentes linhagens para esta espécie. A “linhagem do sul” que engloba carrapatos que estão presentes em países de clima temperado, como por exemplo, Paraguai, Uruguai e Sul da Argentina; e a “linhagem do norte” que representa os carrapatos presentes em países com clima tropical (Colômbia, Bolívia e Brasil). Devido a existência destas duas linhagens o termo *R. sanguineus sensu lato* vem sendo empregado devido a não concordância entre diversos pesquisadores sobre a espécie exata que prevalece no Brasil (DANTAS-TORRES et al., 2013; GRAY et al., 2013; NAVA et al., 2012; NAVA et al., 2015).

Em seu ciclo estão presentes os estágios de ovo, larva, ninfa e adultos. Os ovos são pequenos, esféricos e possuem coloração castanho escuro. As larvas são pequenas, medindo 0,54 mm de comprimento e 0,39 mm de largura e possuem três pares de patas. Ninfas possuem quatro pares de patas, são semelhantes aos adultos, no entanto menores (medindo 1,14 a 1,3 mm comprimento e 0,57 a 0,66 mm de largura), são sexualmente imaturos e não possuem abertura genital. As dimensões destes parasitos podem sofrer variações de um país para outro (DANTAS-TORRES, 2008; OLIVEIRA, 2005; SOULSBY, 1986).

Apresentam dimorfismo sexual somente quando adultos, e a principal característica para diferenciação é o escudo dorsal. Nos machos este encontra-se completo sobre toda superfície dorsal, enquanto nas fêmeas é incompleto ocupando 1/3 da superfície dorsal. Apresentam gnatosoma curto com base geralmente hexagonal, escudo não ornamentado, 11 festões poucos desenvolvidos, o primeiro par de coxas bífidas, um par de placas adanais desenvolvidos nos machos, os peritremas são em formato de vírgula (COOLEY, 1946; SERRA-FREIRE; MELLO, 2006; SOULSBY, 1986).

É um carrapato com ciclo de vida trioxeno, ou seja, precisa ir ao ambiente realizar a muda (ecdíase) em dois momentos, podendo então, parasitar até três hospedeiros distintos (KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983). O hospedeiro preferencial destes carrapatos são cães, por isso é popularmente conhecido como “carrapato marrom dos cães” ou “carrapato vermelho dos canis”. Entretanto, larvas e ninfas podem ser encontradas em animais de pequeno

porte, como roedores e adultos parasitando outros mamíferos maiores do que cães (DANTAS-TORRES, 2008).

Apesar de já ter sido descrito parasitando outras espécies, somente quando os cães estão presentes no ciclo que este carrapato consegue manter grandes populações, fato que faz o cão como seu hospedeiro primário (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999). No entanto, sua presença já foi relatada em coelhos, gatos, roedores, pombos, canídeos selvagens e o homem (DANTAS-TORRES; FIGUEIREDO; FAUSTINO, 2004; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; DIOGO et al., 2003)

A fêmea adulta leva um período de sete a 10 dias para completar seu ingurgitamento. Este processo é necessário para maturação do aparelho reprodutivo da fêmea e para manter reserva energética para o período em que realiza a postura (DANTAS-TORRES, 2008; KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983).

A cópula ocorre somente sobre o animal e na presença do macho. Este permanece sobre o animal por longos períodos de tempo e pode copular com diversas fêmeas durante a sua vida. Já está comprovada que a presença do macho nos hospedeiros reduz o período de ingurgitamento de larvas, ninfas e fêmeas adultas (GRAY et al., 2013).

Após completar o ingurgitamento, a fêmea se desprende, preferencialmente no período da noite, e inicia o período de pré-postura. Este período pode durar de três a 14 dias. Geralmente, a postura é realizada em locais que forneçam proteção para os ovos e que seja de fácil acesso para as larvas recém eclodidas chegarem a um hospedeiro. Uma única fêmea ovipõe de 1.500-4.000 ovos e após postura ela morre (JITTAPALAPONG, 2000; KOCH, 1982; SWEATMAN, 1967).

A temperatura ideal para o desenvolvimento da larva dentro dos ovos é de 20 a 30°C e o período de incubação pode chegar a 23 dias. Após este período eclode a larva que precisa de um período no ambiente para o endurecimento da cutícula antes de procurar um hospedeiro para se alimentar. Estas podem permanecer viáveis no ambiente por até oito semanas sem se alimentar. Seu período de alimentação dura de três a 10 dias. Completado seu ingurgitamento, esta se desprende (preferencialmente no período do dia) e inicia o processo de muda que pode durar até 15 dias (DANTAS-TORRES, 2010; PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008).

Após emergirem as ninfas, estas procuram hospedeiros para se alimentar. O período de alimentação pode durar de três a 11 dias, podendo permanecer sem se alimentar no ambiente por até 19 meses. Após alimentadas se desprendem dos animais (preferencialmente no período da noite) e iniciam o processo de muda em um local protegido. Este pode durar de nove a 47 dias. Após esse período emergem os adultos, que podem ficar sem se alimentar por 19 meses. A partir do momento que encontram um hospedeiro, reiniciam o ciclo que pode durar, em condições ideais de 63 a 91 dias. No entanto, a duração do ciclo é variável de país para país. Podendo no mínimo, *R. sanguineus* completar duas gerações por ano (BECHARA et al., 1995; DANTAS-TORRES, 2010; LOULY et al., 2007; PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008).

Alguns fatores intrínsecos ao cão podem interferir na biologia de *R. sanguineus*, como por exemplo: sexo, raça e idade. Animais mais jovens tendem a ter uma maior carga parasitária do que cães adultos (DANTAS-TORRES et al., 2009; TINOCO-GRACIA et al., 2009). Animais de raça pura tendem a ser mais suscetíveis, com destaque para o Coker Spaniel Inglês e o Beagle (LOULY et al., 2009). No que diz respeito ao gênero, machos parecem ter maiores infestações quando comparados as fêmeas (LOULY et al., 2010).

Fatores extrínsecos ao cão também podem interferir no ciclo deste carrapato. Fatores abióticos, como temperatura e umidade, podem acelerar ou reduzir a velocidade de seu ciclo. Isso é observado em países de clima temperado onde em temperaturas inferiores a 20°C seu ciclo ocorre de forma mais lenta. Enquanto em países de clima tropical, como o Brasil, é possível observar várias gerações deste carrapato em um único ano (JACOBS et al., 2001; KOCH; TUCK, 1986; PAPADOPOULOS; MOREL; AESCHLIMANN, 1996).

Fatores bióticos também podem interferir em seu ciclo. Este carrapato possui hábito nidícula para fugir de predadores, como pássaros, vespas e aranhas nos momentos que estão mais vulneráveis, ou seja, na oviposição e muda (CORONADO, 2008; DANTAS-TORRES, 2010; GUGLIELMONE; MOSA, 1991; SALTET, 1936).

2.1.2 Importância Veterinária e Médica

Rhipicephalus sanguineus é um carrapato e possui hábito hematófago. Em grandes infestações são capazes de provocar prurido intenso, irritabilidade e anemia (DANTAS-TORRES, 2008).

Este carrapato é capaz de transmitir alguns agentes patogênicos para o cão e eventualmente para o homem. Entre os patógenos transmitidos por carrapatos no Brasil podemos citar: *Babesia* spp., *Rangelia vitalli*, *Erlichia canis*, *Anaplasma* spp., *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. massiliae*, *Leishmania chagasi* e *Hepatozoon canis*, *Mycoplasma haemocanis* (CHOMEL; OTRANTO, 2012; COUTINHO et al., 2005; GROVES et al., 1975; LORETTI; BARROS, 2005; NORDGREN; CRAIG, 1984; PARKER; PHILIP; JELLISON, 1933; REGENDANZ; MUNIZ, 1936; SEN et al., 1933; SIMPSON et al., 1991).

A transmissão de patógenos está ligado ao tempo de permanência do carrapato ao hospedeiro. A saliva deste parasito possui diferentes proteínas que auxiliam na sua fixação e permanência sobre o hospedeiro. Estas possuem ação vasodilatadora, anti-inflamatória, anestésica anticoagulante e moléculas imunossupressoras o que permite que o carrapato fique fixado no hospedeiro por um longo período de tempo (BISHOP et al., 2002; KIDD; BREITSCHWERDT, 2003; KOVÁŘ, 2004; PLATTS-MILLS; COMMINS, 2013).

Alguns agentes patogênicos são transmitidos rapidamente para os cães, com é o caso de *E. canis*, *Anaplasma* spp. e *Rickettsia* spp. em que a transmissão ocorre em menos de 24 horas. Em outros casos, com em *Babesia canis vogeli* a transmissão não ocorre em menos de 48 horas (DES VIGNES et al., 2001; FOURIE et al., 2013; HEILE et al., 2007; KATAVOLOS et al., 1998).

Poucos patógenos são transmitidos pela via transovariana, com exceção de *Rickettsia* spp. e *Babesia* spp. Em outras palavras, a transmissão destes, raramente ocorre através da larva de *R. sanguineus* e sim pelos estágios de ninfa e adultos. Frequentemente a infecção no carrapato é adquirida durante a alimentação em um animal doente. E este patógeno é transmitido para os demais estágios (DANTAS-TORRES, 2010).

A co-alimentação é outra forma que carrapatos podem se infectar com agentes patogênicos. Quando estão se alimentando próximos, a menos de um centímetro de distância, a infecção pode ocorrer entre um carrapato infectados para os que estão ao redor, aumentando assim a o número de carrapatos infectados e a transmissão de doenças (RANDOLPH, 2011).

Rhipicephalus sanguineus é um dos poucos carrapatos completamente adaptados a desenvolver seu ciclo dentro ou próximo a residências (jardins e canis). Este hábito endofílico, aumenta sua proximidade com seres humanos, aumentando consideravelmente seu potencial para transmissão de doenças ao homem (DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012).

2.2 *Ctenocephalides felis felis*

2.2.1 Biologia e Ecologia

As pulgas do gênero *Ctenocephalides* são insetos parasitos mais prevalentes em todo o mundo. Sua classificação taxonômica pertence ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Siphonaptera e família Pulicidae. Duas principais espécies estão incluídas nesse gênero: *C. canis* e *C. felis*. Sua diferenciação pode ser feita por com base em detalhes sutis em sua

morfologia e distribuição geográfica (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; MÉNIER; BEAUCOURNU, 1998; RUST, 2017).

Durante décadas a espécie *C. felis* apresentou quatro diferentes subespécies, *C. felis damarensis*, *C. felis felis*, *C. felis orientis*, e *C. felis strongylus*. Contudo, com o avanço da biologia molecular para o estudo da sistemática elevaram duas subespécies para espécie completas: *C. damarensis* e *C. orientis*. Enquanto *C. felis felis* tem sido encontrada em cães e gatos em todo o mundo e *C. felis strongylus* está restrita a animais selvagens na Líbia. A tendência é que esta última seja elevada a nível de espécie nos próximos anos (HORAK; BEAUCOURNU; BRAACK, 2004; KAAL; BAKER; TORGERSON, 2006; LAWRENCE et al., 2015; RUST, 2017).

Essas pulgas são ectoparasitos pequenos, medindo entre um a três milímetros de comprimento, possuem corpo achatado lateralmente, aparelho bucal picador e pernas adaptadas para o salto (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; SOULSBY, 1986).

Em seu ciclo evolutivo estão presente os estágios de ovo, larva, pupa e adultos. Apenas 5% das pulgas estão sobre o animal como indivíduos adultos, os 95% restante estão presentes no ambiente como formas imaturas. Uma pulga adulta se alimenta cinco minutos após subir no hospedeiro e 24 a 36 horas após a primeira alimentação iniciam a postura. São capazes de ovipor de 40-50 ovos por dia (CADIERGUES et al., 2001; DRYDEN, 1989).

Os ovos são postos sobre o pelame do animal e ao longo do tempo, aproximadamente oito horas, se desprendem e caem no chão. Se concentram preferencialmente nos locais onde o animal repousa. A maior produção de ovos ocorre durante a noite, porém, apesar de baixa, a produção de ovos também pode ocorrer durante o dia. Para a eclosão precisam de temperatura em torno de 20 a 30°C e umidade relativa do ar maior do que 50%. Temperaturas maior do que 35°C e inferiores a 6°C são letais aos ovos. O tempo de eclosão pode variar de um a seis dias, dependendo das condições ambientais. No ambiente, com temperatura de 27°C e umidade superior a 50%, eclodem em 24 horas e ocorre o desenvolvimento da fase de larva (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DRYDEN, 1989; KERN; KOEHLER; PATTERSON, 1992; RUST, 1992).

Possui três instares de larva (L1, L2 e L3). Estas se alimentam de matéria orgânica presente no ambiente, que é oriunda principalmente do sangue desidratado das fezes de pulgas adultas. Quando criadas artificialmente, estas necessitam de dieta acrescida de sangue desidratado em seu substrato. São canibais e na falta de alimento disponível se alimentam de outras larvas (RUST, 2017; SILVERMAN; RUST; REIERSON, 1981; SILVERMAN; RUST, 1983).

Em temperatura de 27°C e umidade relativa superior a 50% se tornam pupas em sete a oito dias. Quando comparada aos ovos, larvas são menos resistentes a dessecação e umidade relativa menor do que 50% pode ser letal as larvas (METZGER; RUST, 1997; RUST, 1992; RUST; DRYDEN, 1997; SILVERMAN; RUST; REIERSON, 1981).

Possuem geotropismo positivo e fototropismo negativo, isto faz com que as larvas procurem locais protegidos da luz para se desenvolver (como base de tapetes). Quando presentes no solo, larvas podem se enterrar na terra em até 2,5 cm para fugir da luz (RUST, 1992; RUST; DRYDEN, 1997).

A pupa é a fase de resistência que se encontra no ambiente. O casulo é formado pela seda tecida pela larva juntamente com grãos de poeira /areia presente no ambiente. Sua função é: proteger a larva em metamorfose e o adulto recém-formado contra predadores, como formigas; não interferir na troca de água com o ambiente; e garantir que o adulto recém-formado esteja protegido até a presença de um hospedeiro. A pupa pode ficar viável por até 174 dias (aproximadamente seis meses) em condições favoráveis (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; SIAK; BURROWS, 2013; SILVERMANN, 1984).

Larvas que não encontram no ambiente material inorgânico suficiente para a formação do pupário, formam a chamadas pupas nuas. Estas conferem menor proteção e os adultos costumam emergir mais rapidamente (METZGER; RUST, 1997).

A emergência da pulga adulta do pupário é induzida por estímulos ambientais que indiquem a presença de hospedeiros. Dentre eles estímulos se destacam: a presença de calor, vibrações, fricção das pupas e maior concentração de dióxido de carbono no ambiente (SIAK; BURROWS, 2013; SILVERMAN; RUST, 1995).

Após a emergência, as pulgas adultas se alimentam do sangue presente nos capilares periféricos onde injetam antígenos salivares, as fezes produzidas após a alimentação caem no ambiente e servem de alimento para as larvas. Após a alimentação as fêmeas e machos sobrevivem em média 11 e 50 dias respectivamente. Se não se alimentarem, podem ficar viáveis no ambiente por até 90 dias à espera de um hospedeiro (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; OSBRINK; RUST, 1984; WADE; GEORGI, 1988).

2.2.2 Importância Veterinária e Médica

Pulgas são insetos hematófagos e em grandes infestações são capazes de provocar grande irritação, prurido intenso e anemia em cães e gatos (SIAK; BURROWS, 2013). Os antígenos presentes na saliva de pulgas, estes inoculados durante o repasto sanguíneo, são capazes de provocar um quadro de hipersensibilidade do tipo I levado ao quadro de Dermatite Alérgica à Picada de Pulga. Testes intradérmicos em cães mostraram que as duas principais proteínas responsáveis por ocasionar o quadro alérgico são MW 40 k e MW 12 k–18 k. Essa patologia cursa com prurido intenso, levando ao quadro de alopecia, eritema e predispondo a infecção secundária da pele por fungos ou bactérias (LEE; JACKSON; OPDEBEECK, 1997; PATERSON, 2015; SOUSA; HALLIWELL, 2001).

São consideradas vetores de diversos agentes patogênicos para animais de companhia e para o homem. Dentre eles podemos destacar: *Rickettsia felis*, *R. typhi*, *Bartonella henselae*, *B. clarridgeiae*, *Yersinia pestis*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma* spp. (EISEN et al., 2008; EISEN; GAGE, 2012; NELSON; SAHA; MEAD, 2016; PSAROULAKI et al., 2014; RUST, 2017).

Já foi comprovada a transmissão do Calicivírus Felino a partir de fezes de *C. felis felis*. Estudos *in vitro* demonstram o potencial vetorial desta pulga na transmissão dos retrovírus felino, como o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) e o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) (MENCKE et al., 2009; VOBIS et al., 2003a; VOBIS et al., 2003b; VOBIS et al., 2005).

Estas pulgas são consideradas hospedeiros intermediários de helmintos como o cestóide *Dipylidium caninum* e do nematoíde *Acanthocheilonema reconditum* (BEUGNET et al., 2014; DE AVELAR et al., 2007; NAPOLI et al., 2014).

2.3 Controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*

No que diz respeito ao controle de pulgas em carrapatos em animais de companhia, vale lembrar que existem pontos cruciais para o sucesso. Estes parasitos possuem uma fase de vida não parasitária, que corresponde a fase em que estes estão no ambiente. Cerca de 5% da população total de parasitos estão sobre os animais, o restante se encontra no ambiente. Carrapatos são mais resistentes do que as pulgas aos fatores abióticos que podem interferir em seu ciclo de vida. Isto pode ser exemplificado pois conseguem viver por maior período de tempo em temperaturas e umidade relativas baixas. Além disso, *R. sanguineus* possui um ciclo de vida heteroxeno indo ao ambiente pelo menos em três momentos distintos no seu ciclo, dificultando seu controle. Por este motivo, infestações por carrapatos são mais difíceis de serem controladas (DANTAS-TORRES, 2010; RUST, 2017).

2.3.1 Controle químico: principais ectoparasitícidias presentes no Brasil

2.3.1.1 Organoclorados, Carbamatos e Organofosforados

Os organoclorados são compostos químicos que foram amplamente utilizados para o controle de pragas agrícolas. Seus principais representantes são: os etanoclorados representados pelo diclorodietiltricloroetano (DDT), os ciclodienos representados pelo dieldrin e pelo aldrin, e os hexaclorociclohexanos representados pelo hexaclorobenzeno (BHC) e pelo lindane. Seu mecanismo de ação é interferirem na abertura dos canais de íons cloro impedindo assim a repolarização da membrana neural. Já os ciclodienos inibem o ácido gamaaminobutírico (GABA), estimulando o fluxo de íons cloro e interferem no fluxo de íons cálcio, resultando na despolarização parcial da membrana pós-sináptica e uma vulnerabilidade a repetidas descargas. Atuam nos receptores do GABA, resultando na inibição do fluxo de íons cloro GABA dependentes nos neurônios (TAYLOR, 2001).

Os organofosforados ligam-se a acetilcolinesterase (AChE), impossibilitando-a de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina em colina e acetato. Os carbamatos atuam de forma semelhante, no entanto, formam um complexo mais instável com a colinesterase, permitindo a recuperação da enzima mais rapidamente. Em ambos os processos, causam uma constante estimulação nervosa levando a morte do inseto por paralisia (MASON et al., 1984).

Exemplos de carbamatos comercializados no Brasil são o carbaril e propoxur. Enquanto os organofosforados são clorpirifós, coumafós, diazinon, diclorvós, triclorfon e fention. O diazinon é o organofosforado mais utilizado no controle de ectoparasitoses de pequenos animais, como no controle de *C. felis* (FRANC; CADIERGUES, 1998; SCOTT et al., 2002). Esses agentes tradicionais de controle de pulgas e carrapatos têm sido substituídos por ectoparasitícidias mais novos e mais seguros para cães e gatos (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

2.3.1.2 Formamidinas

O amitraz é o representante dessa classe de ectoparasitícidia. Apresenta excelente ação frente a ácaros, no entanto, não possui ação sobre insetos. Em invertebrados atua nos receptores de octopamina, um neurotransmissor excitatório, resultando em hiperexcitabilidade neuronal e morte. Também atua inibindo a enzima monoaminoxidase, promovendo um acúmulo de catecolaminas no sistema nervoso central, agindo, portanto, como um agonista α -2 adrenérgico (TAYLOR, 2001).

Além de causar a morte do parasito, o amitraz possui ação repelente. Fazendo com que carrapatos fixados se desprendam do animal e impedindo que novos se fixem (FOLZ et al., 1986).

Pode ser utilizado em coleiras impregnadas com indicação para o controle e repelência de *R. sanguineus* (ELFASSY et al., 2001; ESTRADA-PENA; ASCHER, 1999). Este ativo tem sido associado à outras moléculas devido a essa ação repelente. O principal exemplo disso é a associação de fipronil-amitraz-(S) metoprene (HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012; JONGEJAN et al., 2011).

2.3.1.3 Piretrinas e Piretróides

Os piretróides são grupo de ectoparasitícidias derivados sinteticamente a partir das flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Possuem ação inseticida e carrapaticida e apresentam baixa toxicidade para cães (BOWERS, 1985; VOLMER, et al., 1998). Atua alterando a permeabilidade dos canais de sódio causando hiperexcitação. Em vertebrados agem no sistema nervoso e nas membranas musculares, provocando despolarização prolongada dessas células e

provocando sinais clínicos de neurotoxicidade (SCHRECK; POSEY; SMITH, 1978; WHITTEM, 1995).

Apresentam ação repelente, sobre pulgas e carrapatos, que quando em contato com esses produtos, desenvolvem um quadro de hiperexcitabilidade conhecido como “hot-foot” que os impede de se alimentarem em seus hospedeiros (CHRECK; POSEY; SMITH, 1978; MEHLHORN et al., 2003).

A deltametrina foi utilizada nas formulações de colar impregnado e xampus no controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis* em cães (FRANC; CADIERGUES, 1999; VAN DEN BOS; CURTIS, 2002). A ciflutrina e cipermetrina já foram relatadas para uso no controle ambiental de larvas de pulgas e carrapatos (BATISTA et al., 2012; CORREIA et al., 2010; FERNANDES et al., 2000; MELO et al., 2010).

Durante anos produtos com esses ativos foram utilizados no controle de pulgas e carrapatos em cães. Atualmente, devido a sua ação repelente para ácaros e insetos, tem sido empregado em associação com outros ativos (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Os principais piretroides utilizados em associação para o controle de *C. felis felis* e *R. sanguineus* em cães são a flumetrina e a permetrina (DANTAS-TORRES et al., 2013; COATI; STANNECK, 2003; EPE; STANNECK et al., 2012; HELLMANN et al., 2003).

2.3.1.4 Fenilpirazoles

O principal representante deste grupo de ectoparasiticida é o fipronil [5-amino-3-ciano-1-(2,6-dicloro-4-trifluorometilfenil)-4-fluorometilsulfinil pirazole], com fórmula química ilustrada na Figura 1. Este fármaco vem sendo usado de forma extensiva na agricultura no controle de pragas agrícolas e na medicina veterinária para o controle de artrópodes parasitos (HOVDA; HOOSER, 2002).

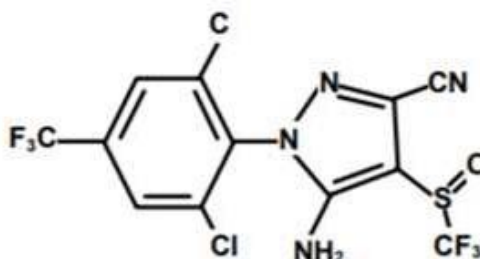


Figura 1. Estrutura química da molécula de fipronil.

Fonte: Adaptado de APMVA (2005).

O fipronil possui excelente ação inseticida e acaricida. Seu principal mecanismo de ação é sobre o receptor GABA. Este possui a função de permitir a entrada de íons cloreto no interior da célula neural, fazendo com que retorne ao seu potencial de repouso, mantendo o potencial elétrico da membrana. O bloqueio destes canais ocasionado pelo fipronil reduz a inibição neuronal e leva à hiperexcitação do sistema nervoso central, cursando com paralisia, convulsões e morte (ZHAO et al., 2003; ZHAO et al., 2004; ZHENG et al., 2003).

Apesar de vertebrados também possuírem o GABA, o fipronil é capaz de se ligar de forma seletiva a frações proteicas que estão presentes somente em artrópodes. Isso faz com que a sensibilidade dos insetos ao fipronil seja de 700 a 1300 vezes maior do que a de mamíferos (ZHAO et al., 2004).

Quando metabolizado por vertebrados e invertebrados o principal metabólico produzido é o fipronil sulfona. Já é sabido que no solo e em vegetais o fipronil pode sofrer uma reação de fotoextrusão produzindo desulfinilo (HAINZL; COLE; CASIDA, 1998; RAMESH; BALASUBRAMANIAN, 1999).

Os produtos disponíveis no mercado que contêm fipronil para serem utilizados em cães e gatos são de aplicação tópica, ou seja, “spray” ou “spot on”. A maior parte do fipronil absorvido pelo extrato córneo é distribuído nas glândulas sebáceas dos animais e é liberada gradualmente sobre a pele do animal. Estudos já comprovaram que a absorção do fipronil pelo extrato córneo é limitada, fazendo com que sua biodisponibilidade plasmática seja em torno de 5%. Isso faz com que estes produtos, quando administrados na dose e intervalo de tempo corretos, sejam seguros para essas espécies (BRAYDEN, 2003; COCHET et al., 1997)

Não existem estudos publicados no Brasil sobre os efeitos adversos do uso de fipronil em animais de companhia. No entanto, estudos publicados no Estados Unidos e Austrália mostram que os principais efeitos adversos relacionados ao uso do fipronil são: alopecia, mudança na coloração do pelo, prurido e eritema (no local de aplicação) e com menor frequência foram observados sinais neurológicos e gastrointestinais (APMVA, 2005; BLOOQUEST, 2003).

Existem diversos produtos e associações disponíveis com excelente eficácia para o controle de pulgas e carrapatos em cães (BONNEAU, et al., 2010; CONSALVI, 1995; GUPTA; CADIERGUES, 2010; KUZNER et al., 2013; POSTAL; JEANNIN; BONNEAU; 1999).

Nas últimas décadas o fipronil vem sendo associado a reguladores de crescimento de insetos (IGR) para que desta forma possa realizar juntamente com o controle de adultos, o controle das formas evolutivas que estão no ambiente. O metoprene foi o primeiro IGR associado ao fipronil e mais recentemente o piriproxifen foi associado. Estas associações têm sido empregadas com eficácia no controle de adultos e formas imaturas de *R. sanguineus* e *C. felis felis* (BRIANTI et al., 2010; DE MARI et al., 2016; NAVARRO et al., 2016; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

Outras associações disponíveis são a de fipronil com piretróides (permetrina) ou à formamidinas (amitraz). A escolha por este tipo de associação ocorre pelo efeito repelente que estes dois ativos possuem. Evitando desta forma, que carrapatos e pulgas se alimentem nos animais (BOUHSIRA et al., 2011; DUMONT et al., 2015; HALOS et al., 2016; PRULLAGE et al., 2011).

O piriprol é outro fenilpirazole, possui mecanismo de ação idêntico ao fipronil. Está presente em formulação “spot on” para o tratamento de pulgas e carrapatos em cães e gatos (SCHUELE et al., 2008).

2.3.1.5 Lactonas macrocíclicas

As avermectinas e milbemicinas são moléculas oriundas da fermentação de dois fungos *Streptomyces avermitilis* e *Streptomyces cyanogriseus* respectivamente. Para animais de companhia cinco lactonas macrocíclicas possuem indicação em bula para o uso em cães e gatos: ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina, selamectina e eprinomectina (NOLAN; LOK, 2012).

Podem ser administradas pela via oral, tópica (spot on) ou injetável (via subcutânea). Tem caráter endectocida, ou seja, atuam sobre artrópodes e nematoides. São amplamente indicadas como microfilaricidas para a prevenção de *Dirofilaria immitis* em cães. Seu mecanismo de ação se dá pela hiperpolarização e inibição da transmissão nervosa, por meio da potencialização da ação do GABA e do aumento da permeabilidade da membrana ao cloro promovendo ataxia e morte do parasita (TAYLOR, 2001).

A selamectina é a lactona macrocíclica que possui melhor eficácia para o controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis* (JERNIGAN et al., 2000; MCTIER et al., 2000). As demais lactonas citadas são amplamente empregadas para o controle de ácaros como *Demodex* spp., *Sarcoptes*

scabiei, *Notoedres cati*, *Otodectes cynotis*, *Lynxacarus radovskyi*, *Cheyletiella* spp. (CURTIS, 2004; NOLAN; LOK, 2012)

2.3.1.6 Semicarbazona

O principal representante deste grupo é a metaflumizona que possui excelente ação inseticida atuando sobre insetos das ordens Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Diptera, Isoptera e Siphonaptera. Atua sobre os canais de sódio dos insetos causando morte por hiperexcitação (SALGADO; HAYASHI, 2007).

Para utilização em animais de companhia, está disponível na formulação “spot on” e apresenta excelente eficácia frente a pulga *C. felis felis*. No entanto, isoladamente a metaflumizona não possui ação acaricida e não é eficaz para o controle de carrapatos. Com a finalidade de aumentar o espectro de ação este fármaco pode ser encontrado associado ao amitraz para auxiliar no controle de *R. sanguineus* (HOLZMER et al., 2007; RUGG; HAIR, 2007).

2.3.1.7 Oxadiazinas

O indoxacarbe é um inseticida pertencente a esta classe. Foi originalmente desenvolvido para uso na agricultura. É considerado um pró-inseticida que é metabolizado por insetos para um metabólito mais ativo, o N-decarbometoxilado de indoxacarbe. O metabólito ativo do indoxacarbe exerce seu efeito ao bloquear os canais de íons de sódio de insetos e é pelo menos 40 vezes mais potente que o indoxacarbe. Os mamíferos exibem uma bioativação mínima e seu metabólito ativo possui potência muito menor em mamíferos do que em insetos (SILVER et al., 2010; WING et al., 2000; ZHAO et al., 2003).

Na medicina veterinária está disponível em formulação “spot on” para o controle de *C. felis felis* reduzindo a contagem de pulgas adultas, a produção de ovos e a emergência de adultos. Contudo, não possui eficácia para o controle de ácaros (ARMSTRONG et al., 2015. DRYDEN et al., 2013).

2.3.1.8 Spinosinas

As Spinosinas são derivadas da fermentação do fungo *Saccharopolyspora spinosa*. O principal representante desta classe de ectoparasiticidas é o Spinosad. É altamente ativo, tanto pelo contato quanto pela ingestão, em inúmeras espécies de insetos e ácaros (WILLIAMS; VALLE; VIÑUELA, 2003).

Seu mecanismo de ação é atuando principalmente nos receptores nicotínicos de acetilcolina do sistema nervoso de insetos, causando a interrupção da neurotransmissão de acetilcolina. Também possui efeitos secundários como um agonista de neurotransmissor GABA causando hiperexcitação do sistema nervoso dos insetos (SALGADO, 1998).

Está disponível na forma de comprimido para o tratamento de cães e gatos, principalmente para o controle de pulgas. O spinosad apresenta excelente eficácia adulticida, eliminando rapidamente pulgas adultas. Também é capaz de reduzir a produção de ovos destes insetos e a emergência de adultos (BLAGBURN et al., 2010; FRANC; BOUHSIRA, 2009; SNYDER et al., 2013).

Alguns autores sugerem que o spinosad possua eficácia para o controle de *R. sanguineus* a partir de 24 horas da administração do comprimido. E possuindo efeito residual por até 30 dias após o tratamento (SNYDER; CRUTHERS; SLONE, 2009).

2.3.1.9 Reguladores de crescimento de insetos

Este grupo de ecoparasiticidas são responsáveis por interferir no crescimento e desenvolvimento de artrópodes. Possuem pouca eficácia frente parasitos adultos, no entanto, são empregados em associação com adulticidas para promover o controle ambiental de pulgas e carrapatos. A vantagem destes componentes são: restrito espectro de ação e ausência ou baixa toxicidade para mamíferos. Existem duas classes de IGR, os inibidores da síntese de quitina (ISQ) e análogos do hormônio juvenil de artrópodes (AHJ) (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DANTAS-TORRES, 2010; RUST, 2005).

Os ISQ são responsáveis por inibir a enzima quitina sintetase impedindo, desta forma, a formação do exoesqueleto e a ecdise de artrópodes. Os principais representantes deste grupamento de inseticidas pertencem a classe das benzofenilureias (TAYLOR 2001).

O lufenuron é o principal representante das benzofenilureias utilizadas para o controle de pulgas em animais de companhia. Estudos mostram que este ISQ já foi amplamente utilizado para o controle de pulgas, sendo capaz de inibir a emergência de pulgas adultas em 95% por até seis meses (BLAGBURN, 1999; CADIERGUES et al., 1999; MEOLA, 1999).

O fluazuron e o diflubenzuron já demonstraram ter potencial para o controle de *R. sanguineus* em ensaios laboratoriais, no entanto, não existem estudos publicados com este para o controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos (DE OLIVEIRA et al., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2013). Contudo, sua eficácia já vem sendo demonstrada para o carrapato de bovinos *R. microplus* e da mosca do chifre *Haematobia irritans* (ANDREOTTI et al; 2015; BULL et al., 1996).

Os AHJ interferem diretamente na ecdise dos artrópodes gerando estágio larvais e ninfais anômalos. Destacam-se o (S)-metoprene e o piriproxifen no controle de ectoparasitos de cães e gatos e sua estrutura química está demonstrada na Figura 2.

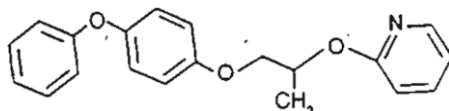


Figura 2. Fórmula estrutural do piriproxifen
Fonte: Adaptado de Meola, Ready e Meola (1993)

O (S)-metoprene vem sendo utilizado nas últimas décadas para o controle de *C. felis felis* e *R. sanguineus*. Apresenta excelente eficácia ovicida, impedindo que os ovos de *C. felis felis* eclodam, bom potencial larvicida e potencial adulticida (PALMA; MEOLA; MEOLA, 1993). Por este motivo encontra-se associado ao fipronil nas formulações presentes no mercado (BRIANTI et al., 2010; VARLOUD; HODGKINS, 2015; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

O piriproxifen possui excelente potencial ovicida, larvicida, principalmente sobre a larva de primeiro instar, de *C. felis felis* em ensaios *in vitro* realizados. Estudos indicaram que pulgas adultas que se alimentam de sangue contendo este IGR de forma contínua morrem precocemente (com aproximadamente 10 dias), por não conseguirem se alimentar (LANCE; HEMSARTH, 2016; MEOLA et al., 2000; MEOLA; DEAN; BHASKARAN, 2001).

Maynard et al. (2001) mostraram que o piriproxifen na dose de 10mg/kg, em gatos medicados pela via tópica “spot on”, foi eficaz no controle de pulgas nos animais avaliados no estudo por um período de 180 dias (seis meses), sugerindo o potencial deste IGR para o controle de pulgas em residências.

A eficácia deste IGR, já foi demonstrada em associação com os piretróides d-fenotrina e ciflutrina e já estão disponíveis nas formulações aerossol e “spray”, respectivamente, para

serem aplicadas em ambientes como forma auxiliar no controle de *C. felis felis* (CORREIA et al., 2005; CORREIA et al., 2010).

O piriproxifen possui duas associações comerciais disponíveis para o tratamento de pulgas em cães na formulação “spot on” (fipronil-piriproxifen e dinotenfuran-permetrina-piriproxifen), mostrando sua eficácia na redução de pulgas adultas nos animais tratados (BOUHSIRA et al., 2012; NAVARRO et al., 2016). No entanto, não existem trabalhos publicados com a associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spray” para o tratamento de cães.

2.3.1.10 Neonicotinóides

Esta classe de ectoparasiticidas tem sido utilizada há décadas como inseticidas para controle de pragas agrícolas. Os princípios ativos pertencentes a este grupo, com importância em medicina veterinária, são o nitempiram, imidacloprida e dinotenfuran. Esses produtos atuam rapidamente eliminando larvas e pulgas adultas em 20 minutos (DRYDEN et al., 2011; MEHLHORN; HANSEN; MENCKE, 2001; MEHLHORN; MENCKE; HANSEN, 1999).

Possuem excelente eficácia contra insetos, porém pouca ou nenhuma sobre ácaros. Agem especificamente sobre os receptores nicotínicos para acetilcolina de insetos, portanto apresentam pouco ou nenhuma toxicidade para mamíferos (HOVDA; HOOSER, 2002).

2.3.1.11 Isoxazolininas

As isoxazolininas são uma nova classe de ectoparasiticidas que possuem eficácia contra ácaros e insetos. Seu mecanismo de ação está ligado a inibição do GABA e canais de cloros seletivo de artrópodes (GASSEL et al., 2014). Inicialmente foram indicadas para o controle de pulgas e carrapatos em cães. Posteriormente, mostraram-se eficazes para o controle de ácaros (SHOOP et al., 2014; SIX et al., 2016; TAENZLER et al., 2017).

Os principais representantes desta classe são o fluralaner, afoxolaner, sarolaner e lotilaner todos com excelente eficácia para o controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis* (BEUGNET; LIEBENBERG; HALOS, 2015; BURGIO; MEYER; ARMSTRONG, 2016; KUNKLE et al., 2014; KUNTZ; KAMMANADIMINTI, 2017; SIX et al., 2016).

2.3.2 Formulações veterinárias contendo ectoparasiticidas

A indústria farmacêutica veterinária disponibiliza ectoparasiticidas nas formulações de talco, xampu, sabonete, “spray”, coleira, pipeta e comprimido. Talcos são considerados pouco práticos, pois são mais trabalhosos para a aplicação, causam desconforto ao tutor e necessitam de aplicações frequentes para o controle de ectoparasitos (MARCHIONDO et al., 2013).

Xampus e sabonetes necessitam de contato prolongado, cerca de 5 a 10 minutos, com o animal para eliminarem pulgas e carrapatos. Possuem baixo efeito residual, portanto sua aplicação deve ser realizada frequentemente. É importante lembrar que o uso de água quente em banho com produtos que contenham piretróides e carbamatos pode acarretar em absorção sistêmica e intoxicação. A ação mecânica do banho é suficiente para eliminar ovos, fezes, parasitos adultos o que promove um alívio imediato ao animal (FRANC; CADIERGUES, 1999).

Produtos que são administrados na forma de “spray” devem ser aplicados de forma que a solução penetre no pelame do animal e entre em contato com sua pele. Apesar de possuírem excelente efeito imediato, possuem baixo efeito residual, perdendo sua eficácia ao longo do tempo. A aplicação deste produto pode resultar em salivação (principalmente nos produtos à base de álcool), também apresentam como inconveniente o som associado à aplicação, que pode

assustar o animal. A sua aplicação prática propicia casos de sobre dosagem e intoxicação, principalmente em animais mais sensíveis, como filhotes e gatos; a sua ingestão acidental (pelo “grooming” ou comportamento social) também é um risco presente (GRAF et al., 2004; PATON; WALKER, 1988; PAYNE et al., 2001).

Coleiras são constituídas por uma matriz de polímeros plásticos que são impregnadas com acaricidas/inseticidas. A liberação dos ativos é realizada de forma contínua e gradual a partir de sua fricção com a pele. Isto acaba, invariavelmente, ocasionando uma liberação desigual e imprevisível, sendo pouco provável que coleiras atinjam altos níveis de eficácias. São utilizadas principalmente em locais onde o desafio, por pulgas e carrapatos, não sejam altos. Normalmente em sua composição estão presentes piretróides e carbamatos o que conferem principalmente efeito repelente (FRANC; CADIERGUES, 1998; MILLER; BAKER; COLBURN, 1977; STANNECK et al., 2012).

O desenvolvimento de pipetas para aplicação de parasiticidas de forma “spot on” ou “line on” revolucionou o controle de pulgas e carrapatos. Estas se apresentam em altas concentrações num baixo volume. Atuam no parasito por contato, sistemicamente e/ou de forma mista, pela penetração transcutânea e circulação plasmática. Este tipo de formulação contém excipientes que permitam a absorção transdérmica do ativo, seguida de sua distribuição plasmática ou difusão pela pele, permanecendo no compartimento sebáceo durante várias semanas. Sua distribuição nem sempre é de forma homogênea por todo o corpo, podendo possuir maiores concentrações no local de aplicação. Em relação aos efeitos adversos de produtos aplicados pela via “spot on” é a possibilidade de ingestão (mais preocupante em caso de gatos expostos a cães tratados com altas concentrações de permetrina), lesões na pele no sítio da aplicação, bem como perda de pelo ou mudança na sua cor (BEUGNET; FRANC, 2012).

Pela via sistêmica existem ectoparasiticidas formulados para administração oral na forma de comprimidos e os injetáveis. Os comprimidos, podem possuir efeitos a curto-prazo, como por exemplo nitenpiram, ou de eficácia persistente, como ocorre com o spinosad ou isoxazolinas (BECSKEI et al., 2016; MCCOY; BROCE; DRYDEN, 2008; SNYDER et al., 2007). Apesar de não existir no Brasil, o único ectoparasiticida injetável com indicação de bula para cães e gatos é o lufenuron. Existe indicação extra-bula para aplicação de lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina, doramectina) para o controle de outros ácaros em cães e gatos (FRANC; CADIERGUES, 1997; NOLAN; LOK, 2012).

CAPÍTULO I

**EFICÁCIA ADULTICIDA PARA *Ctenocephalides felis felis* E *Rhipicephalus sanguineus*
sensu lato DA ASSOCIAÇÃO FIPRONIL-PIRIPROXIFEN NA FORMULAÇÃO
“SPRAY” EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS**

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e a pulga *Ctenocephalides felis felis* são os ectoparasitos de maior importância para cães no Brasil e em muitos outros países. São responsáveis por causar o quadro de dermatite alérgica a presença de ectoparasitos, assim como, possuem ação vetorial de diversos agentes patogênicos para estes animais. O fipronil é uma molécula sintética do grupo dos fenilpirazoles com excelente atividade inseticida e acaricida. Enquanto o piriproxifen é um regulador de crescimento de insetos, análogo do hormônio juvenil, que compromete o desenvolvimento de insetos. O objetivo deste trabalho foi avaliar eficácia carrapaticida e pulicida da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray” em cães artificialmente infestados. Para o estudo foram utilizados 12 cães da raça Beagle, com idade entre dois a seis anos, oito machos e quatro fêmeas. Os animais do grupo tratado receberam, no dia 0, pela via tópica (“spray”), a associação de fipronil-piriproxifen na dose de 7,5 mg e 4,44mg respectivamente, respectivamente, equivalente a quatro jatos por quilo de peso corporal. Os animais do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento. As infestações foram realizadas com 100 exemplares de *C. felis felis* e 50 de *R. sanguineus* e ocorreram nos dias -7, -2 e continuaram a cada sete dias, durante 40 dias com carrapatos e por 75 dias com pulgas. As avaliações para o cálculo de eficácia pulicida e carrapaticida ocorreram 48 horas após as infestações durante 42 dias para *R. sanguineus* e 77 dias para *C. felis felis*. A eficácia carrapaticida foi superior a 90% por até 28 dias para o controle de *R. sanguineus* e a eficácia pulicida foi superior a 90% por até 63 dias pós tratamento para o controle de *C. felis felis*. Com base nos resultados obtidos é possível afirmar que a associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spray” é eficaz para o controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

Palavras chave: controle; pulgas; carrapatos

ABSTRACT

The tick *Rhipicephalus sanguineus* and the flea *Ctenocephalides felis felis* are the most important ectoparasites for dogs in Brazil and in many other countries. They are responsible for causing the picture of allergic dermatitis the presence of ectoparasites, as well as, they have vector action of several pathogens for these animals. Fipronil is a synthetic molecule of the phenylpyrazole group with excellent insecticidal and acaricidal activity. While pyriproxyfen is an insect growth regulator, analogue of the hormone julvenil, which compromises the development of insects. The aim of this study was to evaluate the acaricidal and pulicidal efficacy of fipronil-pyriproxyfen in the spray formulation in artificially infested dogs. Twelve Beagle dogs, aged two to six years, eight males and four females were used for the study. The animals of the treated group received the combination of fipronil-pyriproxyfen at the dose of 7.5 mg and 4.44 mg, respectively, equivalent to four jets per kg of body weight, at day 0. The animals in the control group did not receive any type of treatment. The infestations were carried out with 100 specimens of *C. felis felis* and 50 of *R. sanguineus* and occurred on day -7, -2 and continued every seven days, for 40 days with ticks and for 75 days with fleas. The evaluations for the calculation of pulicidal efficacy and acaricidal efficacy occurred 48 hours after the infestations for 42 days for *R. sanguineus* and 77 days for *C. felis felis*. The acaricidal efficacy was higher than 90% for up to 28 days for the control of *R. sanguineus* and the pulicidal efficacy was greater than 90% for up to 63 days post treatment for the control of *C. felis felis*. Based on the results obtained it is possible to state that the association of fipronil and pyriproxyfen in the spray formulation is effective for the control of *R. sanguineus* and *C. felis felis* in artificially infested dogs.

Keywords: control; fleas; ticks

1 INTRODUÇÃO

O carrapato marrom dos cães, *R. sanguineus* é a espécie de maior importância no Brasil e em muitos países. Enquanto a subespécie *C. felis felis* é a mais prevalente em todo o mundo, acometendo tanto cães quanto gatos (BEAUCOURNU; MÉNIER, 1998; DANTAS-TORRES, 2008; MATTHEE et al., 2010; RUST; DRYDEN, 1997).

Estes parasitos, além de causarem incômodo e espoliação ao hospedeiro, são responsáveis pelo desenvolvimento de quadros alérgicos conhecidos como DAPE, que cursa com prurido intenso, alopecia, e ocasionalmente, com instalação de infecção secundárias causando piodermatite (PATTERSON, 2015).

O carrapato *R. sanguineus* é responsável pela transmissão de hemoparasitos como *Babesia* spp. *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* spp. e *Hepatozoon canis* responsáveis por causarem a doença do carrapato dos cães. As pulgas são hospedeiros intermediários do cestóide *Dipylidium caninum* e do nematóide *Acanthocheilonema reconditum* (BEUGNET; MARIÉ, 2009; CHOMEL; OTRANTO, 2012; SHAW et al., 2001). Estes dois parasitos tem sido estudados como potenciais vetores para a transmissão da leishmaniose visceral em cães (COUTINHO et al., 2005; COUTINHO; LINARDI, 2007).

Atualmente, existem diversos produtos e associações disponíveis no mercado para o controle de pulgas e carrapatos em cães. O fipronil é uma molécula sintética da classe dos fenilpirazoles com excelente atividade acaricida e inseticida. Seu mecanismo de ação está associado ao bloqueio da passagem do ânion cloreto nos neurônios pré e pós-sinápticos levando ao parasito a morte por hiperexcitação. Entretanto, o fipronil possui ação somente nos exemplares que estão se alimentando no animal, não promovendo o controle das formas evolutivas que estão no ambiente, não prevenindo reinfestações (BONNEAU, et al., 2010; CONSALVI, 1995; GUPTA; CADIERGUES, 2010; KUZNER et al., 2013; POSTAL; JEANNIN; BONNEAU; 1995).

Partindo do princípio que apenas 5% do total de parasitos estão sobre o animal e que os 95% restantes estão no ambiente em suas fases de vida não parasitária ou realizando mudas, torna-se importante a associação com produtos que possam realizar o controle dos parasitos enquanto não estão sobre os animais. Pensando nesta característica, foram introduzidos na década de 30, na agricultura, o uso de reguladores de crescimento de insetos. Estes fármacos possuem pouca ou nenhuma atividade sobre as formas adultas, mas são essenciais no controle das formas imaturas. Impedindo desta forma a ecdise dos estágios imaturos dos artrópodes (DANTAS-TORRES, 2008; RIDDIFORD, 1994; RUST, 2005; STAAL, 1975).

O piriproxifen é um análogo do hormônio juvenil que não é tão frequentemente utilizado no controle de ectoparasitos de cães. Atualmente, está disponível para a utilização em cães na associação com o dinotefuran, permetrina e na formulação “spot on”, associado a d-fenotrina na formulação “spray” ou associado a ciflutrina na formulação aerossol para ser aplicado em ambiente (BOUHSIRA et al., 2012; CORREIA et al., 2005; CORREIA et al., 2010; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012). Atualmente, a associação de fipronil-piriproxifen está disponível na formulação “spot-on” para o controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos (DE MARI et al., 2016; NAVARRO et al., 2016).

Com isso, este estudo tem como o objetivo avaliar a eficácia de uma associação de fipronil-piriproxifeno na formulação “spray” no controle do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães artificialmente infestados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais

O estudo teve aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal do Rio Rural do Rio de Janeiro (CEUA-IV-UFRRJ) com número de protocolo número 1633231015. O certificado e a errata encontram-se em anexo (Anexo A e Anexo B).

2.2 Seleção e Manejo dos Cães

Os cães utilizados neste estudo foram provenientes do canil do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), localizado no anexo I do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Inicialmente foram selecionados 20 cães da raça Beagle, machos e fêmeas, com idade entre um e seis anos e peso corporal entre 8,400 e 16,500 quilos. Todos os animais eram identificados com *transponder* implantados no tecido subcutâneo.

Os animais apresentaram bom estado sanitário e nutricional e estavam devidamente vermifugados e vacinados. Nenhum dos cães tinham sido tratados com nenhum medicamento ectoparasiticida, por pelo menos, dois meses antes do início do estudo.

Durante o período experimental os cães foram mantidos individualmente em baias totalmente cobertas com parte delas tem telhas transparentes de forma a permitir a entrada de raios solares. As baias apresentam as seguintes dimensões: altura de dois metros; largura de um metro e cinquenta centímetros, comprimento de um metro e cinquenta centímetros. O canil foi limpo todos os dias efetuando-se a retirada das fezes, e limpeza com jato de água da superfície do chão. Uma vez por semana foi passada em todas as baias vassoura de fogo para manutenção do ambiente isento de formas evolutivas de carrapatos. A alimentação durante este período foi realizada através de comedouros, fornecida duas vezes ao dia. Durante o período experimental os animais foram alimentados diariamente com 300g de ração comercial para cães adultos. A água foi fornecida em bebedouros apropriados à vontade.

2.3 Infestações

Nos dias em que ocorreram as infestações os animais foram desinfestados por meio da remoção mecânica de todos os ectoparasitos presentes. Os ectoparasitos utilizados foram provenientes da colônia do LQEPV mantida a mais de uma década sem reintrodução externa de espécimes. As infestações foram realizadas com 100 exemplares de *C. felis felis* (50 machos e 50 fêmeas) e 50 exemplares de *R. sanguineus* (25 machos e 25 fêmeas), todos não alimentados e com idade de 14 dias. Após a introdução das pulgas e carrapatos abaixo do pelame do animal, o mesmo era contido por um período de cinco minutos para permitir a dispersão e início da fixação dos mesmos. Evitando, desta forma, que o próprio animal removesse os exemplares prejudicando a avaliação do estudo. Os procedimentos descritos acima para as infestações foram realizados posteriormente nos tempos dos dias -7, -2, +5, +12, +19, +23, +26, +33, +40, +47, +54, +61, +68 e +75.

2.4 Contagem de Ectoparasitos

As desinfestações para contagem do número de pulgas vivas e de carrapatos vivos fixados foi realizada a cada 48 horas após a infestação, possuía como objetivos determinar a

eficácia do produto testado. Inicialmente foi realizada a avaliação para carrapatos por meio da inspeção manual por todo o corpo do animal para a retirada de carrapatos adultos vivos e fixados. Posteriormente os animais foram submetidos a avaliação através da metodologia “comb test”. Os animais foram avaliados com o auxílio de um pente fino próprio para retirada de pulgas, com aproximadamente 13 dentes por centímetro linear (MARCHIONDO et al., 2013). Os procedimentos descritos acima para as avaliações foram realizados nos tempos dos dias -5, +2, +7, +14, +21, +28, +35 e + 42 para carrapatos e seguiram nos dias +49, +56, +63, +70 e +77 para pulgas.

2.5 Randomização

No dia – 7 todos os 20 animais foram desinfestados, removendo mecanicamente, todos os ectoparasitos presentes nos mesmos e em seguida, os animais foram infestados. No dia – 5 foi realizada a remoção mecânica e contagem do número de pulgas e carrapatos vivos encontrados em cada animal. Para o ranqueamento foi constituído uma lista decrescente com as contagens de carrapatos presentes nos animais. Foi efetuado um sorteio de cada animal do mais parasitado para o menos parasitado, alocando-se um animal em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completou as seis repetições distribuídas em dois grupos experimentais: controle e tratado.

2.6 Tratamento

Os seis cães do grupo tratado foram submetidos à administração única pela via tópica (“spray”), do produto que continha fipronil-piriproxifen no dia 0. A dose utilizada for de 7,5 mg de fipronil e 4,44mg de piriproxifen/kg de peso corporal, equivalente a 4 jatos/kg.

A administração do produto foi realizada de forma a cobrir toda a pele e pelo dos animais, sendo que a pulverização foi realizada no sentido contrário do crescimento dos pelos e durante a aplicação os pelos foram massageados com o auxílio de uma luva para que o produto atingisse a pele do animal. Para administração na região da cabeça, o produto foi administrado na luva do aplicador e posteriormente esfregado na região da face de forma a evitar os olhos. Os animais pertencentes ao grupo controle não receberam qualquer tipo de tratamento.

2.7 Avaliação da Eficácia Adulticida

O cálculo de eficácia foi realizado a partir do número médio de pulgas vivas e carrapatos vivos e fixados encontrados no grupo controle (GC) e grupo tratado (GT) de acordo com as fórmulas abaixo:

Eficácia Pulcida(%) = 100 x (Média de Pulgas Vivas no GC - Média de Pulgas Vivas no GT) / (Média de Pulgas Recuperadas no GC)

Eficácia Carrapaticida(%) = 100 x (Média de Carrapatos Vivos e Fixados no GC - Média de Carrapatos Vivos e Fixados no GT) / (Média de Carrapatos Vivos e Fixados Recuperadas no GC)

2.8 Análise Estatística

Na análise estatística do ensaio os números médios de pulgas adultas vivas e carrapatos adultos vivos e fixados, foram submetidos a análise estatística para comparação de valores de médias. Inicialmente os dados das contagens de parasitos foram avaliados quanto à normalidade

de distribuição através de Shapiro Wilk. Como os resultados não apresentaram distribuição normal (não paramétricos) foram avaliados através do teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância considerado em todos os testes foi de 95% ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico computacional livre Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de sexo, idade e peso e quantidade do produto administrado nos animais do grupo tratado estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Número de animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil-piriproxifen.

Grupo	Número de Animais	Sexo	Idade (meses)	Peso* (Kg)	Volume Empregado (Jatos)
Controle	6	4 M, 2 F	36 a 60	12,67*±1,31	- - -
Tratado	6	4 M, 2 F	24 a 72	13,63*±3,24	58*±9

*Média Aritimética; M = macho; F= fêmea; Kg = quilogramas

As contagens para *R. sanguineus* foi superior a 20% na avaliação pré-tratamento. A média geométrica dos carrapatos vivos e fixados do grupo controle foi 23,65, enquanto no grupo tratado foi de 23,78, não existindo diferença estatística entre as mesmas ($p>0,05$).

Os animais do grupo controle continuaram apresentando contagem alta durante todo o estudo. As médias geométricas de carrapatos vivos e fixados foi de: dia 31,44; 35,67; 35,52; 34,79; 30,20; 24,49 e 27,57 para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 respectivamente.

Considerando as médias geométricas de carrapatos vivos e fixados, o grupo tratado apresentou os seguintes resultados: dia 1,52; 1,10; 2,52; 3,04; 2,61; 2,50 e 4,90 para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 respectivamente. Ao comparar estatisticamente as médias de carrapatos fixos e vivos entre os grupos, foi detectada diferença significativa ($p\leq 0,05$) em todos os dias experimentais após o tratamento.

A eficácia carrapaticida da associação testada foi de: 95,16%; 96,92%; 92,89%; 91,26%; 91,34%; 89,78% e 82,22% para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 respectivamente. As contagens de carrapatos detalhada por cada animal nos dias experimentais encontram-se em anexo (Anexo C).As médias das contagens de carrapatos vivos e fixados encontrada nos cães do grupo controle e tratado após o tratamento e eficácia estão demonstradas na Tabela 2 e Figura 3.

Tabela 2. Média geométrica da contagem de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) vivos e fixados nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen.

Dia Experimental	Grupo Controle Média*	Grupo Tratado Média*	Eficácia
+2	31,44 ^a ±10,83	1,52 ^b ±2,12	95,16%
+7	35,67 ^a ±3,89	1,10 ^b ±4,08	96,92%
+14	35,52 ^a ±10,12	2,52 ^b ±2,87	92,89%
+21	34,79 ^a ±8,40	3,04 ^b ±3,82	91,26%
+28	30,20 ^a ±10,28	2,61 ^b ±1,57	91,34%
+35	24,49 ^a ±4,95	2,50 ^b ±2,69	89,78%
+42	25,57 ^a ±3,15	4,90 ^b ±3,41	82,22%

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, valor de $p>0,05$ (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas , $p\text{-value} < 0,05$ (há diferença estatística)

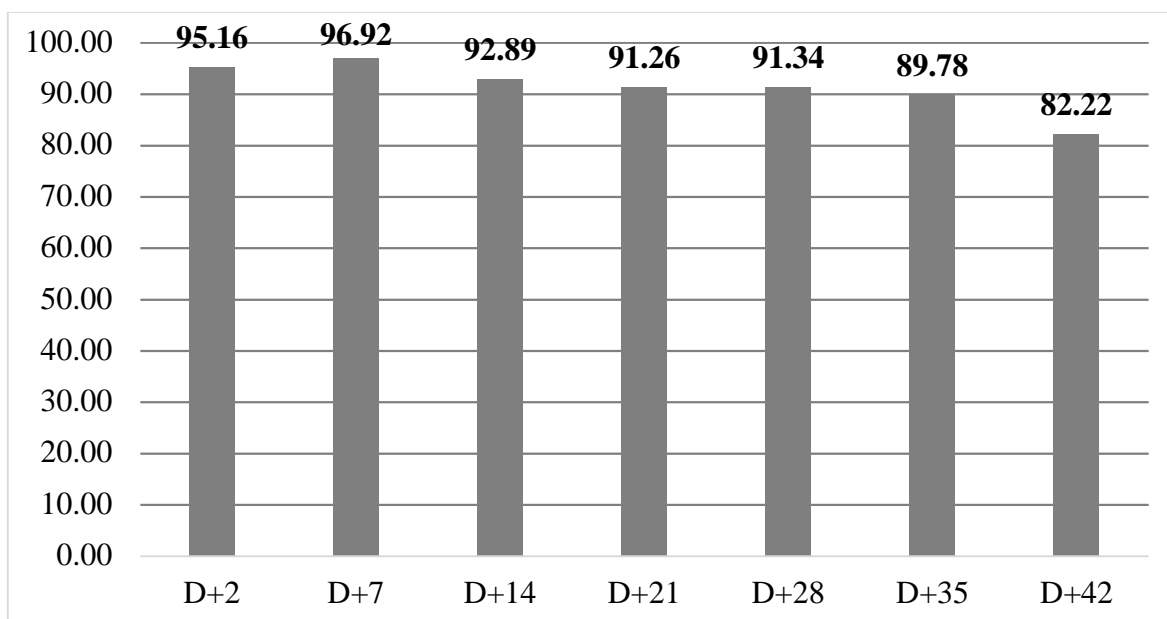


Figura 3. Eficácia geométrica para o carrapato (*Rhipicephalus sanguineus*) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray”.

O fipronil utilizado isoladamente, pela via tópica e formulação “spot on”, mostrou possuir eficácia carrapaticida semelhante com as encontradas por este estudo, superior a 90% durante 28 dias (KUŽNER et al., 2013). Da mesma forma, estudos utilizando a associação fipronil-(S)-metoprene e a associação fipronil-(S)-metoprene-amitraz, em formulação “spot on” também apresentaram eficácia semelhantes pelo mesmo período de tempo das encontradas neste estudo ((MCCALL et al., 2004; OTRANTO et al., 2005; BRIANT et al., 2010; BAGGOTT et al., 2011; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012).

Apesar de formulações “sprays” possuírem baixo efeito residual e, em teoria, possuírem eficácia persistente por um tempo menor quando comparado a formulações “spot on” (GRAF et al., 2004; PATON; WALKER, 1988; PAYNE et al., 2001). A formulação avaliada neste estudo apresentou excelentes níveis de eficácia por 28 dias, evidenciando que possui efeito residual semelhante a formulações “spot on”.

Na avaliação da eficácia pulicida, todos os cães apresentaram contagem média de pulgas acima a 25% na avaliação realizada pré-tratamento. A média geométrica no grupo controle foi de 32,93 e no grupo tratado foi de 34,71 e não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$).

Os animais do grupo controle permaneceram com a contagem alta durante todo o estudo. A média geométrica apresentou os seguintes valores de pulgas vivas: dia 24,91; 27,33; 28,82; 36,38; 32,93; 31,79; 39,11; 45,20; 42,03; 41,91; 42,83 e 43,23 para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70 e +77 respectivamente.

As médias geométricas de pulgas vivas, o grupo tratado apresentou os seguintes resultados: zero; zero; 0,10; 0,35; 2,49; 1,46; 0,74; 1,37; 1,89; 3,63; 6,70 e 9,47 respectivamente para os mesmos dias citados acima. Ao comparar estatisticamente as médias de pulgas vivas entre os dois grupos (controle e tratado), foi detectada diferença significativa ($p \leq 0,05$) para todos os dias experimentais após o tratamento.

Considerando a média geométrica, a eficácia pulicida de: 100%; 100%; 99,64%; 99,05%; 92,44%; 95,42%; 98,11%; 96,97%; 95,51%; 91,35%; 84,36% e 78,08 % para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70 e +77 respectivamente. As contagens de pulgas detalhada por cada animal nos dias experimentais encontram-se em anexo (Anexo D).

As médias das contagens de pulgas vivas encontrada nos cães do grupo controle e tratado após o tratamento está demonstrada na Tabela 3 e Figura 4.

Tabela 3. Média geométrica da contagem de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen.

Dia Experimental	Grupo Controle Média*	Grupo Tratado Média*	Eficácia
+2	24,91 ^a ±7,65	0 ^b ±0	100%
+7	27,33 ^a ±14,35	0 ^b ±0	100%
+14	28,82 ^a ±20,85	0,1 ^b ±0,38	99,64%
+21	36,38 ^a ±16,22	0,35 ^b ±1,13	99,05%
+28	32,93 ^a ±13,30	2,49 ^b ±1,86	92,44%
+35	31,79 ^a ±11,07	1,46 ^b ±1,91	95,42%
+42	39,11 ^a ±14,90	0,74 ^b ±1,15	98,11%
+49	45,20 ^a ±8,73	1,37 ^b ±2,24	96,97%
+56	42,03 ^a ±7,70	1,89 ^b ±2,43	95,51%
+63	41,91 ^a ±6,18	3,63 ^b ±2,41	91,35%
+70	42,83 ^a ±7,11	6,70 ^b ±3,25	83,36%
+77	43,23 ^a ±9,70	9,47 ^b ±3,13	78,08%

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, valor de $p > 0,05$ (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, $p\text{-value} < 0,05$ (há diferença estatística)

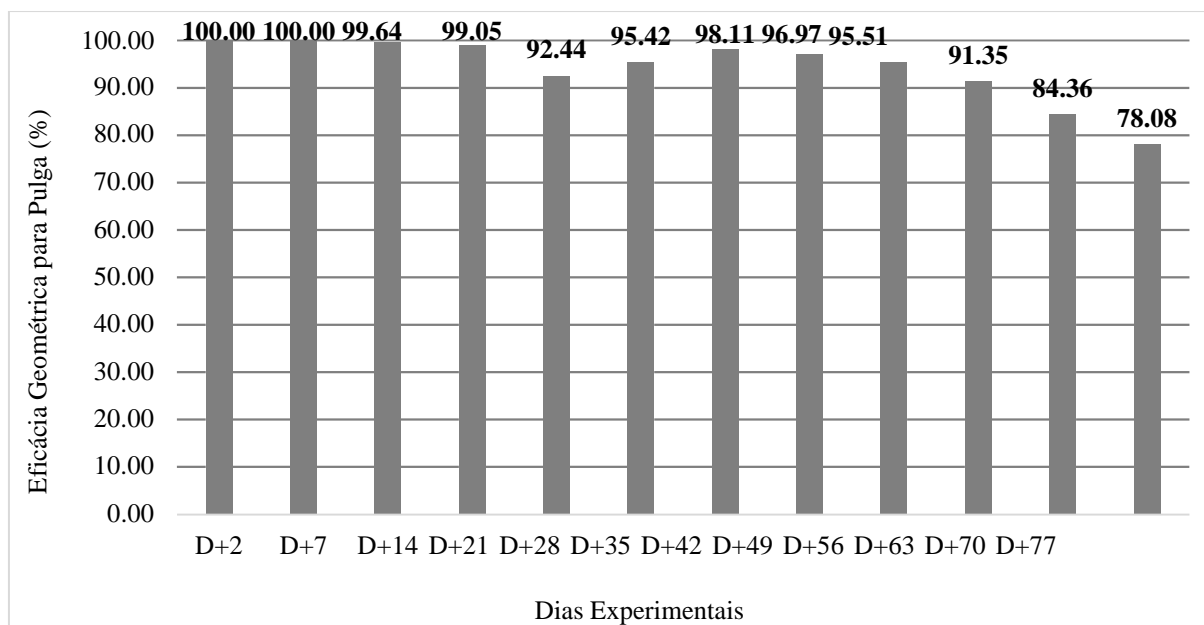


Figura 4. Eficácia geométrica para a pulga (*Ctenocephalides felis felis*) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”.

De acordo com Marchiondo et. al. (2013), os níveis de eficácia para pulgas devem ser iguais ou superiores a 90%. Com base neste parâmetro a associação testada foi eficaz no controle de *C. felis felis* por até 63 dias após o tratamento, considerando como base dos cálculos as médias geométricas.

Postal, Jeannin e Consalvi (1995) mostraram em seu estudo que o fipronil a 0.25% quando administrado pela via tópica “spray” foi eficaz no controle de *C. felis felis* em cães e gatos por um período de 60 dias, semelhante aos resultados obtidos neste estudo. De forma

semelhante, mostraram que a formulação “spot on” contendo fipronil 10% foi de superior a 90% por 35 dias (YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004) e 58 dias após o tratamento (KUŽNER et al., 2013).

Os resultados obtidos foram semelhantes à outros estudos realizados em que utilizaram o fipronil de forma isolada ou em associação fipronil-(S)-metopreno na formulação “spot on”. A eficácia nestes estudos ficaram próxima ao 100% durante 60 dias (MCCALL et al., 2004; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012).

Não foi observado aumento da eficácia pulicida pelo sinergismo pela associação do fipronil-piriproxifen. A eficácia pulicida demonstrada neste estudo foi oriundo da ação do fipronil. Meola et al. (2001) demonstraram que o piriproxifen também pode ter um potencial adulticida a longo prazo, eliminando as pulgas por impedir delas se alimentarem, tal efeito só foi observado a partir de exposição constante ao piriproxifen por 10 dias.

A associação do fipronil-piriproxifen na formulação “spray” apresentou excelente eficácia para o controle do carrapato *R. sanguineus* e da pulga *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

CAPÍTULO II

**EFICÁCIA “SPEED OF KILL” DA ASSOCIAÇÃO DE FIPRONIL-PIRIPROXIFEN
NA FORMULAÇÃO “SPRAY” SOBRE *Ctenocephalides felis felis* E *Rhipicephalus
sanguineus sensu lato* EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS**

RESUMO

Carrapatos e pulgas são ectoparasitos de cães e gatos mais frequente em todo mundo. Causam irritação e espoliação aos hospedeiros, levam ao desenvolvimento de quadros alérgicos, além de serem responsáveis pela transmissão de diversos agentes patogênicos. Bons ectoparasiticidas são aqueles capazes de eliminarrapidamente os parasitos presentes no animal, previnindo desta forma a transmissão de patógenos e reduzindo a exposição de cães e gatos à alérgenos presentes na saliva destes parasitos. O fipronil possui uma ação “speed of kill” de oito a 12 horas para pulgas e de 24 a 48 horas para carrapatos. O objetivo deste trabalho foi avalaiar a eficácia “speed of kill” de uma associação de fipronil-piriproxifen sobre o carrapato *R. sanguineus* e a pulga *C. felis felis* em cães artificialmente infestados. Para o estudo foram selecionados 36 cães, da raça beagle, com idade entre dois a cinco anos e peso de 9,250 e 15,950 quilos, divididos em seis grupos experimentais: grupo controle e tratado avaliado duas horas após tratamento / avaliações; . grupo controle e tratado avaliado quatro horas após tratamento; e grupo controle e tratado avaliado 24 horas após tratamento Os cães foram infestados nos dias -2, +5, +12, +19 e +26 com 100 exemplares de *C. felis felis* e 50 de *R. sanguineus*. As avaliações foram realizadas nos tempos de duas, quatro e 24 horas após o tratamento e infestação por um período de 28 dias. As datas de contagem dos parasitos para a determinação da eficácia foi no dia experimental 0, +1, +7, +8, +14, +15, +21, e+22 e seguiu para os dias +28, +29 para a avaliação de *C. felis felis*. Os resultados de eficácia carrapaticida foram: para o grupo avaliado duas horas após tratamentos/infestações 37,64%; 18,95%; 36,94% e 25,74% para os dias zero, +7, +14 e +21 respectivemetne; para o grupo avaliado quatro horas após tratamentos/infestações 44,61%; 40,37%, 4,88% e 2,37% para os mesmos dias experimentais citados anteriormente; e para os animais avaliados 24 horas após tratamentos/infestações 86,55%; 77,24%; 80,04% e 70,93% para os dias +1, +8, +15 e +22 respectivamente. Já os resultados da eficácia pulcida foram: para o grupo avaliado duas horas após tratamentos/infestações 77,82%; 0; 99,12% 7; 83,76% ; 84,39% 79,42% para os dias zero,+7, +14, +21 e +28 respectivamente; para o grupo avaliado quatro horas após tratamentos/infestações 91,75%; 98,71%; 98,35%; 88,51% e 85,39% para os dias zero, +7, +14, +21 e 28 respectivamente; e para os animais avaliados 24 horas após tratamentos/infestações 98,77%; 97,86%; 98,34%; 95,45% e 98,17% para os dias +1, +8, +15, +22 e +29. A associação de fipronil com piriproxifen não apresentou boa eficácia “speed of kill” para o carrapato *R. sanguineus*. No entanto, apresentou excelente eficácia para o rápido controle da pulga *C. felis felis*.

Palavras-chaves: controle; pulgas; carrapatos

ABSTRACT

Ticks and fleas are ectoparasites of dogs and cats more frequent all over the world. They cause irritation and spoliation to the hosts, lead to the development of allergic conditions, besides being responsible for the transmission of several pathogens. Ectoparasiticides should be able to rapidly eliminate the parasites present in the animal, thus preventing the transmission of pathogens and reducing the exposure of dogs and cats to the allergens present in the saliva of these parasites. Fipronil has a speed of kill action of eight to 12 hours for fleas and 24 to 48 hours for ticks. The objective of this work was to evaluate the speed of kill of a combination of fipronil-pyriproxyfen on the *R. sanguineus* tick and the *C. felis felis* flea on artificially infested dogs. For the study, 36 beagle dogs, aged between two and five years and weighing 9,250 and 15,950 kg, were divided in six experimental groups: control group and treated two hours after treatment / evaluations; . control and treated group evaluated four hours after treatment; and control and treated group evaluated 24 hours after treatment Dogs were infested on days -2, +5, +12, +19 and +26 with 100 specimens of *C. felis felis* and 50 of *R. sanguineus*. Evaluations were performed at two, four and 24 hours post treatment and infestation for a period of 28 days. The counting dates of the parasites for the determination of efficacy were on the experimental day 0, +1, +7, +8, +14, +15, +21, and +22 and followed for days +28, +29 for evaluation of *C. felis felis*. The results of carrapatent efficacy were: for the group evaluated two hours after treatments / infestations 37.64%; 18.95%; 36.94% and 25.74% for days zero, +7, +14 and +21 respectively; for the group evaluated four hours after treatments / infestations 44.61%; 40.37%, 4.88% and 2.37% for the same experimental days as mentioned above; and for animals evaluated 24 hours after treatments / infestations 86.55%; 77.24%; 80.04% and 70.93% for days +1, +8, +15 and +22 respectively. The results of pulicidal efficacy were: for the group evaluated two hours after treatments / infestations 77.82%; 0; 99.12%; 83.76%; 84.39% 79.42% for days zero, + 7, +14, +21 and +28 respectively; for the group evaluated four hours after treatments / infestations 91.75%; 98.71%; 98.35%; 88.51% and 85.39% for days zero, +7, +14, +21 and 28 respectively; and for animals evaluated 24 hours after treatments / infestations 98.77%; 97.86%; 98.34%; 95.45% and 98.17% for days +1, +8, +15, +22 and +29. The association of fipronil with pyriproxyfen did not show good "speed of kill" efficacy for the *R. sanguineus* tick. However, it showed excellent efficacy for the rapid control of the *C. felis felis* flea.

Keywords: control; fleas; ticks

1 INTRODUÇÃO

Pulgas e carrapatos são ectoparasitos que causam incomodo a animais de companhia e seus tutores. Além do desconforto, são responsáveis pela transmissão de diversos agentes patogênicos, causam irritação, anemia, e podem provocar o quadro de dermatite alérgica a presença de ectoparasitos (DANTAS-TORRES, 2008; PATTERSON, 2015).

Entre os patógenos transmitidos por carrapatos no Brasil podemos citar: *Babesia* spp., *Rangelia vitalli*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Leishmania chagasi* e *Hepatozoon canis*, *Mycoplasma haemocanis* (COUTINHO et al., 2005; GROVES et al., 1975; LORETTI; BARROS, 2005; NORDGREN; CRAIG, 1984; PARKER; PHILIP; JELLISON, 1933; REGENDANZ; MUNIZ, 1936; SEN et al., 1933; SIMPSON et al., 1991). As pulgas do gênero *Ctenocephalides* estão associadas a transmissão de hemoparasitos como *Rickettsia* spp., *Bartonella hanselae*, *Mycoplasma* spp. *Leishmania chagasi* (GEHRKE et al., 2009; HORNOK, 2010; MEXAS; HANCOCK; BREITSCHWERDT, 2002). São também considerados hospedeiros intermediários de helmintos como: *Dipylidium caninum* e *Acanthocheilonema reconditum* (JEFFERIES, 2004; NELSON, 1962; PUGH, 1987; IRWIN; TRAVERSA, 2013).

Bons produtos ectoparasiticidas são aqueles capazes de eliminar os parasitos presentes no animais e controlar os instares imaturos presentes no ambiente. Os IGR são excelentes para o controle ambiental de ectoparasitos, no entanto, não são capazes, isoladamente, de realizar o controle eficiente das formas adultas presentes no animal (DRYDEN, 2014; SCHENKER et al., 2003).

O fipronil é um ectoparasiticida pertencente ao grupo dos fenilpirazoles com excelente eficácia adulticida para ácaros e insetos, especialmente *R. sanguineus* e *C. felis felis*. Contudo, não possui ação repelente, sendo comum encontrar sobre o animal pulgas e carrapatos recentemente alimentados que ainda não morreram (BAGGOTT et al., 2011; BRIANT et al., 2010; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012; KUŽNER et al., 2013 MCCALL et al., 2004;; OTRANTO et al., 2005; POSTAL; JEANNIN; CONSALVI, 1995; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

A eficácia “speed of kill” do fipronil já foi demonstrada isoladamente ou em associação com outros ectoparasiticidas possuindo em média uma eficácia para eliminação dos exemplares de pulgas adultas entre oito e 12 horas e para carrapatos em média de 24 a 48 horas. Contudo, não existem registros na literatura se a associação do fipronil-piriproxifen possa reduzir o tempo de eliminação deste parasitos (BRIANTI et al., 2010; CRUTHERS et al., 2001; FRANC; BEUGNET, 2008; FOURIE et al., 2011; SCHENKER et al., 2003).

A determinação do “speed of kill” de um produto ectoparasiticida é importante no controle de carrapatos e pulgas, uma vez que quanto mais rápido o produto elimina estes parasitos, maior a chance de interromper seu ciclo de vida e impedir a infestação do ambiente e reinfestações dos animais e tutores (CRUTHERS et al., 2001; DRYDEN, 2014).

Além disso, animais com DAPE se beneficiam de uma rápida eliminação do parasito, expondo-os a um menor tempo aos antígenos salivares dos parasitos. Produtos que agem de maneira rápida também auxiliam na prevenção da transmissão de agentes patogênicos como *Babesia* spp. *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* spp. tendo em vista que estes patógenos precisam que os carrapatos fiquem fixados no hospedeiro por um longo período de tempo (DRYDEN, 2014; DRYDEN; PAYNE, 2004; PATTERSON, 2015).

Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de uma nova formulação “spray” contendo a associação de fipronil e piriproxifen frente a pulga *C. felis felis* e o carrapato *R. sanguineus* nos tempos de duas, quatro e 24 horas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais

O estudo teve aprovação pelo CEUA-IV-UFRRJ com número de protocolo 8907151016. O mesmo encontra-se em anexo (Anexo E)

2.2 Seleção e Manejo dos Cães

Os cães utilizados neste estudo pertenciam ao canil do LQEPV pertencente ao anexo I do IV da UFRRJ. Foram selecionados 36 cães da raça Beagle, 24 machos e 12 fêmeas, com idade entre um e cinco anos e peso corporal entre 9,250 e 15,950 kg. Todos os animais eram identificados com *transponder* implantados no tecido subcutâneo.

Os animais apresentaram bom estado sanitário e nutricional e estavam devidamente vermifugados e vacinados. Nenhum dos cães tinham sido tratados com nenhum medicamento ectoparasiticida, por pelo menos, dois meses antes do início do estudo.

Durante o período experimental os cães foram mantidos individualmente em baias totalmente cobertas com parte delas tem telhas transparentes de forma a permitir a entrada de raios solares. As baias apresentam as seguintes dimensões: altura 2,00 m; largura 1,50 m; comprimento 1,50 m. O canil foi limpo todos os dias efetuando-se a retirada das fezes, e limpeza com jato de água da superfície do chão. Uma vez por semana foi passada em todas as baias vassoura de fogo para manutenção do ambiente isento de formas evolutivas de carrapatos. A alimentação durante este período foi realizada através de comedouros, fornecida duas vezes ao dia. Durante o período experimental os animais foram alimentados diariamente com 300g de ração comercial para cães adultos. A água foi fornecida em bebedouros apropriados à vontade.

2.2 Randomização

No dia -7, todos os 36 animais foram desinfestados, removendo mecanicamente, todos os ectoparasitos presentes nos mesmos e em seguida, os animais eram infestados. No dia - 5 foi realizada a remoção mecânica e contagem do número de pulgas e carrapatos vivos encontrados em cada animal. Para o ranqueamento foi constituído uma lista decrescente com as contagens de carrapatos presentes nos animais. Foi efetuado um sorteio de cada animal do mais parasitado para o menos parasitado, alocando-se um animal em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completou as seis repetições distribuídas em seis grupos experimentais distribuídos da seguinte maneira: 12 animais avaliados 2h após tratamento e infestações(GC-2h e GT-2h), 12 animais avaliados 4h após tratamento e infestações(GC-4h e GT-4h), 12 animais avaliados 24h após tratamento e infestações(GC-24h e GT-24h).

2.3 Infestações

Nos dias em que ocorreram as infestações os animais eram desinfestados por meio da remoção mecânica de todos os ectoparasitos presentes. Os ectoparasitos utilizados eram provenientes da colônia do LQEPV mantida a mais de uma década sem reintrodução externa de espécimes. As infestações foram realizadas com 100 exemplares de *C. felis felis* (50 machos e 50 fêmeas) e 50 exemplares de *R. sanguineus* (25 machos e 25 fêmeas), todos não alimentados e com idade de 14 dias. Após a introdução das pulgas e carrapatos abaixo do pelame do animal, o mesmo era contido por um período de cinco minutos para permitir a dispersão e início da fixação dos mesmos. Evitando, desta forma, que o próprio animal removesse os exemplares

prejudicando a avaliação do teste. Os procedimentos descritos acima para as infestações foram realizados posteriormente nos tempos dos dias -2, +7, +14, +21 e +28.

2.4 Contagem de Ectoparasitos

As desinfestações para contagem do número de pulgas vivas e de carrapatos vivos fixados era realizada a cada 48 horas após o tratamento/infestação, possuía como objetivos determinar a eficácia do produto. Inicialmente foi realizada a avaliação para carrapatos através da inspeção manual por todo o corpo do animal de forma a inspeciona-la para a presença e remoção de carrapatos adultos vivos e fixados. Posteriormente os animais foram submetidos a avaliação através da metodologia “comb test”. Os animais foram avaliados com o auxílio de um pente fino próprio para retirada de pulgas, com aproximadamente 13 dentes por centímetro linear (MARCHIONDO et al., 2013). Os procedimentos descritos acima para as avaliações foram realizados nos tempos dos dias -5, 0, +7, +8, +14, +15 +21, +22, +28 e +29.

2.5 Tratamento

Os 18 cães do grupo tratado foram submetidos à administração única pela via tópica (“spray”), do produto que continha fipronil-piriproxifen no dia 0. A dose utilizada for de 7,5 mg de fipronil e 4,44 de piriproxifen/kg de peso corpóreo, equivalente a 4 jatos/kg de peso corpóreo.

A administração do produto foi realizada de forma a cobrir toda a pele e pelo dos animais, sendo que a pulverização foi realizada no sentido contrário do crescimento dos pelos e durante a aplicação os pelos foram massageados com o auxílio de uma luva para que o produto atingisse a pele do aplicador. Para administração na região da cabeça, o produto foi administrado na luva do aplicador e posteriormente esfregado na região da face de forma a proteger os olhos. Os animais pertencentes ao grupo controle não receberam qualquer tipo de tratamento.

2.6 Avaliação da Eficácia

O cálculo de eficácia para cada período de tempo avaliado (duas, quatro e 24 horas) foi realizado a partir do número médio de pulgas vivas e carrapatos vivos e fixados encontrados no GC e GT de acordo com as fórmulas abaixo:

Eficácia Pulcida (%) = $100 \times (\text{N}^\circ \text{ de Pulgas Vivas no GC} - \text{N}^\circ \text{ de Pulgas Vivas no GT}) / (\text{N}^\circ \text{ de Pulgas Recuperadas no GC})$

Eicácia Carrapaticida (%) = $100 \times (\text{N}^\circ \text{ de Carrapatos Vivos e Fixados no GC} - \text{N}^\circ \text{ de Carrapatos Vivos e Fixados no GT}) / (\text{N}^\circ \text{ de Carrapatos Vivos e Fixados Recuperadas no GC})$

2.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico computacional BioStat 5.0. Inicialmente foi realizada a avaliação da normalidade dos dados Shapiro-Wilk. Como os dados não apresentarem distribuição normal (não paramétricos) o teste empregado foi o de Kruskal Wallis, e o nível de significância considerado foi de $p \leq 0,05$ (95%) (AYRES et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de sexo, idade e peso e quantidade do produto administrado nos animais do grupo tratado estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4. Número de animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil-piriproxifen.

Grupo	Tempo de Avaliação	Número de Animais	Sexo	Idade (meses)	Peso* (Kg)	Volume Empregado* (Jatos)
Controle	2 horas	6	4 M, 2 F	24 – 60	12,11±2,28	- - -
Tratado		6	4 M, 2 F	24 – 60	12,75±1,37	50,7±5,5
Controle	4 horas	6	4 M, 2 F	24 – 60	11,61±1,46	- - -
Tratado		6	4 M, 2 F	48 – 60	12,27±2,42	48,5±9,5
Controle	24 horas	6	4 M, 2 F	24 – 60	12,63±0,79	- - -
Tratado		6	4 M, 2 F	48 – 60	13,56±1,80	53,8±6,6

*Média Aritimética; M = macho; F= fêmea; Kg = quilogramas

Para os cães avaliados duas horas após tratamentos/infestações as médias geométricas das contagens de *R. sanguineus* para o grupo controle foram: 20,17 para o dia -5; 24,20 para o dia 0; 39,40 para o dia 7; 35,02 para o dia 14; e 39,30 para o dia 21. Para o grupo tratado foram: 20,10 para o dia -5; 15,09 para o dia 0; 31,93 para o dia 7; 22,08 para o dia 14 e 29,18 para o dia 21. As eficácias obtidas foram: 37,64% para o dia 0; 18,95% para o dia +7; 36,94% para o dia +14 e 25,74% para o dia +21.

Para os animais avaliados quatro horas após tratamentos/infestações as médias geométricas das contagens de *R. sanguineus* para o grupo controle foram: 17,75 para o dia -5; 30,05 para o dia 0; 41,85 para o dia 7; 34,78 para o dia 14 e 36,89 para o dia 21. Por outro lado, as médias do grupo tratado foram 18,56 para o dia -5; 16,64 para o dia 0; 24,96 para o dia 7; 33,08 para o dia 14 e 36,02 para o dia 21. A eficácia obtida com as médias geométrica foram: 44,61% para o dia 0; 40,37% para o dia +7; 4,88% para o dia +14 e 2,37% para o dia +21.

Para os animais avaliados 24 horas após tratamentos/infestações as médias geométricas das contagens de *R. sanguineus* para o grupo controle foram: 16,67 para o dia -5; 23,70 para o dia 1; 25,10 para o dia 8; 19,27 para o dia 15 e 35,56 para o dia 22. Para o grupo tratado, as médias foram 18,46 para o dia -5; 3,19 para o dia 1; 5,71 para o dia 8; 3,85 para o dia 15 e 10,34 para o dia 22. A eficácia obtida com as médias geométrica foram: 86,55% para o dia 1; 77,24% para o dia +8; 80,04% para o dia +15 e 70,93% para o dia +22.

As médias geométricas dos grupos grupos controles e tratados durante o estudo estão descritas na Tabela 5 e Figura 5. Os resultados das contagens de carrapatos individuais em cada animal do estudo estão no Anexo F.

Tabela 5. Média geométrica da contagem de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) vivos e fixados nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

Dia Experimental		Grupo Controle	Grupo Tratado	Eficácia (%)
		Média*	Média*	
-5	+ 2 horas	20,17 ^a ±13,93	21,43 ^a ±9,46	-
	+ 4 horas	17,75 ^a ±7,77	17,94 ^a ±10,63	-
	+ 24 horas	16,67 ^a ±8,37	19,06 ^a ±9,50	-
0	+ 2 horas	24,20 ^a ±4,28	21,53 ^a ±10,63	11,03
	+ 4 horas	30,05 ^a ±7,78	14,57 ^b ±9,47	51,51
	+ 24 horas	23,70 ^a ±6,28	6,02 ^b ±2,42	74,58
+7	+ 2 horas	39,40 ^a ±6,59	23,41 ^a ±5,54	40,57
	+ 4 horas	41,85 ^a ±6,83	25,80 ^b ±10,90	38,35
	+ 24 horas	25,10 ^a ±5,01	22,79 ^a ±5,61	9,21
+14	+ 2 horas	35,02 ^a ±8,90	23,41 ^a ±11,61	25,36
	+ 4 horas	34,78 ^a ±8,04	28,19 ^a ±9,17	18,94
	+ 24 horas	19,27 ^a ±11,29	21,46 ^a ±11,57	0
+21	+ 2 horas	39,30 ^a ±1,86	31,10 ^b ±7,54	20,85
	+ 4 horas	36,89 ^a ±5,00	36,0 ^a ±6,44	2,40
	+ 24 horas	35,36 ^a ±6,20	30,36 ^a ±15,20	14,06

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, p -value >0,05 (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, p -value < 0,05 (há diferença estatística).

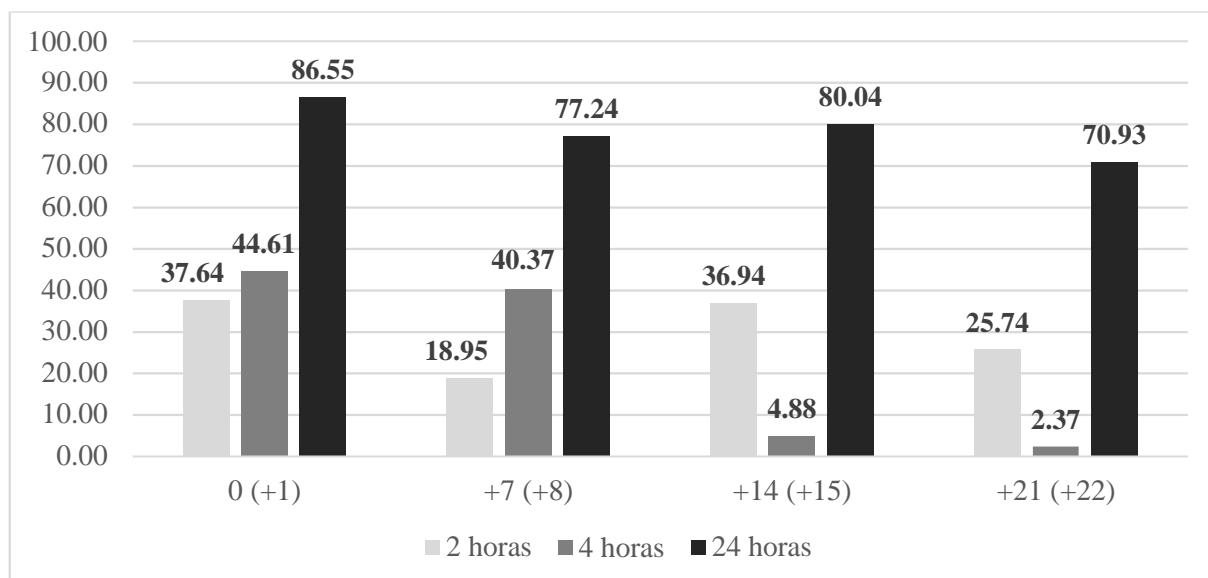


Figura 5. Eficácia geométrica para o carrapato (*Rhipicephalus sanguineus*) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray” nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

É possível observar com os resultados de eficácia descrito na Tabela 5 que nenhum dos tempos avaliados a associação com fipronil-piriproxifen apresentou eficácia superior a 90%, conforme determinado por Marchiondo et al. (2013). Isso mostra que o produto testado não apresenta eficácia para eliminação dos carrapatos nos animais em até 24 horas. É importante ressaltar que a eficácia crescente entre os momentos experimentais avaliados e com base nos resultados obtidos no capítulo anterior, é possível afirmar que a formulação testada é capaz de eliminar *R. sanguineus* com 48 horas. Os resultados demonstrados neste estudo são diferentes dos

apresentados na literatura, que mostraram que o fipronil sozinho ou associado à outros ativos, como (S)-metoprene ou amitraz, apresenta eficácia satisfatória para a eliminação do *R. sanguineus* em um período de 24 à 48 horas (CRUTHERS et al., 2001; BAGGOTT et al., 2011; BEUGNET, 2008; BRIANT et al., 2010; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012; KUŽNER et al., 2013; MCCALL et al., 2004; SCHENKER et al., 2003). Carrapatos necessitam de maior tempo de exposição à ectoparasiticida quando comparados aos insetos, fazendo com que a eficácia “speed of kill” seja mais demorada (DANTAS-TORRES, 2010).

Todos os cães incluídos no estudo apresentaram contagem de pulgas superior a 25% na avaliação pré-tratamento. Para os animais avaliados com duas horas após o tratamento/infestações as médias geométricas das contagens de *C. felis felis* para o grupo controle foram: 61,25; 40,59; 55,07; 41,33; 49,08 e 48,36. Enquanto o grupo tratado os resultados das médias geométricas foram 80,67; 9,50; 0,50; 7,33; 7,83 e 10,67 para os dias -5, 0, +7, +14, +21 e +28. A eficácia obtida com as médias geométrica foram: 91,26%; 99,53%; 88,45%; 85,70%; 85,53 para os dias 0, +7, +14, +21 e +28, respectivamente.

Os cães que foram avaliados com quatro horas após o tratamento/infestações as médias geométricas para o grupo controle foram: 56,16; 59,68; 45,52; 21,09; 47,99 e 44,33. Para o grupo tratado para o grupo tratado foram: 64,38; 4,92; 0,59; 0,35; 5,51 e 6,47 para os dias -5, 0, +7, +14, +21 e +28. A eficácia obtida com as médias geométrica foram: 91,75%, 98,71%, 98,35% 88,51%, 85,39% para os dias 0, +7, +14, +21 e +28, respectivamente.

Na avaliação dos animais com 24 horas após o tratamento/infestações as médias geométricas para o grupo controle foram: 55,44; 28,35; 23,98; 24,95; 34,91 e 42,61. As médias geométricas do grupo tratado foram: 57,60; 0,35; 0,51; 0,41; 1,59 e 0,78 para os dias -5, +1, +8, +15, +22 e +29 respectivamente. A eficácia obtida com as médias geométrica foram: 98,77%, 97,86%, 98,34%, 95,45% e 98,17% para os dias +1, +8, +15, +22 e +29, respectivamente. As médias geométricas e eficácia dos grupos controle e tratado estão ilustradas na Tabela 6 e Figura 6. Os resultados detalhados da contagem de pulgas individual nos animais do estudo estão no Anexo G.

Tabela 6. Média geométrica da contagem de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

Dia Experimental		Grupo Controle Média*	Grupo Tratado Média*	Eficácia (%)
-5	+ 2 horas	61,65 ^a ±19,84	80,32 ^a ±8,43	-
	+ 4 horas	56,16 ^a ±23,81	63,38 ^a ±19,17	-
	+ 24 horas	55,44 ^a ±15,69	57,60 ^a ±21,07	-
0	+ 2 horas	40,59 ^a ±15,65	3,55 ^b ±17,48	91,26
	+ 4 horas	59,68 ^a ±22,80	4,92 ^b ±6,12	91,75
	+ 24 horas	28,35 ^a ±10,15	0,35 ^b ±0,84	98,77
+7	+ 2 horas	55,07 ^a ±15,45	0,26 ^b ±1,22	99,53
	+ 4 horas	45,52 ^a ±18,05	0,59 ^b ±2,80	98,71
	+ 24 horas	23,98 ^a ±3,54	0,51 ^b ±0,82	97,86
+14	+ 2 horas	41,33 ^a ±20,06	4,77 ^b ±7,06	88,45
	+ 4 horas	21,09 ^a ±12,73	0,35 ^b ±0,84	98,35
	+ 24 horas	24,95 ^a ±3,76	0,41 ^b ±2,86	98,34
+21	+ 2 horas	49,08 ^a ±11,77	7,02 ^b ±4,26	85,70
	+ 4 horas	48,99 ^a ±9,97	5,51 ^b ±4,72	88,51
	+ 24 horas	34,91 ^a ±4,75	1,59 ^b ±3,44	95,45
+28	+ 2 horas	48,36 ^a ±20,68	4,10 ^b ±12,93	85,53
	+ 4 horas	44,33 ^a ±28,57	6,47 ^b ±6,83	85,39
	+ 24 horas	42,61 ^a ±16,59	0,78 ^b ±2,74	98,17

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, p -value>0,05 (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, p -value < 0,05 (há diferença estatística)

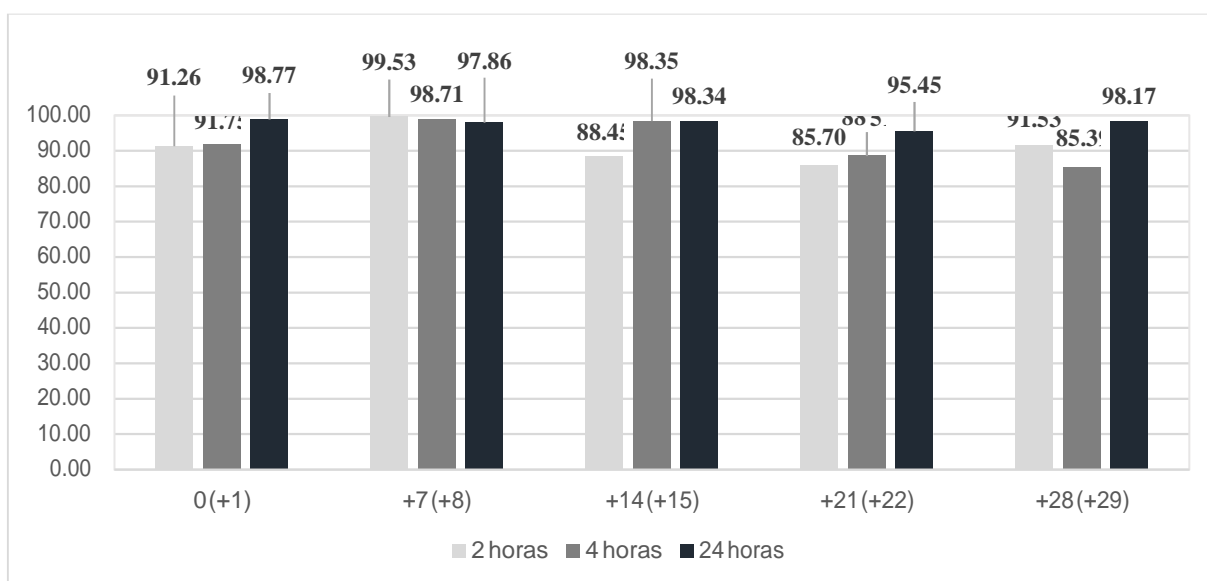


Figura 6. Eficácia geométrica para a pulga (*Ctenocephalides felis felis*) associação de fipronil piriproxifen na formulação “spray” nas avaliações de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

Tendo em vista que um bom produto aduicida deve apresentar eficácia superior a 90%, conforme descrito por Marchiondo et al. (2013). É possível notar, com base na tabela acima, que a associação testada apresentou excelente eficácia para eliminação das pulgas adultas nos cães. Durante 7 dias após o tratamento, o produto foi capaz de eliminar as pulgas adultas em um período de duas horas. Até 14 dias foi capaz de eliminar as pulgas adultas em um período de 24 horas. A partir deste dia, a eliminação foi eficaz no período de 24 horas durante 28 dias.

Os resultados obtidos foi semelhante aos descritos por outros autores onde a ação “speed of kill” para *C. felis felis* para o fipronil administrado pela via tópica (“spot on”) foi determinada para um tempo de 6 a 12 horas após o tratamento (BAGGOTT et al., 2011; HORAK; FOURIE; STANNECK, 2012; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

De acordo com Patterson, (2015) um bom produto para o controle de pulgas e carrapatos é aquele que consegue eliminar os parasitos dos animais de forma rápida, evitando a exposição por tempo prolongado, prevenindo assim, a transmissão de agentes patogênicos e exposição aos antígenos salivares deste artrópodes e prevenindo o desenvolvimento de quadros alérgicos como a DAPE.

Apesar da associação do fipronil e piriproxifen não ter apresentado uma boa ação “speed of kill” para *R. sanguineus* foi possível observar que o mesmo não aconteceu para *C. felis felis*. Este fato pode ser explicado pela maior suscetibilidade e fragilidade dessa pulga ao fipronil, fazendo com que, neste caso, a morte deste parasito acontecesse de forma mais rápida.

A associação de fipronil com piriproxifen não apresentou boa eficácia “speed of kill” para o carrapato *R. sanguineus*. No entanto, apresentou excelente eficácia para o rápido controle da pulga *C. felis felis*.

CAPÍTULO III

**EFICÁCIA DA FORMULAÇÃO “SPRAY” CONTENDO FIPRONIL ASSOCIADO
AO PIRIPROXIFEN EMPREGADO EM CÃES NA INTERRUPTÃO DO
DESENVOLVIMENTO DE OVO A ADULTO (AÇÃO IGR) DE *Ctenocephalides felis*
*felis***

RESUMO

Pulgas são insetos ectoparasitos de maior ocorrência em todo mundo, no Brasil existe o predomínio da subespécie *C. felis felis*. São responsáveis por causar prurido e desconforto aos animais e, em casos graves, podem provocar anemia. Alguns animais desenvolvem o quadro de hipersensibilidade do tipo I à antígenos presentes na saliva deste parasito cursando com o quadro de dermatite alérgica a presença de pulga. Também são responsáveis pela transmissão de agentes patogênicos. O controle ideal de pulgas deve se levar em consideração a eliminação das formas adultas presentes no animal, assim como as formas imaturas que estão presentes no ambiente. A associação de produtos que possuam ação adulticida com reguladores de crescimento de artrópodes potencializa o controle da infestação por *C. felis felis*. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da associação do fipronil-piriproxifen na formulação “spray” na interrupção do desenvolvimento de ovo à adulto de *C. felis felis*. Para o estudo foram utilizados 12 cães da raça beagle, oito machos e quatro fêmeas, com idade entre três a cinco anos e foram divididos em dois grupos experimentais. Os animais do grupo tratado receberam pela via tópica (“spray”), o produto que continha fipronil-piriproxifen. A dose utilizada foi de 7,5 mg de fipronil e 4,44 de piriproxifen/kg, equivalente a 4 jatos/kg de peso corpóreo. Os animais do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento. As infestações pós-tratamento, com 200 exemplares de *C. felis felis*, ocorreram nos dias -7, -2 e semanalmente por 98 dias. As avaliações para o cálculo de eficácia pulcida e coleta dos ovos dos canis foram realizados nos dias + 2, +10 e a cada sete dias durante 101 dias. Os ovos recuperados foram incubados em duas repetições contendo 20 ovos, quando possível, por um período de 30 dias. Após esse período, foi realizada a contagem do número de pulgas adultas emergidas em cada repetição para determinar o percentual de emergência de adultos. Os resultados da eficácia adulticida foram: 100%; 100%; 100%; 99,74%; 98,26%; 98,97%; 91,12%; 59,39%; 54,15%; 1,94%; 19,02%, 59,24%; 45,78%; 3,36% e zero para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. A eficácia sobre a produção de ovos foi: 100%; 100%; 100; 100; 100; 100; 100; 97,76%; 0,19%; 85,45%; 42,17%, 48,66%; 60,89%; zero e 67,93% para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. E os resultados de eficácia sobre a emergência de pulgas adultas foi: 97,52%; 88,96%; 93,51%; 27,82%, 3,49%; 10,60%; 4,10% e 25,49% +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. A associação testada foi eficaz no controle de adultos de *C. felis felis* por até 45 dias, reduziu a produção de ovos por 52 dias e a emergência de adultos por 66 dias. A associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spray” apresentou excelente eficácia na redução da produção de ovos e na emergência de adultos de *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

Palavras-chaves: controle; pulgas; reguladores de crescimento de insetos

ABSTRACT

Fleas are ectoparasite insects of greater occurrence worldwide, in Brazil there is a predominance of the subspecies *C. felis felis*. They are responsible for causing itching and discomfort to the animals and, in severe cases, can cause anemia. Some animals develop the type I hypersensitivity to the antigens present in the saliva of this parasite with the presence of allergic dermatitis in the presence of fleas. They are also responsible for the transmission of pathogens. The ideal control of fleas should take into account the elimination of the adult forms present in the animal, as well as the immature forms that are present in the environment. The association of products that have adulticidal action with arthropod growth regulators enhances the control of *C. felis felis* infestation. The aim of this study was to evaluate the efficacy of the combination of fipronil-pyriproxyfen in the spray formulation on the interruption of egg development in the adult *C. felis felis*. Twelve beagle dogs, eight males and four females, aged between three and five years, were divided into two experimental groups. The animals in the treated group received the product containing fipronil-pyriproxyfen by the topical route (spray). The dose used was 7.5 mg fipronil and 4,44 pyriproxyfen / kg, equivalent to 4 jets / kg body weight. The animals in the control group did not receive any type of treatment. Post-treatment infestations with 200 specimens of *C. felis felis* occurred on days -7, -2 and weekly for 98 days. The evaluations for the calculation of polycidal efficacy and collection of kennel eggs were performed on days +2, +10 and every seven days for 101 days. The recovered eggs were incubated in two replicates containing 20 eggs, where possible, for a period of 30 days. After this period, the number of emerged adult fleas was counted in each repetition to determine the adult emergency percentage. The results of adulticidal efficacy were: 100%; 100%; 100%; 99.74%; 98.26%; 98.97%; 91.12%; 59.39%; 54.15%; 1.94%; 19.02%, 59.24%; 45.78%; 3.36% and zero for days +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 and +101 respectively. Efficacy on egg production was: 100%; 100%; 100; 100; 100; 100; 100; 97.76%; 0.19%; 85.45%; 42.17%, 48.66%; 60.89%; zero and 67.93% for the days +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94. and +101 respectively. And the efficacy results on the emergence of adult fleas was: 97.52%; 88.96%; 93.51%; 27.82%, 3.49%; 10.60%; 4.10% and 25.49% +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 and +101 respectively. The association tested was effective in controlling adults of *C. felis felis* for up to 45 days, reduced egg production by 52 days and emergence of adults for 66 days. The association of fipronil and pyriproxyfen in the spray formulation showed excellent efficacy in reducing egg production and the emergence of *C. felis felis* adults in artificially infested dogs.

Keywords: control; fleas; insect growth regulators

1 INTRODUÇÃO

As pulgas do gênero *Ctenocephalides* são insetos de maior ocorrência parasitando cães e gatos em todo o mundo. Dentre as subespécies existentes, *C. felis felis* é a que apresenta maior importância no Brasil. São responsáveis por causar prurido intenso e desconforto aos animais. E em altas infestações, devido ao seu hábito hematófago, são capazes de provocar anemia (ALCAÍNO; GORMAN; ALCAÍNO, 2002; BERMÚDEZ, et al., 2011; GRACIA et al., 2008; RUST, 2017; RUST; DRYDEN, 1997).

Alguns animais apresentam uma maior suscetibilidade a estes parasitos e podem desenvolver quadros conhecidos como dermatite alérgica a presença de pulgas. O quadro consiste em uma reação alérgica, altamente pruriginosa, podendo evoluir para alopecia e predispor a infecções secundárias da pele, ocasionadas por bactérias ou fungos (PATERSON, 2015; VASCONCELOS et al., 2017).

Além disso, pulgas são responsáveis pela transmissão de agentes patogênicos para cães como: *Mycoplasma ssp.*, *Bartonella henselae*, *Rickettsia felis* e *Leishmania chagasi* (BROWN; MACALUSO, 2016; DHANALAKSHMI et al., 2017; GEHRKE et al., 2009; HORNOK, et al., 2010; SOFER et al., 2015). Também são hospedeiros intermediários dos helmintos *Acanthocheilonema reconditum* e *Dipylidium caninum* (IRWIN; JEFFERIES, 2004; NELSON, 1962; PUGH, 1997).

No que diz respeito ao controle de pulgas em cães, é importante lembrar que apenas 5% dos exemplares encontram-se na forma adulta e sobre o animal. Os 95% restantes correspondem aos ínstares não parasitários que se desenvolvem no ambiente. Portanto, para um controle eficaz, deve-se eliminar tanto os indivíduos adultos quanto as formas evolutivas no ambiente. Nestes casos, a associação com ectoparasiticidas com pontencial adulticida à reguladores de crescimento de artrópodes atuam de forma sinérgica para potencializar a eliminação da infestação no cão e do ambiente (DRYDEN, 2014; HALOS et al., 2014; WRIGHT, 2016).

O fipronil é um ectoparasiticida da classe dos fenilpirazoles que possui excelente eficácia adulticida, eliminando pulgas adultas em poucas horas após o tratamento (BONNEAU et al., 2010; CRUTHERS. et al., 2001; KUŽNER, et al., 2013; POSTAL; JEANNIN; CONSALVI, 1995). No entanto, esse ativo apresenta pouca ação nas formas evolutivas que estão presentes no ambiente. Por este motivo, o fipronil nos últimos anos vêm sendo associado á IGR, sendo o maior exemplo é o S-metoprene (BAKER et al., 2014; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

O piriproxifen é um análogo do hormônio juvenil de insetos, possui pouca ação sobre pulgas adultas, contudo, possui excelente eficácia para inibir a eclosão e a emergência de adultos em *C. felis felis* possuindo ação ovicida e larvicida (BHASKARAN, 2001; MAYNARD; HOUFFSCHMIT; LEBREUX. 2001; MEOLA, 2000).

A eficácia deste IGR, já foi demonstrada em associação com os piretroides d-fenotrina e ciflutrina e já estão disponíveis nas formulações aerossol e “spray”, respectivamente, para serem aplicadas em ambientes como forma auxiliar no controle de *C. felis felis* (CORREIA et al., 2005; CORREIA et al., 2010).

O piriproxifen possui duas associações comerciais disponíveis para o tratamento de pulgas em cães na formulação “spot on” (fipronil-piriproxifen e dinotenfuran-permetrina-piriproxifen), mostrando sua eficácia na redução de pulgas adultas nos animais tratados (BOUHSIRA et al., 2012; NAVARRO et al., 2016). No entanto, não existem trabalhos publicados com a associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spray” para o tratamento de cães.

Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar a ação da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray” na emergência de adultos de *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais

O estudo teve aprovação pelo CEUA-IV-UFRRJ com número de protocolo nº 4466191016. O mesmo encontra-se em anexo (Anexo H)

2.2 Seleção e Manejo dos Cães

Os cães utilizados neste estudo eram do plantel do canil do LQEPV, pertencente ao anexo I do IV da UFRRJ. Foram selecionados 12 cães da raça Beagle, oito machos e quatro fêmeas, com idade entre três e cinco anos e peso corporal entre 9,950 – 15,950 kg. Todos os animais eram identificados com *transponder* implantados no tecido subcutâneo.

Os animais apresentaram bom estado sanitário e nutricional e estavam devidamente vermifugados e vacinados. Nenhum dos cães tinham sido tratados com nenhum medicamento ectoparasiticida, por pelo menos, dois meses antes do início do estudo.

Durante o período experimental os cães foram mantidos individualmente em baias totalmente cobertas com parte delas tem telhas transparentes de forma a permitir a entrada de raios solares. As baias apresentam as seguintes dimensões: altura 2,00 m; largura 1,50 m; comprimento 1,50 m. O canil foi limpo todos os dias efetuando-se a retirada das fezes, e limpeza com jato de água da superfície do chão. A alimentação durante este período foi realizada através de comedouros, fornecida duas vezes ao dia. Durante o período experimental os animais foram alimentados diariamente com 300g de ração comercial para cães adultos. A água foi fornecida em bebedouros apropriados à vontade.

2.3 Infestações

Em cada processo de infestação foram utilizadas 200 pulgas, sendo 75% de fêmeas e 25% de machos, adultas e não alimentadas, com idade em torno de 14 dias, da espécie *C. felis felis*. Os animais foram infestados nos tempos -7, -2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91 e +98. Cada animal foi minuciosamente inspecionado, e também foi feita a retirada mecânica das pulgas de infestações ambientais antes de cada infestação. O procedimento da infestação foi realizado por meio da colocação dos parasitos em diferentes regiões do corpo do animal. Para este procedimento os animais foram contidos mecanicamente por cinco minutos.

2.4 Contagem de Pulgas

Os animais foram avaliados para a presença de pulgas adultas, tendo sido realizada a retirada dos parasitos nos tempos -5 e +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101. Cada animal foi inspecionado individualmente. Para cada dia de avaliação o procedimento empregado foi o de avaliar os animais para a presença de pulgas vivas, com o auxílio de um pente fino próprio para retirada destes insetos, com aproximadamente 13 dentes por centímetro linear (“comb test”). Os animais foram penteados até que não fosse recuperada mais nenhuma pulga.

2.5 Ranqueamento

O ranqueamento dos animais foi realizado com base nos resultados das contagem de pulgas vivas realizadas na avaliação do dia -5. Foi elaborada uma lista decrescente com as contagens destes parasitos. E por meio de sorteio foi distribuindo um animal em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completassem as seis repetições distribuídas em dois grupos experimentais: grupo controle e grupo tratado.

2.6 Tratamento

No dia 0, todos os animais do grupo tratado foram submetidos à administração única na dose de 7,5 mg de fipronil e 4,44 de piriproxifen/kg, equivalente a 4 jatos/kg de peso corpóreo.

A aplicação do produto foi feita por via tópica, de forma a cobrir todo o pelo dos animais, sendo que a pulverização foi realizada no sentido contrário do crescimento dos pelos e durante a aplicação, os pelos foram massageados com o auxílio de uma luva para que o produto atingisse a pele. Para administração na região da cabeça, o produto foi administrado na luva do aplicador e posteriormente esfregado na região da face de forma a evitar os olhos. O grupo controle não recebeu qualquer tipo de tratamento.

2.7 Avaliação da Eficácia Pulcida

O cálculo de eficácia pulcida foi realizado a partir do número médio de pulgas vivas encontrados no GC e GT de acordo com as fórmulas abaixo:

Eficácia Pulcida (%) = $100 \times (\text{N}^\circ \text{ de Pulgas Vivas no GC} - \text{N}^\circ \text{ de Pulgas Vivas no GT}) / (\text{N}^\circ \text{ de Pulgas Recuperadas no GC})$

2.8 Avaliação da Inibição do Desenvolvimento

A coleta dos ovos dos canis foi realizada de forma mecânica, após 72 horas de cada infestação, seguida da contagem do total de ovos recuperados por canil. Para a avaliação do percentual de emergência de pulgas adultas foram incubados 40 ovos, em duas repetições (contendo 20 ovos cada) em tubos de ensaio com o auxílio de pincel e de um microscópio estereoscópico. Juntamente aos ovos foi adicionado meio grama de uma dieta artificial para larvas composta de sangue bovino desidratado, farelo de trigo e areia na proporção de 1:1:5 respectivamente.

Os tubos foram vedados na boca com tecido tipo TNT (tecido não tecido) e elástico e posteriormente, os tubos contendo os ovos e a dieta, foram incubados em uma câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio, mantida na temperatura de 28°C e umidade relativa de $75 \pm 10\%$.

Após um período de incubação de 30 dias, o material foi fixado em álcool 70% a fim de possibilitar a morte das formas evolutivas presentes, e foi avaliado para eclosão de adultos, com auxílio de um microscópio estereoscópico.

A percentagem de inibição da emergência foi calculada pela seguinte fórmula:

E (%) = $100 \times (a-b)/a$, no qual:

a: percentual médio de pulgas adultas emergidas dos ovos incubados oriundos dos animais do grupo controle (número médio de pulgas adultas emergidas / número médio de ovos coletados do grupo controle)

b: percentual médio de pulgas adultas emergidas dos ovos incubados oriundos dos animais do grupo medicado (número médio de pulgas adultas emergidas/número médio de ovos coletados do grupo medicado).

2.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico computacional BioStat 5.0. O teste empregado foi o de Mann-Whitney para duas amostras independentes e dados não paramétricos, tendo em vista a distribuição não paramétrica dos dados, e o nível de significância considerado foi de $p \leq 0,05$ (95%) (AYRES et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de sexo, idade e peso e quantidade do produto administrado nos animais está ilustrado na Tabela 7.

Tabela 7. Identificação dos animais, sexo, idade, peso corporal, grupo e volume empregado da formulação “spray” da associação de fipronil e piriproxifen.

Grupo	Número de Animais	Sexo	Idade (meses)	Peso* (Kg)	Volume Empregado (Jatos)
Controle	6	4 M, 2 F	36 a 60	11,78*±0,84	- - -
Tratado	6	4 M, 2 F	48 a 60	12,21*±1,59	49,8*±8,3

*Média Aritimética; M = macho; F = fêmea; Kg = quilos

Todos os cães apresentaram contagem média de pulgas acima a 25% na avaliação realizada pré-tratamento. A média geométrica no grupo controle foi de 68,09 e no grupo tratado foi de 72,46 e não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$).

Os resultados das médias geométricas de contagens de pulgas foram os seguintes para o grupo controle: 44,42; 89,09; 85,50; 98,62; 110,73; 81,90; 88,32; 68,76; 54,48; 60,52; 75,02; 106,09; 121,10; 102,30; 92,52 e para o grupo tratado: zero; zero; zero; 0,26; 1,93; 0,84; 7,84; 27,92; 24,98; 59,35; 60,75; 43,24; 65,66; 98,87; 106,28 para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. A comparação estatística entre as médias dos grupos controle e tratado pós tratamento apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos dias +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +80 e +87.

Já os resultados das eficácias geométricas obtidas foram: 100%; 100%; 100%; 99,74%; 98,26%; 98,97%; 91,12%; 59,39%; 54,15%; 1,94%; 19,02%, 59,24%; 45,78%; 3,36% e 0% para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente.

As médias das contagens de pulgas vivas encontrada nos cães do grupo controle e tratado após o tratamento e eficácia estão demonstradas na Tabela 8 e Figura 7 as contagens detalhadas estão em anexo (Anexo I).

Tabela 8. Média geométrica da contagem de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas nos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil- piriproxifen.

Dia Experimental	Grupo Controle Média*	Grupo Tratado Média*	Eficácia (%)
+2	44,42 ^a ±6,82	0 ^b ±0	100
+10	89,09 ^a ±12,56	0 ^b ±0	100
+17	85,50 ^a ±11,74	0 ^b ±0	100
+24	98,62 ^a ±15,72	0,26 ^b ±0,52	99,74
+31	110,73 ^a ±27,46	1,93 ^b ±2,56	98,26
+38	81,90 ^a ±15,62	0,84 ^b ±4,80	98,97
+45	88,32 ^a ±14,76	7,84 ^b ±14,80	91,12
+52	68,76 ^a ±20,09	27,92 ^a ±30,10	59,39
+59	54,48 ^a ±27,68	24,98 ^a ±37,86	54,15
+66	60,52 ^a ±11,94	59,35 ^a ±36,53	1,94
+73	75,02 ^a ±26,28	60,75 ^a ±63,37	19,02
+80	106,09 ^a ±22,38	43,24 ^b ±35,91	59,24
+87	121,10 ^a ±53,23	65,66 ^b ±27,18	45,78
+94	102,30 ^a ±21,81	98,87 ^a ±54,79	3,36
+101	92,52 ^a ±23,47	106,28 ^a ±39,79	0

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, p -value $> 0,05$ (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, p -value $< 0,05$ (há diferença estatística)

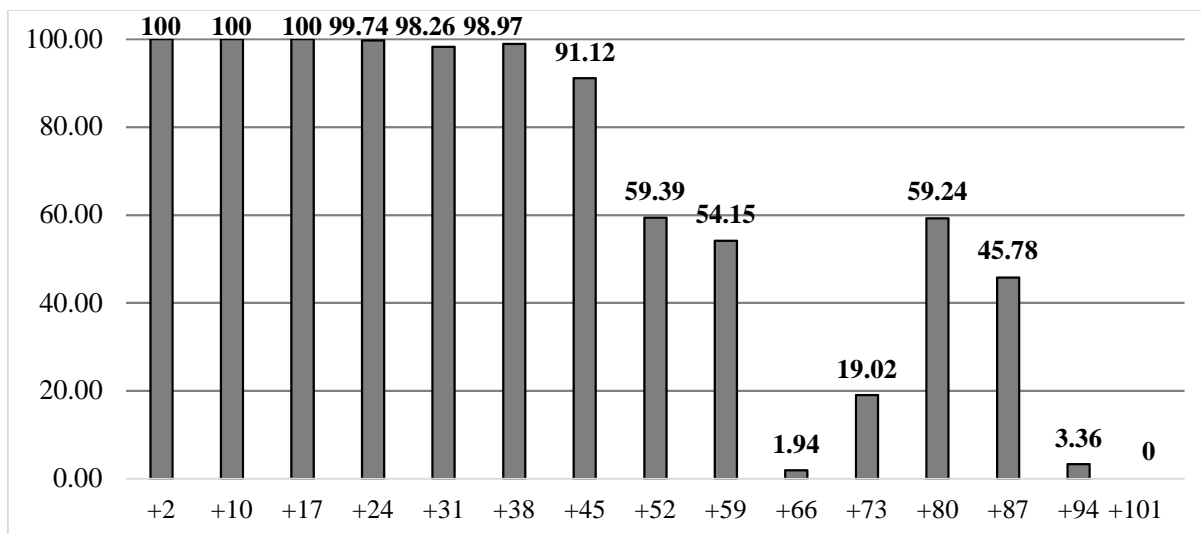


Figura 7. Eficácia geométrica para a pulga (*Ctenocephalides felis felis*) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”.

De acordo com Marchiondo et. al. (2013), os níveis de eficácia para pulgas devem ser iguais ou superiores a 90%. Com base neste parâmetro a associação testada foi eficaz no controle de *C. felis felis* por até 45 dias após o tratamento, considerando como base dos cálculos as médias geométricas.

Os resultados obtidos foram inferiores a de outros estudos que utilizaram fipronil isolado ou associado ao (S)-metoprene, no qual a eficácia adulticida foi observada por 60 dias (BAKER et al., 2014; BONNEAU et al., 2010; CRUTHERS. et al., 2001; KUŽNER, et al., 2013 POSTAL; JEANNIN; CONSALVI, 1995; YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004). Por outro lado, em estudos preliminares

Navarro et al. (2016), mostram que associação do fipronil-piriproxifen na formulação “spot on” frente a pulgas adultas apresentou eficácia superior a 90% durante 86 dias após ao tratamento contra *C. felis felis*. No entanto, o estudo foi realizado em gatos.

A menor eficácia pulcida observada neste estudo, quando comparado ao ensaio do capítulo I e aos demais trabalhos supracitados pode estar associada ao número de pulgas utilizadas na infestação dos animais.

Os resultados das médias geométricas dos ovos recuperados foram os seguintes para o grupo controle: 45,91; 48,83; 51,83; 49,91; 49,96; 58,55; 85,11; 70,25; 60,73; 98,92; 139,13; 83,24; 160,66; 91,73; 141,45. Para o grupo tratado as médias foram: zero; zero; zero; zero; zero; zero; zero; 1,58; 18,11; 14,39; 80,46; 42,74; 62,83; 92,51; 45,36 para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. A comparação estatística entre as médias dos ovos recuperados dos grupos controle e tratado pós tratamento apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos dias +2, +10, +17, +24, +31, +38, +45, +52 e +101.

A associação de fipronil ao piriproxifen apresentou eficácias de: 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 97,76%. 70,19%; 85,45%; 42,17%, 48,66%; 60,89%; 0% 67,93% para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente.

A média da recuperação de ovos nos canis dos cães do grupo controle e tratado estão ilustrados na Tabela 9 e Figura 8 e os resultados detalhados das contagens individuais estão no Anexo J.

Tabela 9. Média geométrica da contagem de ovos de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) nos canis dos cães do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “Spray” contendo fipronil associado ao piriproxifen sobre a produção de ovos.

Dia Experimental	Grupo Controle Média*	Grupo Tratado Média*	Eficácia (%)
+2	45,91 ^a ±3,22	0 ^b ±0	100
+10	48,83 ^a ±7,84	0 ^b ±0	100
+17	51,83 ^a ±4,77	0 ^b ±0	100
+24	49,91 ^a ±7,20	0 ^b ±0	100
+31	49,96 ^a ±5,12	0 ^b ±0	100
+38	58,55 ^a ±8,00	0 ^b ±0	100
+45	85,11 ^a ±75,57	0 ^b ±0	100
+52	70,25 ^a ±56,74	1,58 ^b ±29,17	97,76
+59	60,73 ^a ±73,58	18,11 ^a ±73,73	70,19
+66	98,92 ^a ±39,90	14,39 ^a ±70,92	84,45
+73	131,13 ^a ±65,62	80,46 ^a ±145,84	42,17
+80	83,24 ^a ±58,00	42,74 ^a ±36,09	48,66
+87	160,66 ^a ±59,10	62,83 ^a ±100,80	60,89
+94	91,73 ^a ±76,41	92,51 ^a ±143,53	0
+101	141,45 ^a ±71,32	45,36 ^b ±18,98	67,93

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, *p-value* >0,05 (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, *p-value* < 0,05 (há diferença estatística)

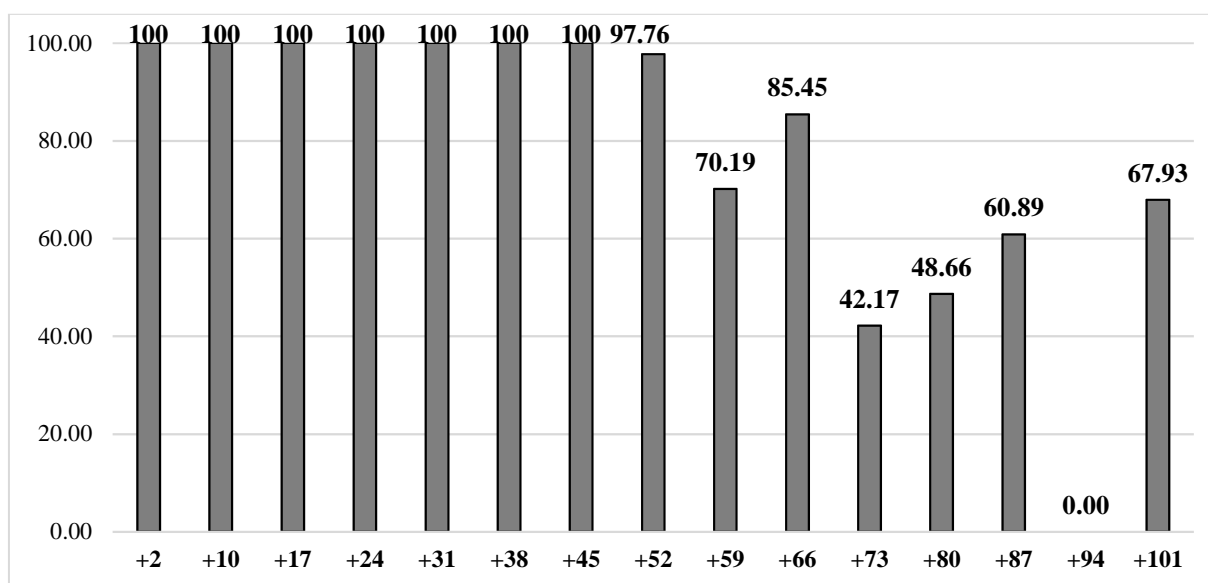


Figura 8. Eficácia geométrica para recuperação de ovos da pulga (*Ctenocephalides felis felis*) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”.

Com base nos resultados demonstrados na tabela acima, é possível perceber que não foram encontrados ovos nos canis do grupo tratado até o dia +45. Este fato deve-se principalmente a ação fipronil, onde é possível observar que a eficácia adulticida era superior a 90%. As pulgas adultas iniciam a ovoposição após oito a 24 horas do primeiro repasto sanguíneo para maturação do sistema reprodutivo (CADIERGUES et al., 2001; DRYDEN, 1989).

Boushira e colaboradores (2012), demonstraram em seu trabalho que só foi possível a recuperação de ovos de *C. felis felis* em cães tratados com uma formulação “spot on” contendo dinotefuran-permetrina-piriproxifen a partir de 63 dias após o tratamento. Resultados que foram próximos aos encontrados neste estudo que só foi possível recuperar ovos nos canis dos animais do grupo tratado 52 dias após o tratamento.

Os resultados das médias geométricas da contagem de adultos emergidos foram os seguintes para o grupo controle: 34,63; 34,40; 33,66; 34,60 33,67; 29,96; 23,22; 24,82; 26,78; 34,06; 31,26; 29,53; 31,28; 32,29; 29,96 para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. Para o grupo tratado: 0,59; 3,79; 4,55; 18,34; 20,59; 22,53; 30,29; 20,63 para os dias +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente.

As médias geométricas do percentual de emergência de adultos para o grupo controle foi: 86,57%; 85,99%; 84,15%; 86,49%; 84,18%; 74,88%; 71,65%; 84,15%; 76,95%; 85,16%; 78,14%; 79,33%; 78,20%; 82,79%; 78,14% para os dias +2, +10, +17, +24, +31, +38,+45, +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. Para o grupo tratado: 2,08%; 8,49%; 5,53%; 56,40%; 68,63%; 69,92%; 79,40%; 58,23% 63 para os dias +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente. A comparação estatística entre as médias do percentual de emergência de adultos dos grupos controle e tratado pós tratamento apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos dias +52, +59, +66 e +101.

As eficácias da associação de fipronil ao piriproxifen sobre a emergência de pulgas adultas foram: 97,52%; 88,96%; 93,51%; 27,82%, 13,49%; 10,60%; 4,10% e 25,49% para os dias +52, +59, +66, +73, +80, +87, +94 e +101 respectivamente.

A média do percentual de emergência de adultos nos ovos incubados estão ilustrados na Tabela 10 e Figura 9 os resultados detalhados das contagens individuais estão no Anexo K e Anexo L.

Tabela 10. Média geométrica do número de pulgas adultas (*Ctenocephalides felis felis*) emergidas, percentual da emergência do grupo controle e tratados e eficácia da formulação “spray” contendo fipronil-piriproxifen sobre a emergência de pulgas adultas.

Dia Experimental	Grupo Controle		Grupo Tratado		Eficácia (%)
	Média*	Percentual de Emergência	Média*	Percentual de Emergência	
+2	34,63 ^{a±}	86,57%	0 ^b	0	---
+10	34,40 ^a	85,99%	0 ^b	0	---
+17	33,66 ^a	84,15%	0 ^b	0	---
+24	34,60 ^a	86,49%	0 ^b	0	---
+31	33,67 ^a	84,18%	0 ^b	0	---
+38	29,96 ^a	74,88%	0 ^b	0	---
+45	23,22 ^a	71,65%	0 ^b	0	---
+52	24,82 ^a	84,15%	0,59 ^b	2,08%	97,52%
+59	26,78 ^a	76,95%	3,79 ^b	8,49%	88,96%
+66	34,06 ^a	85,16%	4,55 ^b	5,53%	93,51%
+73	31,26 ^a	78,14%	18,34 ^a	56,40%	27,82%
+80	29,53 ^a	79,33%	20,59 ^a	68,63%	13,49%
+87	31,28 ^a	78,20%	22,53 ^a	69,92%	10,60%
+94	32,29 ^a	82,79%	30,29 ^a	74,90%	4,10%
+101	29,96 ^a	78,14%	20,63 ^a	58,23%	25,49%

*Média Geométrica; Letras iguais dentro da mesma coluna, $p\text{-value} > 0,05$ (não há diferença estatística); Letras diferentes entre as colunas, $p\text{-value} < 0,05$ (há diferença estatística)

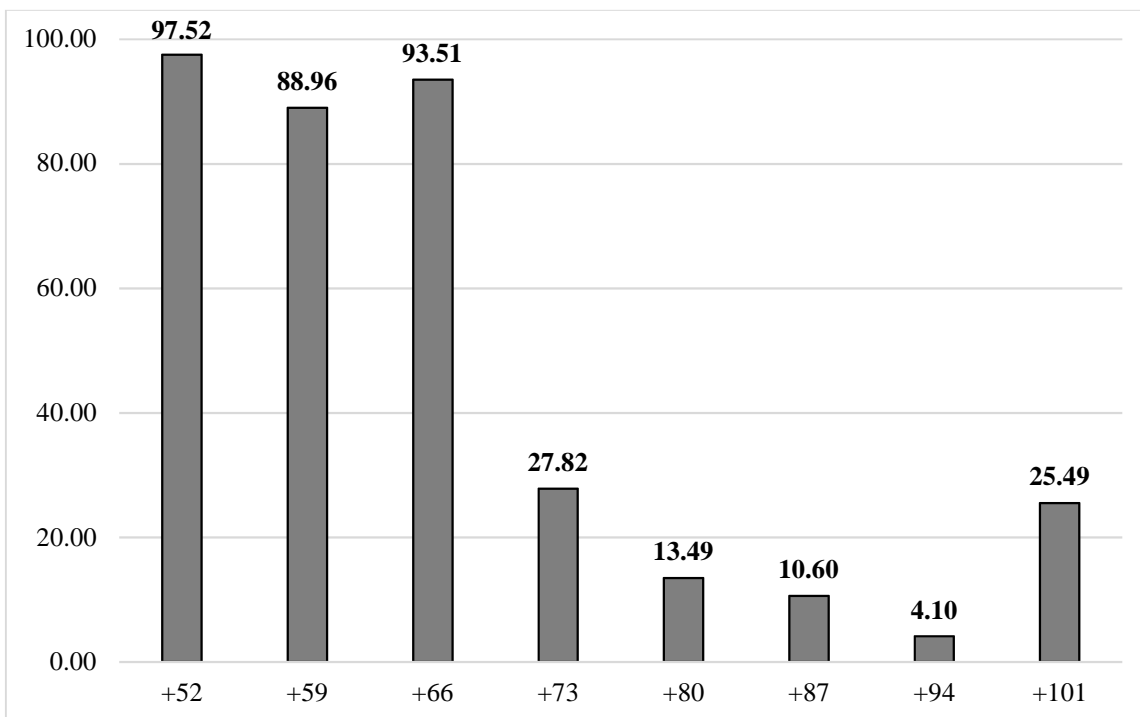


Figura 9. Eficácia geométrica para emergência de pulgas adultas (*Ctenocephalides felis felis*) da associação de fipronil-piriproxifen na formulação “spray”.

O piriproxifen é um análogo do hormônio juvenil de insetos, possui pouca toxicidade para pulgas adultas, no entanto, possui excelente ação sobre as formas imaturas. Possui ação de impedir a embriogênese do ovo e de impedir a metamorfose da larva até adulto (MEOLA et al., 2000; MEOLA; PULLEN; MEOLA, 1996; PALMA; MEOLA; MEOLA, 1993).

A associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spot on” mostrou ter eficácia superior a 90% na redução da emergência de adultos por um período de três meses após o tratamento em cães e gatos, respectivamente (DE MARI et al., 2016a; NAVARRO et al., 2016). Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo multicêntrico realizado por Baker et al. (2014) utilizando uma associação “spot on” de fipronil-(S) metroprene-eprinomectina-praziquantel, no qual a eficácia na prevenção da emergência de adulto foi superior a 90% por 49 dias após o tratamento em gatos.

Boushira et al. (2012), mostraram que a formulação “spot on” contendo a associação de dinotefuran-permetrina-piriproxifen possui 100% de eficácia na redução da emergência de adultos em cães.

A associação de fipronil e piriproxifen na formulação “spray” apresentou excelente eficácia na redução da produção de ovos e na emergência de adultos de *C. felis felis* em cães artificialmente infestados.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que a formulação “spray” contendo a associação de fipronil-piriproxifen apresentou excelente eficácia adulticida para o controle de *R. sanguineus* e *C. felis felis*. Foi capaz de eliminar rapidamente pulgas com tempo inferior a 24 horas. No entanto, não foi capaz de eliminar carrapatos com tempo inferior a 24 horas. Também demonstrou ser capaz de inibir o desenvolvimento de ovo a adulto de *C. felis felis*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste estudo foi possível observar que a associação do fipronil-piriproxifen na formulação “spray” apresentou excelente eficácia adulticida para o controle de *C. felis felis* e *R. sanguineus*. A eficácia carrapaticida possui duração de 28 dias após o tratamento mostrando que esta associação pode ser empregada para o controle deste carrapato uma vez ao mês.

No que diz respeito a eficácia pulicida foi observado uma eficácia persistente por 63 dias após o tratamento. Este fato pode ser explicado pelo fato que insetos são mais sensíveis a ação do fipronil quando comparados a ácaros.

Um produto na formulação “spray” possui o custo para a sua produção que é mais barato quando comparado ao desenvolvimento de produtos aplicados por pipetas pela formulação “spot on”. Também permite que a dose seja ajustada para animais muito pequenos e neonatos. Em contra partida, por ter baixíssima absorção sistêmica, sua ação é dada pelo contato do parasito com o produto presente na pele e/ou pelo do animal, estando, portanto a duração da sua eficácia diretamente relacionanda com o efeito residual do produto no pelo do animal. Apesar das desvantagens descritas acima, a formulação testada neste estudo apresentou níveis e tempo de eficácia semelhantes a de muitos estudos realizados em diversos países.

A ação imediata (“speed of kill”) da associação fipronil-piriproxifen demonstrou não ser eficaz nos tempos de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações para eliminação das formas adultas de *R. sanguineus*. Contudo, seus níveis de eficácia foram aumentando a ao longo dos momentos experimentais possuindo excelente eficácia com o tempode 48 horas após exposição do carrapato ao produto.

Para a pulga *C. felis felis* a associação foi eficaz no controle a partir de duas horas após tratamento/infestações durante sete dias, por quatro horas por 14 dias e por 24 horas durante 28 dias. Conforme dito anteriormente, insetos são mais sensíveis à ação do fipronil

Pensando pelo principio, a eficácia “speed of kill” está diretamente ligada na prevenção da transmissão de agentes patogênicos e na sensibilização de animais alérgicos a saliva de ectoparasitos. A associação só apresentou este efeito preventivo para *C. felis felis*, já que foi possível eliminar rapidamente esses insetos adultos dos cães.

Apesar de já ter sido descrita a ação do piriproxifen sobre pulgas adultas quando estas são expostas continuamente à este ectoparasiticida por um período de 10 dias consecutivos, é pouco provável que tenha sido observada qualquer efeito do piriproxifen sobre a eficácia adulticida sobre *C. felis felis* neste estudo. O mais provável é que toda a eficácia adulticida tenha sido atribuída ao rápido efeito do fipronil sobre estes ectoparasitos.

A respeito do controle de pulgas e carrapatos é importante lembrar que a maior parte destes ectoparasitos, cerca de 95%, estão presentes no ambiente sobre os instares imaturos ou realizando muda.

A associação do fipronil-piriproxifen da formulação testada é devido ao fato de que o fipronil isoladamente não teria ação sobre estas formas presentes no ambiente. Assim, o piriproxifen, por ser um análogo do hormônio julvenil de insetos, poderia atuar nas formas imaturas no ambiente impedindo que estas tornem-se adultas e voltem a reinfestar os animais.

Contudo, em muitos momentos experimentais não foi possível observar 100% de eficácia para pulgas e carrapatos. Para os parasitos sobreviventes, o piriproxifen provavelmente atuaria de forma complementar evitando que estes completassem seu ciclo e reinfestasse os animais.

O piriproxifen apresenta excelente eficácia na inibição da embriogênese do ovo, no desenvolvimento da larva e na emergência de pulgas adultas. Este fato foi observado neste estudo em que foi observada uma inibição sobre a produção de ovos e emergência de adultos.

Tendo em vista os resultados neste trabalho, a formulação “spray” de fipronil-piriproxifen pode ser administrada para o controle de *C. felis felis* e *R. sanguineus* em cães.

REFERÊNCIAS

- ALCAÍNO, H. A.; GORMAN, T. R.; ALCAÍNO, R. Flea species from dogs in three cities of Chile. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 3, p. 261-265, 2002.
- ANDREOTTI, R. et al. Diflubenzuron Effectiveness in Cattle Tick (*Rhipicephalus Boophilus microplus*) Control in Field Conditions. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 6, n. 373, p. 2, 2015.
- ARMSTRONG, R. D. et al. Flea (*Ctenocephalides felis*) control efficacy of topical indoxacarb on dogs subsequently bathed with a chlorhexidine–ketoconazole shampoo. **Australian Veterinary Journal**, v. 93, n. 8, p. 293-294, 2015.
- AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY - APVMA. **Safety of Fipronil in dogs and cats. A review of literature**. 21p., 2005. < Disponível em: http://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/15191-fipronil-prf-vol2-animal-safety-literature_0.pdf>. Acesso em: 12 de Jan 2018.
- AYRES, M.; AYRES JR, M; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioEstat 4.0 – **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá/Imprensa Oficial do Estado do Pará, Belém, 4ª Edição, 324 p., 2005.
- BAGGOTT, D. et al. Efficacy of a novel combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene for treatment and control of tick species infesting dogs in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 4, p. 330-334, 2011.
- BAKER, C. et al. Efficacy of a novel topical combination of fipronil,(S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel against adult and immature stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis*) on cats. **Veterinary Parasitology**, v. 202, n. 1-2, p. 54-58, 2014.
- BATISTA, L. C. S. O. et al. Eficácia *in vitro* de uma formulação aerossol de piperiproxifen e ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 34, n. Supl. 1, p. 41-45, 2012.
- BEAUCOURNU, J. C.; MÉNIER. Le genre *Ctenocephalides* Stiles et Collins, 1930 (Siphonaptera, Pulicidae). **Parasite**, v. 5, n. 1, p. 3-16, 1998.
- BECHARA, G. H. et al. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 4, n. 2, p. 61-66, 1995.
- BECSKEI, C. et al. Efficacy and safety of a novel oral isoxazoline, sarolaner (Simparica™), for the treatment of sarcoptic mange in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 222, p. 56-61, 2016.
- BERMÚDEZ, C. et al. Distribution of ectoparasites of *Canis lupus familiaris* (Carnivora: Canidae) from Panama. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 1, p. 2274-2282, 2011.
- BEUGNET, F. et al. Occurrence of *Dipylidium caninum* in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 1-2, p. 300-306, 2014.
- BEUGNET, F.; FRANC, M. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 7, p. 267-279, 2012.

- BEUGNET, F.; LIEBENBERG, J.; HALOS, L. Comparative efficacy of two oral treatments for dogs containing either afoxolaner or fluralaner against *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* and *Dermacentor reticulatus*. **Veterinary Parasitology**, v. 209, n. 1-2, p. 142-145, 2015.
- BEUGNET, F.; MARIÉ, J. Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 163, n. 4, p. 298-305, 2009.
- BISHOP, R. et al. A cement protein of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*, located in the secretory e cell granules of the type III salivary gland acini, induces strong antibody responses in cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 7, p. 833-842, 2002.
- BLAGBURN, B. L. et al. Dose titration of an injectable formulation of lufenuron in cats experimentally infested with fleas. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 12, p. 1513-1515, 1999.
- BLAGBURN, B. L. et al. Effects of orally administered spinosad (Comfortis®) in dogs on adult and immature stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 3-4, p. 312-317, 2010.
- BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p. 1173-1200, 2009.
- BLOOMQUIST, J. R. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 54, n. 4, p. 145-156, 2003.
- BONNEAU, S. et al. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental flea infestations (*Ctenocephalides felis*) in dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 8, n. 2, p. 16-20, 2010.
- BONNEAU, S.; GUPTA, S.; CADIERGUES, M. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental tick infestations (*Ixodes ricinus*) in dogs. **Parasitology Research**, v. 107, n. 3, p. 735-739, 2010.
- BOUHSIRA, E. et al. Efficacy of fipronil, amitraz and (S)-methoprene combination spot-on for dogs against adult dog fleas (*Ctenocephalides canis*, Curtis, 1826). **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 4, p. 351-353, 2011.
- BOUHSIRA, E. et al. Efficacy of permethrin, dinotefuran and pyriproxyfen on adult fleas, flea eggs collection, and flea egg development following transplantation of mature female fleas (*Ctenocephalides felis felis*) from cats to dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. 3, p. 541-546, 2012.
- BOWERS, W. S. Phytochemical resources for plant protection. **Recent Advances in the Chemistry of Insect Control**. n.1, v. 3, p. 272-292, 1985.
- BRAYDEN, D. J. Novel drug delivery strategies in veterinary medicine. **Irish Veterinary Journal**, v. 56, n. 6, p. 310-316, 2003.
- BRIANTI, E. et al. Efficacy of the fipronil 10%+(S)-methoprene 9% combination against *Rhipicephalus sanguineus* in naturally infested dogs: speed of kill, persistent efficacy on immature and adult stages and effect of water. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 1-2, p. 96-103, 2010.
- BROWN, L. D.; MACALUSO, K. R. Rickettsia felis, an emerging flea-borne rickettsiosis. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 3, n. 2, p. 27-39, 2016.
- BULL, M. S. et al. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron—an acarine growth regulator. **Australian Veterinary Journal**, v. 74, n. 6, p. 468-470, 1996.

- BURGIO, F.; MEYER, L.; ARMSTRONG, R. A comparative laboratory trial evaluating the immediate efficacy of fluralaner, afoxolaner, sarolaner and imidacloprid+ permethrin against adult *Rhipicephalus sanguineus* (*sensu lato*) ticks attached to dogs. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 626, 2016.
- CADIERGUES, M. C. et al. Efficacy of an adulticide used alone or in combination with an insect growth regulator for flea infestations of dogs housed in simulated home environments. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 9, p. 1122-1125, 1999.
- CADIERGUES, M. C. et al. First blood meal of *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) on dogs: time to initiation of feeding and duration. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 1, p. 214-215, 2001.
- CAMICAS, J. L. et al. **The ticks of the world (Acarida, Ixodida): nomenclature, described stages, hosts, distribution**. Paris: Éditions de l'ORSTOM, 1998. 233p.
- CARDIEGUES, M. C.; SANTAMARTA, D.; MALLET, X.; FRANC, M. First blood meal of *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) on dogs: time to initiation of feeding and duration. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 1, p. 214-215, 2001.
- COCHET, P. et al. Skin distribution of fipronil by microautoradiography following topical administration to the beagle dog. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 22, n. 3, p. 211-216, 1997.
- COOLEY, R. A. The genera *Boophilus*, *Rhipicephalus* and *Haemaphysalis* (Ixodidae) of the New World. **National Institutes of Health**, n. 187, v. 1, p. 55, 1946.
- CORONADO, A. *Ixodiphagus hookeri* Howard, 1907 (Hymenoptera: Encyrtidae) en la garrapata del perro *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) en Venezuela. **Entomotropica**, v. 21, n. 1, p. 61-63, 2008.
- CORREIA, T. R. et al. Eficácia de uma formulação para aplicação ambiental contendo o piretróide ciflutrina e o regulador de crescimento de insetos piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. Supl 1, p. 17-20, 2010.
- CORREIA, T. R. et al. Eficácia do regulador de crescimento de insetos piriproxifen associado ao piretróide d-fenotrina (Mypet® Aerosol) no controle ambiental de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Hora Veterinária**, v. 25, n. 3 p. 27-31, 2005.
- COUTINHO, M. T. Z. et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1, p. 149-155, 2005.
- COUTINHO, M. T. Z.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 3, p. 320-325, 2007.
- CRUTHERS, L. et al. Evaluation of the speed of kill of fleas and ticks with Frontline Top Spot in dogs. **Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine**, v. 2, n. 2, p. 170-174, 2001.
- CURTIS, C. F. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 15, n. 2, p. 108-114, 2004
- DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 1, p. 26, 2010.

- DANTAS-TORRES, F. et al. Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of São Vicente Férrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 18, n. 3, p. 75-77, 2009.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Efficacy of an imidacloprid/flumethrin collar against fleas, ticks and tick-borne pathogens in dogs. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 245, 2013.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* from the New and Old Worlds. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 213, 2013.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3, p. 173-185, 2008.
- DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437-446, 2012.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEIREDO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 13, n. 4, p. 151-154, 2004.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 64-67, 2006.
- DE AVELAR, D. M. et al. Endosymbionts of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) obtained from dogs captured in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 94, n. 2, p. 149-152, 2007.
- DE MARI, K. et al. Efficacy of Effipro® Duo against ticks (*Rhipicephalus turanicus*) in cats. **Veterinary Dermatology**, v. 27, n.2, p. 111, 2016a.
- DE MARI, K. et al. Impact of shampooing or water immersion on the effectiveness of Effipro® Duo against the further development of flea eggs: A randomised, blinded, controlled study in dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 27, p. 111-112, 2016b.
- DE OLIVEIRA, P. R. et al. Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 1-2, p. 139-147, 2005.
- DE OLIVEIRA, P. R. et al. Fluazuron-induced morphophysiological changes in the cuticle formation and midgut of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) nymphs. **Parasitology Research**, v. 112, n. 1, p. 45-58, 2013.
- DE OLIVEIRA, P. R. et al. Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of *Rhipicephalus sanguineus* nymphs (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): Determination of the LD95 and LD50. **Experimental Parasitology**, v. 131, n. 1, p. 35-39, 2012.
- DES VIGNES, F. et al. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 5, p. 773-778, 2001.
- DHANALAKSHMI, H. et al. Diagnosis and Management of Haemotropic Mycoplasmosis in Dogs. **INTAS POLIVET**, v. 18, n. 1, p. 192-193, 2017.

- DIOGO, A. A. R. et al. Parasitismo por *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 em *Columba livia* Linnaeus na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Entomologia y Vectores**, v. 10, n. 2, p. 277-280, 2003.
- DRYDEN, M. W. et al. Efficacy of dinotefuran–pyriproxyfen, dinotefuran–pyriproxyfen–permethrin and fipronil–(S)-methoprene topical spot-on formulations to control flea populations in naturally infested pets and private residences in Tampa, FL. **Veterinary Parasitology**, v. 182, n. 2-4, p. 281-286, 2011.
- DRYDEN, M. W. et al. Efficacy of indoxacarb applied to cats against the adult cat flea, *Ctenocephalides felis*, flea eggs and adult flea emergence. *Parasites & Vectors*, v. 6, n. 1, p. 126, 2013.
- DRYDEN, M. W. Host association on-host longevity and egg production of *Ctenocephalides felis felis*. **Veterinary Parasitology**. v. 34, n 1-2, p. 117-122, 1989.
- DRYDEN, M. W. Implementing an effective flea control program. **Veterinary Allergy**. v. 20, n.3 p. 152-157, 2014.
- DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A. Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. **Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine**, v. 5, n. 2, p. 139-154, 2004.
- DUMONT, P. et al. Acaricidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against *Ixodes ricinus* and *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 51, 2015.
- EISEN, R. J. et al. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and their potential role as vectors in a plague-endemic region of Uganda. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 6, p. 949-956, 2008.
- EISEN, R. J.; GAGE, K. L. Transmission of flea-borne zoonotic agents. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 61-82, 2012.
- ELFASSY, O. J. et al. Efficacy of an amitraz-impregnated collar in preventing transmission of *Borrelia burgdorferi* by adult *Ixodes scapularis* to dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 2, p. 185-189, 2001.
- EPE, C.; COATI, N.; STANNECK, D. Efficacy of the compound preparation imidacloprid 10%/permethrin 50% spot-on against ticks (*I. ricinus*, *R. sanguineus*) and fleas (*Ct. felis*) on dogs. **Parasitology Research**, v. 90, n. 3, p. 122-124, 2003.
- ESTRADA-PENA, A.; ASCHER, F. Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical administration of fipronil for prevention of experimental and natural infestations by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 12, p. 1799-1803, 1999.
- FERNANDES, F. F. *In vitro* activity of permethrin, cipermethrin and deltamethrin on larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari, Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 621-626, 2000.
- FOLZ, S. D. et al. Amitraz: a tick and flea repellent and tick detachment drug. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 9, n. 2, p. 150-156, 1986.
- FOURIE, J. J. et al. Study of the sustained speed of kill of the combination of fipronil/amitraz/(S)-methoprene and the combination of imidacloprid/permethrin against *Dermacentor reticulatus*, the European dog tick. **Parasite**, v. 18, n. 4, p. 319, 2011.

- FOURIE, J. J. et al. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 3-4, p. 595-603, 2013.
- FRANC, M.; BEUGNET, F. A comparative evaluation of the speed of kill and duration of efficacy against weekly infestations with fleas on cats treated with fipronil-(S)-methoprene or metaflumizone. **Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine**, v. 9, n. 2, p. 102-110, 2008.
- FRANC, M.; BOUHSIRA, E. Evaluation of speed and duration of efficacy of spinosad tablets for treatment and control of *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) infestations in dogs. **Parasite**, v. 16, n. 2, p. 125-128, 2009.
- FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 81, n. 4, p. 341-346, 1999.
- FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 81, n. 4, p. 341-346, 1999.
- FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Comparative activity in dogs of deltamethrin-and diazinon-impregnated collars against *Ctenocephalides felis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 1, p. 59-60, 1998.
- FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Comparative activity in dogs of deltamethrin and diazinon impregnated collars against *Ctenocephalides felis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 1, p. 59-60, 1998.
- FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Use of injectable lufenuron for treatment of infestations of *Ctenocephalides felis* in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 2, p. 140-142, 1997.
- FREITAS, M.G.; COSTA, H.M.A.; COSTA, J.O.; IIDE, P. **Entomologia e acarologia médica e veterinária**. 4^a. ed. Belo Horizonte: Rabelo e Brasil. 1978. 253p.
- GASSEL, M. et al. 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**, v. 45, p. 111-124, 2014.
- GEHRKE, F. S. et al. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. s2, p. 267-268, 2009.
- GRACIA, M. J. et al. Fleas parasitizing domestic dogs in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 312-319, 2008.
- GRAF, J.-F. et al. Tick control: an industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. S1, p. S427-S442, 2004.
- GRAY, J. et al. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 4, n. 3, p. 171-180, 2013.
- GROVES, M. G. et al. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 7, p. 937-940, 1975.

- GUGLIELMONE, A. A.; MOSA, S. G. Predation of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) group and *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888)(Acari: Ixodidae) by *Nothura Temminck*, 1815 (Aves: Tinamidae) in Salta, Argentina. **Folia Parasitologica**, v. 38, n. 2, p. 114, 1991.
- HAINZL, D.; COLE, L. M.; CASIDA, J. E. Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. **Chemical Research in Toxicology**, v. 11, n. 12, p. 1529-1535, 1998.
- HALOS, L. et al. Flea control failure? Myths and realities. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 5, p. 228-233, 2014.
- HALOS, L. et al. Knock-down and speed of kill of a combination of fipronil and permethrin for the prevention of *Ctenocephalides felis felis* flea infestation in dogs. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 57, 2016.
- HEILE, C. et al. Transmission time of tick-borne disease agents in dogs: *Borrelia*, *Anaplasma/Ehrlichia* and *Babesia*. **Praktische Tierarzt-Hannover-**, v. 1, n. 8, p. 584-592, 2007.
- HELLMANN, K. et al. European Multicenter Field Trial on the Efficacy and Safety of a topical Formulation of Imidacloprid and Permethrin (Advantix™) in Dogs naturally infested with Ticks and/or Fleas. **Parasitology Research**, v. 90, n. 3, p. 125-126, 2003.
- HOLZMER, S. et al. Efficacy of a novel formulation of metaflumizone for the control of fleas (*Ctenocephalides felis*) on cats. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 3, p. 219-224, 2007.
- HORAK, I. G.; BEAUCOURNU, J.-C.; BRAACK, L. E. O. Parasites of domestic and wild animals in South Africa. XLIV. Fleas (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) collected from 15 carnivore species. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 1, p. 9-14, 2004.
- HORAK, I. G.; FOURIE, J. J.; STANNECK, D. Efficacy of slow-release collar formulations of imidacloprid/flumethrin and deltamethrin and of spot-on formulations of fipronil/(s)-methoprene, dinotefuran/pyriproxyfen/permethrin and (s)-methoprene/amitraz/fipronil against *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis felis* on dogs. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 79, 2012.
- HORNOK, S. et al. Molecular investigation of hard ticks (Acari: Ixodidae) and fleas (Siphonaptera: Pulicidae) as potential vectors of rickettsial and mycoplasmal agents. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 1, p. 98-104, 2010.
- HOVDA, L. R.; HOOSER, S. B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 455-467, 2002.
- IRWIN, P. J.; JEFFERIES, R. Arthropod-transmitted diseases of companion animals in Southeast Asia. **TRENDS in Parasitology**, v. 20, n. 1, p. 27-34, 2004.
- JACOBS, P. A. H. et al. Diversity, seasonality and sites of attachment of adult ixodid ticks on dogs in the central region of the Free State Province, South Africa. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 4, p. 281, 2001.
- JERNIGAN, A. D. et al. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 91, n. 3-4, p. 359-375, 2000.

- JITTAPALAPONG, S. et al. Performance of female *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) fed on dogs exposed to multiple infestations or immunization with tick salivary gland or midgut tissues. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 4, p. 601-611, 2000.
- JONGEJAN, F. et al. The prevention of transmission of *Babesia canis canis* by *Dermacentor reticulatus* ticks to dogs using a novel combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 4, p. 343-350, 2011.
- KAAL, J. F.; BAKER, K.; TORGERSON, P. R. Epidemiology of flea infestation of ruminants in Libya. **Veterinary Parasitology**, v. 141, n. 3-4, p. 313-318, 2006.
- KATAVOLOS, P. et al. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 177, n. 5, p. 1422-1425, 1998.
- KERN, J. R. W. H.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. Diel patterns of cat flea (*Siphonaptera: Pulicidae*) egg and fecal deposition. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 203-206, 1992.
- KIDD, L.; BREITSCHWERDT, E. B. Transmission times and prevention of tick-borne diseases in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian-North American Edition-**, v. 25, n. 10, p. 742-753, 2003.
- KOCH, H. G. Oviposition of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) in the laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 75, n. 5, p. 583-586, 1982.
- KOCH, H. G.; TUCK, M. D. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 79, n. 1, p. 11-14, 1986.
- KOSHY, T. J.; RAJAVELU, G.; LALITHA, C. M. On the life cycle of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). v.12, n.06, p.337-338, 1983.
- KOVÁŘ, L. Tick saliva in anti-tick immunity and pathogen transmission. **Folia Microbiologica**, v. 49, n. 3, p. 327-336, 2004.
- KUNKLE, B. N. et al. Assessment of the onset of action of afoxolaner against existing adult flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 201, n. 3-4, p. 204-206, 2014.
- KUNTZ, E. A.; KAMMANADIMINTI, S. Safety evaluation of lotilaner in dogs after oral administration as flavoured chewable tablets (Credelio™). **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 538, 2017.
- KUŽNER, J. et al. Confirmation of the efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 193, n. 1, p. 245-251, 2013.
- LAWRENCE, A. L. et al. Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas (*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 3-4, p. 215-223, 2015.
- LEE, S. E.; JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. Salivary antigens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. **Parasite Immunology**, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1997.
- LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. Sifonápteros do Brasil. São Paulo: Editora Museu de Zoologia USP/FAPESP, 2000. 291 p.

- LORETTI, A. P.; BARROS, S. S. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 3, p. 193-213, 2005.
- LOULY, C. C. B et al. Differences in the susceptibility of two breeds of dogs, English cocker spaniel and beagle, to *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **International Journal of Acarology**, v. 35, n. 1, p. 25-32, 2009.
- LOULY, C. C. B. et al. Differences in the behavior of *Rhipicephalus sanguineus* tested against resistant and susceptible dogs. **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, n. 4, p. 353-362, 2010.
- LOULY, C. C. B. et al. Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiania, Goias, Brazil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 464-469, 2007.
- MARCHIONDO, A. A. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 332-344, 2007.
- MARCHIONDO, A. A. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 194, n. 1, p. 84-97, 2013.
- MASON, K. V.; RING, J.; DUGGAN, J. Fenthion for flea control on dogs under field conditions: dose response efficacy studies and effect on cholinesterase activity. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 20, n. 2, p. 591-595, 1984.
- MATTHEE, S. et al. Ixodid ticks on domestic dogs in the Northern Cape Province of South Africa and in Namibia. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 81, n. 2, p. 126-128, 2010.
- MAYNARD, L.; HOUFFSCHMIT, P.; LEBREUX, B. Field efficacy of a 10 per cent pyriproxyfen spot-on for the prevention of flea infestations on cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, n. 1, p. 491 – 494. 2001.
- MCCALL, J. W. et al. Comparative efficacy of a combination of fipronil/(S)-methoprene, a combination of imidacloprid/permethrin, and imidacloprid against fleas and ticks when administered topically to dogs. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 2, n. 1, p. 74, 2004.
- MCCOY, C.; BROCE, A. B.; DRYDEN, M. W. Flea blood feeding patterns in cats treated with oral nitenpyram and the topical insecticides imidacloprid, fipronil and selamectin. **Veterinary Parasitology**, v. 156, n. 3-4, p. 293-301, 2008.
- MCTIER, T. L. et al. Efficacy of selamectin against adult flea infestations (*Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*) on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 91, n. 3-4, p. 187-199, 2000.
- MEHLHORN, H. et al. In vitro and in vivo studies on the effect of a combination containing 10% imidacloprid and 50% permethrin against *Ixodes ricinus* ticks. **Parasitology Research** v. 89, n. 4, p. 323-325, 2003.
- MEHLHORN, H.; HANSEN, O.; MENCKE, N. Comparative study on the effects of three insecticides (fipronil, imidacloprid, selamectin) on developmental stages of the cat flea

- (*Ctenocephalides felis* Bouche 1835): a light and electron microscopic analysis of in vivo and in vitro experiments. **Parasitology Research**, v. 87, n. 3, p. 198-207, 2001.
- MEHLHORN, H.; MENCKE, N.; HANSEN, O. Effects of imidacloprid on adult and larval stages of the flea *Ctenocephalides felis* after in vivo and in vitro application: a light-and electron-microscopy study. **Parasitology Research**, v. 85, n. 8, p. 625-637, 1999.
- MELO, R. M. P. S. et al. Avaliação *in vitro* de uma formulação contendo o piretróide ciflutrina e o IGR piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835)(Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. Supl 1, p. 35-39, 2010.
- MENCKE, N. et al. Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, v. 105, n. 1, p. 185, 2009.
- MÉNIER, K.; BEAUCOURNU, J. Taxonomic study of the genus *Ctenocephalides* Stiles & Collins, 1930 (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) by using aedeagus characters. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 883-890, 1998.
- MEOLA, R. et al. Effect of pyriproxyfen in the blood diet of cat fleas on adult survival, egg viability, and larval development. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 4, p. 503-506, 2000.
- MEOLA, R. W. et al. Effect of lufenuron on chorionic and cuticular structure of unhatched larval *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 92-100, 1999.
- MEOLA, R. W.; DEAN, S. R.; BHASKARAN, G. Effects of juvenile hormone on eggs and adults of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 85-92, 2001.
- MEOLA, R.; PULLEN, S.; MEOLA, S. Toxicity and histopathology of the growth regulator pyriproxyfen to adults and eggs of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 33, n. 4, p. 670-679, 1996.
- METZGER, M. E.; RUST, M. K. Effect of temperature on cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) development and overwintering. **Journal of Medical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 173-178, 1997.
- MEXAS, A. M.; HANCOCK, S. I.; BREITSCHWERDT, E. B. *Bartonella henselae* and *Bartonella elizabethae* as potential canine pathogens. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 12, p. 4670-4674, 2002.
- MILLER, J. E.; BAKER, N. F.; COLBURN, Jr EL. Insecticidal activity of propoxur-and carbaryl-impregnated flea collars against *Ctenocephalides felis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 7, p. 923-925, 1977.
- NAPOLI, E. et al. Development of *Acanthocheilonema reconditum* (Spirurida, Onchocercidae) in the cat flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera, Pulicidae). **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1718-1725, 2014.
- NAVA, S. et al. Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. 3-4, p. 547-555, 2012.
- NAVA, S. et al. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2, p. 2-8, 2015.

NAVARRO, C. et al. Efficacy comparison of Effipro® Duo, fipronil alone and pyriproxyfen alone against the further development of flea (*Ctenocephalides felis*) eggs collected from cats. **Veterinary Dermatology**, v. 27, n. 2, p. 39, 2016.

NELSON, C. A.; SAHA, S.; MEAD, P; S. Cat-scratch disease in the United States, 2005–2013. **Emerging infectious diseases**, v. 22, n. 10, p. 1741, 2016.

NELSON, G. S. *Dipetalonema reconditum* (Grassi, 1889) from the dog with a note on its development in the flea, *Ctenocephalides felis* and the louse, *Heterodoxus spiniger*. **Journal of Helminthology**, v. 36, n. 3, p. 297-308, 1962.

NOLAN, J. T.; LOK, B. J. Macrocyclic lactones in the treatment and control of parasitism in small companion animals. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1078-1094, 2012.

NORDGREN, R. M.; CRAIG, T. M. Experimental transmission of the Texas strain of *Hepatozoon canis*. **Veterinary Parasitology**, v. 16, n. 3-4, p. 207-214, 1984.

OSBRINK, W. L.; RUST, M. K. Fecundity and longevity of adult cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera:Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**. v. 21, n. 6, p. 727-731, 1984.

OTRANTO, D. et al. Efficacy of a combination of imidacloprid 10%/permethrin 50% versus fipronil 10%/(S)-methoprene 12%, against ticks in naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 130, n. 3, p. 293-304, 2005.

PALMA, K. G.; MEOLA, S. M.; MEOLA, R. W. Mode of action of pyriproxyfen and methoprene on eggs of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 421-426, 1993.

PAPADOPOULOS, B.; MOREL, P. C.; AESCHLIMANN, A.. Ticks of domestic animals in the Macedonia region of Greece. **Veterinary Parasitology**, v. 63, n. 1-2, p. 25-40, 1996.

PARKER, R. R.; PHILIP, C. B.; JELLISON, W. L. Rocky Mountain spotted fever. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 1, n. 4, p. 341-379, 1933.

PATERSON, S. Flea allergic dermatitis. **Companion Animal**, v. 20, n. 3, p. 168-172, 2015.

PATON, D. L.; WALKER, J. S. Pyrethrin poisoning from commercial-strength flea and tick spray. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 6, n. 3, p. 232-235, 1988.

PAYNE, P. A. et al. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, n. 4, p. 331-340, 2001.

PAZ, G. F.; LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C. Ritmo de Queda de *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) de Cães Artificialmente Infestados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 17, n. 3, p. 139-144, 2008.

PLATTS-MILLS, T. A. E; COMMINS, S. P. Emerging antigens involved in allergic responses. **Current Opinion in Immunology**, v. 25, n. 6, p. 769-774, 2013.

POSTAL, J. R.; JEANNIN, P. C.; CONSALVI, P.- J. Field efficacy of a mechanical pump spray formulation containing 0.25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermatological signs in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 153-158, 1995.

- PRULLAGE, J. B. et al. The prevention of attachment and the detachment effects of a novel combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene for *Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis* on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 4, p. 311-317, 2011.
- PSAROULAKI, A. et al. Presence of *Coxiella burnetii* in fleas in Cyprus. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 14, n. 9, p. 685-687, 2014.
- PUGH, R. E. Effects on the development of *Dipylidium caninum* and on the host reaction to this parasite in the adult flea (*Ctenocephalides felis felis*). **Parasitology Research**, v. 73, n. 2, p. 171-177, 1987.
- RAMESH, A.; BALASUBRAMANIAN, M. Kinetics and hydrolysis of fenamiphos, fipronil, and trifluralin in aqueous buffer solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 8, p. 3367-3371, 1999.
- RANDOLPH, S. E. Transmission of tick-borne pathogens between co-feeding ticks: Milan Labuda's enduring paradigm. **Ticks and tick-Borne Diseases**, v. 2, n. 4, p. 179-182, 2011.
- REGENDANZ, P.; MUNIZ, J. O *Rhipicephalus sanguineus* como transmissor da piropasmose canina no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 1, p. 81-84, 1936.
- RIDDIFORD, L. M. Cellular and molecular actions of juvenile hormone I. General considerations and premetamorphic actions. **Advances in Insect Physiology**, v. 24, p. 213-274, 1994.
- RUGG, D.; HAIR, J. A. Dose determination of a novel formulation of metaflumizone plus amitraz for control of cat fleas (*Ctenocephalides felis felis*) and brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 3, p. 203-208, 2007.
- RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. **TRENDS in Parasitology**, v. 21, n. 5, p. 232-236, 2005.
- RUST, M. K. Influence of photoperiod on egg production of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) infesting cats. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 242-245, 1992.
- RUST, M. K. The Biology and Ecology of Cat Fleas and Advancements in Their Pest Management: A Review. **Insects**, v. 8, n. 4, p. 118, 2017.
- RUST, M. K.; DRYDEN, M. W. The biology, ecology and management of the cat flea. **Annual Review of Entomology**. v.42, n. 1, p. 451-473, 1997.
- RUST, M. K.; LANCE, W.; HEMSARTH, H. Synergism of the IGRs Methoprene and Pyriproxyfen Against Larval Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 3, p. 629-633, 2016.
- SALGADO, V. L. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 60, n. 2, p. 91-102, 1998.
- SALGADO, V. L.; HAYASHI, J. H. Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 3, p. 182-189, 2007.
- SAUTET, J. Invasion domiciliaire de *Rhipicephalus sanguineus* et de *Teutana triangulosa*. Role ixodiphage des araignees. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 14, n. 2, p. 126-129, 1936.

- SCHENKER, R. et al. Comparative speed of kill between nitenpyram, fipronil, imidacloprid, selamectin and cythioate against adult *Ctenocephalides felis* (Bouché) on cats and dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 3, p. 249-254, 2003.
- SCHRECK, C. E.; POSEY, K.; SMITH, D. Durability of permethrin as a potential clothing treatment to protect against blood-feeding arthropods. **Journal of Economic Entomology**, v. 71, n. 3, p. 397-400, 1978.
- SCHUELE, G. et al. The effect of water and shampooing on the efficacy of a pyriprole 12.5% topical solution against brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) and cat flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 300-311, 2008.
- SCOTT, F. B.; MARTINS, V. F.; SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R., Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 13-18, 2002.
- SEN, S. K. et al. The Vector of Canine Piroplasmiasis due to *Piroplasma gibsoni*. **Indian Journal of Veterinary Science**, v. 3, n. pt. 4, 1933.
- SERRA-FREIRE, N. M.; MELLO, R. P. **Entomologia e Acarologia na Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2006. 199 p.
- SHAW, S. E. et al. Tick-borne infectious diseases of dogs. **TRENDS in Parasitology**, v. 17, n. 2, p. 74-80, 2001.
- SHOOP, W. L. et al. Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 201, n. 3, p. 179-189, 2014.
- SIKAK, M.; BURROWS, M. Flea control in cats: new concepts and current armory. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 1, p. 31-40, 2013.
- SILVER, K. S. et al. Mechanism of action of sodium channel blocker insecticides (SCBIs) on insect sodium channels. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, n. 2, p. 87-92, 2010.
- SILVERMAN, J. The pupal cocoon of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché)(Siphonaptera: Pulicidae): a barrier to ant predation. **The Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 86, n. 2, p. 660-663, 1984.
- SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended longevity of the pre-emerged adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 6, p. 763-768, 1985.
- SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Some abiotic factors affecting the survival of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Environmental Entomology**, v. 12, n. 2, p. 490-495, 1983.
- SILVERMAN, J.; RUST, M. K.; REIERSON, D. A. Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 18, n. 1, p. 78-83, 1981.
- SIMPSON, R. M. et al. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 9, p. 1537-1541, 1991.
- SIX, R. H. et al. Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica™) and fluralaner (Bravecto®) against induced infestations of *Ctenocephalides felis* on dogs. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 92, 2016.

- SNYDER, D. E. et al. Preliminary studies on the effectiveness of the novel pulicide, spinosad, for the treatment and control of fleas on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 4, p. 345-351, 2007.
- SNYDER, D. E. et al. Speed of kill efficacy and efficacy of flavored spinosad tablets administered orally to cats in a simulated home environment for the treatment and prevention of cat flea (*Ctenocephalides felis*) infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 492-496, 2013.
- SNYDER, D. E.; CRUTHERS, L. R.; SLONE, R. L. Preliminary study on the acaricidal efficacy of spinosad administered orally to dogs infested with the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 1-2, p. 131-135, 2009.
- SOFER, S. et al. Molecular detection of zoonotic bartonellae (*B. henselae*, *B. elizabethae* and *B. rochalimae*) in fleas collected from dogs in Israel. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 29, n. 3, p. 344-348, 2015.
- SOULSBY, E. J. L. **Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos**. México: Interamericana, 1986. 823 p.
- SOUSA, C. A.; HALLIWELL, R. E. W. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3-4, p. 233-237, 2001.
- STAAL, G. B. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 20, n. 1, p. 417-460, 1975.
- STANNECK, D. et al. Efficacy of an imidacloprid/flumethrin collar against fleas, ticks, mites and lice on dogs. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 102, 2012.
- STANNECK, D. et al. 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. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 66, 2012.
- SWEATMAN, G. K. Physical and biological factors affecting the longevity and oviposition of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks. **The Journal of Parasitology**, v.1, n.2, p. 432-445, 1967.
- TAENZLER, J. et al. Efficacy of fluralaner against *Otodectes cynotis* infestations in dogs and cats. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 30, 2017.
- TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 253-268, 2001.
- TINOCO-GRACIA, L. et al. Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* ticks on dogs in a region on the Mexico-USA border. **The Veterinary Record**, v. 164, n. 2, p. 59, 2009.
- TRAVERSA, D. Fleas infesting pets in the era of emerging extra-intestinal nematodes. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 59, 2013.
- VAN DEN BOS, R. H. C.; CURTIS, R. J. The use of a 4% (w/w) deltamethrin collar (Scalibor® ProtectorBand) in the extended control of ticks on dogs. **Experimental and Applied Acarology**. v. 28, n. 4), 297-303, 2002.
- VARLOUD, M.; HODGKINS, E. Five-month comparative efficacy evaluation of three ectoparasiticides against adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*), flea egg hatch and emergence,

- and adult brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus sensu lato*) on dogs housed outdoors. **Parasitology Research**, v. 114, n. 3, p. 965-973, 2015
- VASCONCELOS, J. S. de et al. Clinical and histopathological characterization of allergic dermatitis in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 248-256, 2017.
- VOBIS, M. et al. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, v. 91, n. 6, p. 467-470, 2003a.
- VOBIS, M. et al. Experimental quantification of the feline leukaemia virus in the cat flea (*Ctenocephalides felis*) and its faeces. **Parasitology Research**, v. 97, n. 1, p. S102-S106, 2005.
- VOBIS, M. et al. The feline leukemia virus (FeLV) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, v. 90, n. 3, p. S132-S134, 2003b.
- VOLMER, P. A. et al. Warning against use of some permethrin products in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 6, p. 800, 1998.
- WADE, S. E.; GEORGI, J. R. Survival and reproduction of artificially fed cat fleas, *Ctenocephalides felis* Bouché (Siphonaptera:Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**. v. 25, n. 3, p. 214-215, 1988.
- WHITTEM, T. Pyrethrin and pyrethroid insecticide intoxication in cats. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian (USA)**, v. 17, n.3, p. 489-492, 1995.
- WILLIAMS, T.; VALLE, J.; VIÑUELA, E. Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies? **Biocontrol science and technology**, v. 13, n. 5, p. 459-475, 2003.
- WING, K. D. et al. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. **Crop Protection**, v. 19, n. 8-10, p. 537-545, 2000.
- WRIGHT, I. The flea reproductive break point—what it is and how it is pivotal for successful flea control. **The Veterinary Nurse**, v. 7, n. 2, p. 84-90, 2016.
- YOUNG, D. R.; JEANNIN, P. C.; BOECKH, A. Efficacy of fipronil/(S)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*, Bouché). **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3, p. 397-407, 2004.
- ZHAO, X. et al. Differential actions of fipronil and dieldrin insecticides on GABA-gated chloride channels in cockroach neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 3, p. 914-924, 2003.
- ZHAO, X. et al. Fipronil is a potent open channel blocker of glutamate-activated chloride channels in cockroach neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 310, n. 1, p. 192-201, 2004.
- ZHAO, X. et al. Voltage-dependent block of sodium channels in mammalian neurons by the oxadiazine insecticide indoxacarb and its metabolite. **Neurotoxicology**, v. 24, n. 1, p. 83-96, 2003.
- ZHENG, Y. et al. RdlDv, a novel GABA-gated chloride channel gene from the American dog tick *Dermacentor variabilis*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, n. 6, p. 595-599, 2003.

ANEXOS

Anexo A. Certificado de Aprovação na CEUA-IV-UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia Pulvicida para *Ctenocephalides felis felis* e Carrapaticida para *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* de um produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen em Cães Artificialmente Infestados.”



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no
Uso de Animais
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA PULVICIDA PARA *Ctenocephalides felis felis* E CARRAPATICIDA PARA *Rhipicephalus sanguineus* DO PRODUTO C669 EM CÃES SUBMETIDOS AO TESTE CONTROLADO.”, protocolada sob o CEUA nº 1633231015, sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott** e equipe: *Monique Moraes Lambert*; *Thais Ribeiro Correia Azevedo*; *Diefrey Ribeiro Campos* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 27/10/2015.

We certify that the proposal “Evaluation of the pulicide efficacy against *Ctenocephalides felis felis* and acaricide efficacy against *Rhipicephalus sanguineus* of the product C669 in dogs that were subject to a controlled test”, utilizing 16 Dogs (males and females), protocol number CEUA 1633231015, under the responsibility of **Fabio Barbour Scott** and team: *Monique Moraes Lambert*; *Thais Ribeiro Correia Azevedo*; *Diefrey Ribeiro Campos* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 10/27/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 12/2015 a 01/2016

Área: **Dpa**

Origem: **Biotério externo**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 6 anos**

N: **16**

Linhagem: **Beagle**

Peso: **10 a 25 kg**

Resumo: Os ectoparasitas, *Rhipicephalus sanguineus* e *Ctenocephalides felis* são os de maior ocorrência no Brasil, estes parasitos possuem importância médico-veterinária, pois são responsáveis por espoliação e transmissão de agentes patogênicos aos hospedeiros. Dessa forma o controle de ectoparasitas é de grande relevância, com isso o presente estudo tem o intuito de testar a eficácia, carrapaticida para *Rhipicephalus sanguineus* e púlgucida para *Ctenocephalides felis* em 16 cães da raça Beagle, do produto C669, medicamento spot-on a base de fipronil e s-metropeno. Onde o fipronil pertence à classe do fenilpirazoles e atua inibindo o GABA, causando a morte do parasito por inanição. Já o s-metropeno é um análogo sintético do hormônio juvenil, inibe assim o desenvolvimento dos insetos.

Local do experimento: Nas dependências do canil experimental do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal/Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Km 07 da BR 465, Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Seropédica, 16 de novembro de 2016

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva

Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo B. Errata do Certificado de Aprovação na CEUA-IV–UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia Pulicida para *Ctenocephalides felis felis* e Carrapaticida para *Rhipicephalus sanguineus* senso latu de um produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen em Cães Artificialmente Infestados.”



Seropédica 28 de outubro de 2015

ERRATA - DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Errata a declaração de aprovação do protocolo de número 1633231015 encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Parasitologia Animal, Fábio Barbour Scott. Informamos que o título correto do protocolo é **“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA PULGUICIDA PARA *Ctenocephalides felis felis* E CARRAPATICIDAPARA *Rhipicephalus sanguineus* DO PRODUTO CP039 EM CÃES SUBMETIDOS AO TESTE CONTROLADO.”** e o número de animais aprovados foram 20 cães, e não 16 como está escrito na declaração.

Jonimar Pereira Paiva

Vice-Coordenador CEUA-IV

BR 465, Km 7 – Campus da UFRRJ
Seropédica – Rio de Janeiro – CEP: 23.890-000
Telefone: (021) 2682-3051 E-mail: ceua.iv.ufrrj@gmail.com

Anexo C. Valores das contagens individuais de carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, adultos, vivos e fixados recuperados sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “Spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.

Animal /Grupo	Número de Carrapatos Adultos Vivos e Fixados Recuperados							
	D-5	D+2	D+7	D+14	D+21	D+28	D+35	D+42
Controle								
288437	41	43	38	46	41	32	35	29
394675	27	32	36	39	33	31	26	24
604418	21	30	33	35	26	38	23	27
503391	20	45	38	44	42	42	24	33
594686	12	14	36	16	23	13	23	24
459444	45	41	29	37	42	26	19	28
288441	16	28	41	43	43	42	24	29
Média A	26.00^a	33.29^a	35.86^a	37.14^a	35.71^a	32.00^a	24.86^a	27.71^a
DP	12.54	10.83	3.89	10.12	8.40	10.28	4.95	3.15
Média G	23.65^a	31.44^a	35.67^a	35.52^a	34.79^a	30.20^a	24.49^a	27.57^a
Tratado								
459366	42	5	8	9	4	6	5	4
604399	26	0	0	0	0	1	4	7
288438	21	2	1	2	3	3	8	4
604885	20	0	0	4	1	3	2	12
420437	14	5	9	4	3	2	1	7
595878	50	1	0	2	9	2	0	3
595950	13	2	0	2	10	3	3	2
Média A	26.57^a	2.14^b	2.57^b	3.29^b	4.29^b	2.86^b	3.29^b	5.57^b
DP	14.16	2.12	4.08	2.87	3.82	1.57	2.69	3.41
Eficácia A %		93.56	92.83	91.15	88.00	91.07	86.78	79.90
Média G	23.78^a	1.52^b	1.10^b	2.52^b	3.04^b	2.61^b	2.50^b	4.90^b
Eficácia G%		95.16	96.92	92.89	91.26	91.34	89.78	82.22
p-value	0,9489	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística ($p < 0,05$).

Anexo D. Valores das contagens individuais de pulgas vivas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “Spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.

Animal /Grupo	Número de Pulgas Vivas Recuperadas												
	D-5	D+2	D+7	D+14	D+21	D+28	D+35	D+42	D+49	D+56	D+63	D+70	D+77
Controle													
288437	38	41	29	26	27	25	33	26	43	40	38	52	39
394675	32	27	22	52	36	38	30	37	45	38	40	37	42
604418	26	19	17	14	28	25	27	25	54	52	47	40	56
503391	55	22	47	18	41	30	41	58	36	40	36	39	30
594686	28	20	28	33	38	32	25	64	61	55	50	55	38
459444	26	22	15	20	27	29	22	37	39	35	49	40	48
288441	33	29	52	71	73	63	54	42	43	38	36	40	56
Média A	34.00^a	25.71^a	30.00^a	33.43^a	38.57^a	34.57^a	33.14^a	41.29^a	45.86^a	42.57^a	42.29^a	43.29^a	44.14^a
DP	10.21	7.65	14.35	20.85	16.22	13.30	11.07	14.90	8.73	7.70	6.18	7.11	9.70
Média G	32.93^a	24.91^a	27.33^a	28.82^a	36.38^a	32.93^a	31.79^a	39.11^a	45.20^a	42.03^a	41.91^a	42.83^a	43.23^a
Tratado													
459366	52	0	0	1	3	6	4	3	4	5	8	12	15
604399	25	0	0	0	0	1	2	1	6	6	4	6	11
288438	29	0	0	0	1	4	1	0	2	3	5	3	8
604885	26	0	0	0	0	2	5	2	1	4	3	9	10
420437	43	0	0	0	0	1	2	1	1	1	6	10	12
595878	57	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2	4	6
595950	25	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	7	7
Média A	36.71^a	0.00^b	0.00^b	0.14^b	0.57^b	2.86^b	2.00^b	1.00^b	2.00^b	2.71^b	4.14^b	7.29^b	9.86^b
DP	13.74	0.00	0.00	0.38	1.13	1.86	1.91	1.15	2.24	2.43	2.41	3.25	3.13
Eficácia A %		100.00	100.00	99.57	98.52	91.74	93.97	97.58	95.64	93.62	90.20	83.17	77.67
Média G	34.71^a	0.00^b	0.00^b	0.10^b	0.35^b	2.49^b	1.46^b	0.74^b	1.37^b	1.89^b	3.63^b	6.70^b	9.47^b
Eficácia G%		100.00	100.00	99.64	99.05	92.44	95.42	98.11	96.97	95.51	91.35	84.36	78.08
p-value	84,72	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística (p<0,05).

Anexo E. Certificado de Aprovação na CEUA/IV-UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia “Speed Of Kill” – Ação Imediata – do Produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen sobre *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* em Cães”



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Determinação da Ação [Speed Of Kill] Ação Imediata- dos Produtos CP039 E CP034 Sobre Pulga (*Ctenocephalides felis felis*) e Carrapato (*Rhipicephalus sanguineus*) em Cães", protocolada sob o CEUA nº 8907151016, sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott** e equipe: Diefrey Ribeiro Campos; Rosângela Rodrigues dos Santos; Monique Moraes Lambert - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 17/10/2016.

We certify that the proposal "Determination of Action "Speed of Kill" of CP039 and CP034 Products About Fleas (*Ctenocephalides felis felis*) and tick (*Rhipicephalus sanguineus*) in Dogs", utilizing 54 Dogs (males and females), protocol number CEUA 8907151016, under the responsibility of **Fabio Barbour Scott** and team: Diefrey Ribeiro Campos; Rosângela Rodrigues dos Santos; Monique Moraes Lambert - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 10/17/2016.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 11/2016 a 02/2017 Área: Parasitologia Animal

Origem:	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ						
Especie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	Idade:	1 a 6 anos	N:	54
Linhagem:	Beagles			Peso:	6 a 20 kg		

Local do experimento: Canil Experimental do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

Seropédica, 28 de janeiro de 2018

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Joámar Pereira Paiva
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo F. Valores das contagens individuais de carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, adultos, vivos e fixados recuperados sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, nos tempos de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

Animal / Grupo	2 Horas					Animal / Grupo	4 Horas					Animal / Grupo	24 Horas				
	D-5	D 0	D +7	D +14	D +21		D-5	D 0	D +7	D +14	D +21		D-5	D 0	D +7	D +14	D +21
Controle						Controle						Controle					
595950	35	31	40	22	38	008601	26	23	36	26	31	044482	21	13	22	5	29
288376	12	24	38	43	37	288363	14	33	50	30	35	595779	10	25	21	26	35
044249	45	27	50	47	41	008413	30	34	32	48	41	288385	33	27	29	14	41
035750	22	25	44	31	42	459394	20	30	45	40	44	503439	18	24	20	23	38
458686	13	19	36	35	39	594533	14	22	45	38	39	103607	14	32	31	35	44
458736	12	21	31	38	39	458668	10	43	46	31	33	459366	12	26	30	32	29
Média A	23.17^a	24.5^a	39.83^a	36^a	39.33^a	Média A	19^a	30.83^a	42.33^a	35.5^a	37.17^a	Média A	18^a	24.5^a	25.5^a	22.5^a	36^a
DP	13.93	4.28	6.59	8.9	1.86	DP	7.77	7.78	6.83	8.04	5	DP	8.37	6.28	5.01	11.29	6.2
Média G	20.17^a	24.2^a	39.4^a	35.02^a	39.3^a	Média G	17.75^a	30.05^a	41.85^a	34.78^a	36.89^a	Média G	16.67^a	23.7^a	25.1^a	19.27^a	35.56^a
Tratado						Tratado						Tratado					
594568	20	16	30	7	21	604238	24	33	33	26	39	595878	33	4	3	0	1
288361	16	37	24	17	21	458773	13	21	13	31	36	459444	12	4	1	1	3
257913	39	6	37	33	30	288429	40	13	27	26	30	604885	30	1	10	20	38
459368	24	19	38	32	33	104220	19	19	40	41	44	236368	21	3	4	27	26
288400	18	11	36	38	37	594686	14	5	15	31	28	288403	14	8	12	0	27
288438	12	15	29	23	38	595814	12	23	34	49	42	596143	11	2	15	10	8
Média A	21.5^a	17.33^a	32.33^a	25^a	30^b	Média A	20.33^a	19^b	27^b	34^a	36.5^a	Média A	20.17^a	3.67^b	7.5^b	9.67^b	17.17^b
DP	9.46	10.63	5.54	11.61	7.54	DP	10.63	9.47	10.9	9.17	6.44	DP	9.5	2.42	5.61	11.57	15.2
Eficácia A %		29.25	18.83	30.56	23.73	Eficácia A %		38.38	36.22	4.23	1.79	Eficácia A %		85.03	70.59	57.04	52.31
Média G	20.1^a	15.09^a	31.93^a	22.08^a	29.18^b	Média G	18.56^a	16.64^b	24.96^b	33.08^a	36.02^a	Média G	18.46^a	3.19^b	5.71^b	3.85^b	10.34^b
Eficácia G %		37.64	18.95	36.94	25.74	Eficácia G %		44.61	40.37	4.88	2.37	Eficácia G %		86.55	77.24	80.04	70.93
p-value	0,8719	0,0651	0,0538	0,1225	0,0104	p-value	0,8719	0,0374	0,0250	0,8710	0,8723	p-value	0,7223	0,0041	0,0135	0,0173	0,0107

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística (p<0,05).

Anexo G. Valores das contagens individuais de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis*, adultas vivas recuperadas sobre os cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, nos tempos de duas, quatro e 24 horas após tratamento/infestações.

Animal / Grupo	2 Horas						0	4 Horas						0	24 Horas					
	D-5	D 0	D +7	D +14	D+21	D+28		D-5	D 0	D +7	D +14	D+21	D+28		D-5	D 0	D +7	D +14	D+21	D+28
Controle							Controle							Controle						
595950	76	40	41	36	41	46	008601	49	42	51	21	36	71	044482	58	22	24	25	33	39
288376	94	62	47	52	58	52	288363	47	72	47	12	41	98	595779	40	21	22	31	36	36
44249	70	30	46	21	42	27	008413	28	32	22	23	51	36	288385	43	31	31	28	37	36
035750	58	26	62	28	38	77	459394	87	84	51	43	61	28	503439	72	45	21	22	43	78
458686	41	37	61	62	54	75	594533	88	89	78	34	45	41	103607	79	38	23	24	29	42
458736	46	62	83	72	68	34	458668	63	62	42	10	59	26	459366	51	21	24	21	33	36
Média A	64.17^a	42.83^a	56.67^a	45.17^a	50.17^a	51.83^a	Média A	60.33^a	63.5^a	48.5^a	23.83^a	48.83^a	50^a	Média A	57.17^a	29.67^a	24.17^a	25.17^a	35.17^a	44.5^a
DP	19.84	15.65	15.45	20.06	11.77	20.68	DP	23.81	22.8	18.05	12.73	9.97	28.57	DP	15.69	10.15	3.54	3.76	4.75	16.59
Média G	61.65^a	40.59^a	55.07^a	41.33^a	49.08^a	48.36^a	Média G	56.16^a	59.68^a	45.52^a	21.09^a	47.99^a	44.33^a	Média G	55.44^a	28.35^a	23.98^a	24.95^a	34.91^a	42.61^a
Tratado							Tratado							Tratado						
594568	89	3	0	3	6	32	604238	38	6	0	1	3	16	595878	61	0	0	0	0	0
288361	74	45	0	16	15	18	458773	81	18	1	0	4	4	459444	90	0	0	0	0	0
257913	80	1	3	16	10	13	288429	49	2	0	0	6	5	604885	66	2	1	0	2	1
459368	93	5	0	1	8	0	104220	79	1	0	0	2	18	236368	33	1	1	0	1	0
288400	74	3	0	7	5	0	594686	85	8	7	2	12	5	288403	74	0	0	7	9	1
288438	74	0	0	1	3	1	595814	70	5	0	0	13	2	596143	41	0	2	0	4	7
Média A	80.67^a	9.5^b	0.5^b	7.33^b	7.83^b	10.67^b	Média A	67^a	6.67^b	1.33^b	0.5^b	6.67^b	8.33^b	Média A	60.83^a	0.5^b	0.67^b	1.17^b	2.67^b	1.5^b
DP	8.43	17.48	1.22	7.06	4.26	12.93	DP	19.17	6.12	2.8	0.84	4.72	6.83	DP	21.07	0.84	0.82	2.86	3.44	2.74
Eficácia A %	77.82	99.12	83.76	84.39	79.42	Eficácia A %	89.5	97.25	97.9	86.35	83.33	Eficácia A %	98.31	97.24	95.36	92.42	96.63			
Média G	80.32^a	3.55	0.26^b	4.77^b	7.02^b	4.1^b	Média G	64.38^a	4.92^b	0.59^b	0.35^b	5.51^b	6.47^b	Média G	57.6^a	0.35^b	0.51^b	0.41^b	1.59^b	0.78^b
Eficácia G %	91.26	99.53	88.45	85.7	91.53	Eficácia G %	91.75	98.71	98.35	88.51	85.39	Eficácia G %	98.77	97.86	98.34	95.45	98.17			
p-value	0,1467	0,0250	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	p-value	0,8099	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	p-value	0,7488	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística (p<0,05).

Anexo H. Certificado de Aprovação na CEUA-IV–UFRRJ do estudo intitulado “Eficácia do Produto na Formulação “Spray” Contendo Fipronil Associado ao Piriproxifen Empregado em Cães na Interrupção do Desenvolvimento de Ovo à Adulto (Ação IGR) de *Ctenocephalides felis felis*.”



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no
Uso de Animais
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Avaliação da Eficácia do Produto CP039 Empregado em Cães na Interrupção do Desenvolvimento de Ovo à Adulto (Ação IGR) de *Ctenocephalides felis felis*”, protocolada sob o CEUA nº 4466191016, sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott** e equipe; *Diefrey Ribeiro Campos; Monique Moraes Lamber; Rosângela Rodrigues dos Santos; Nathalia Alecrim Villela* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 24/10/2016.

We certify that the proposal “Evaluation of the Efficacy of Product CP039 on Dogs in Discontinuation of Development the Egg at Adult (IGR Action) of *Ctenocephalides felis felis*”, utilizing 18 Dogs (males and females), protocol number CEUA 4466191016, under the responsibility of **Fabio Barbour Scott** and team; *Diefrey Ribeiro Campos; Monique Moraes Lamber; Rosângela Rodrigues dos Santos; Nathalia Alecrim Villela* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 10/24/2016.

Finalidade da Proposta: *Pesquisa (Acadêmica)*

Vigência da Proposta: de 12/2016 a 03/2017 Área: Parasitologia Animal

Origem:	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ						
Espécie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	1 a 6 anos	N:	18
Linhagem:	Beagles			Peso:	6 a 20 kg		

Local do experimento: O experimento acontecerá nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, que é um anexo do Departamento de Parasitologia Animal, do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

Seropédica, 28 de janeiro de 2018

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo I. Valores das contagens individuais de pulgas vivas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.

Animal / Grupo	Contagem de Pulgas															
	D-5	+2	+10	+17	+24	+31	+38	+45	+52	+59	+66	+73	+80	+87	+94	+101
Controle																
288376	94	41	106	101	112	152	112	75	67	79	72	91	139	186	111	101
044249	70	53	87	76	89	102	82	92	35	24	39	43	119	49	71	52
035750	58	45	98	71	77	84	77	87	108	64	66	83	97	101	118	122
288363	47	53	72	83	121	96	85	103	60	39	63	51	82	121	88	93
594533	88	40	96	89	99	103	76	108	96	101	70	106	123	159	132	106
458668	63	37	80	97	100	143	66	71	72	54	60	101	88	177	106	99
Média A	70,00^a	44,83^a	89,83^a	86,17^a	99,67^a	113,33^a	83,00^a	89,33^a	73,00^a	60,17^a	61,67^a	79,17^a	108,00^a	132,17^a	104,33^a	95,50^a
DP	18,01	6,82	12,56	11,74	15,72	27,46	15,62	14,76	26,09	27,68	11,94	26,28	22,38	52,23	21,81	23,47
Média G	68,09^a	44,42^a	89,09^a	85,50^a	98,62^a	110,73^a	81,90^a	88,32^a	68,76^a	54,48^a	60,52^a	75,02^a	106,09^a	121,10^a	102,30^a	92,52^a
Tratado																
594568	89	0	0	0	1	2	0	0	4	2	30	13	32	57	83	80
288438	74	0	0	0	0	0	0	2	28	52	90	105	35	69	145	73
458773	81	0	0	0	0	5	0	6	16	5	43	37	27	53	49	97
288429	49	0	0	0	0	0	12	36	84	79	104	188	99	38	192	181
104220	79	0	0	0	0	4	2	21	42	41	33	49	22	113	63	107
595814	70	0	0	0	1	6	0	27	64	95	108	103	97	89	130	131
Média A	73,67^a	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,33^b	2,83^b	2,33^b	15,33^b	39,67^a	45,67^a	68,00^a	82,50^a	52,00^b	69,83^b	110,33^a	111,50^a
DP	13,71	0,00	0,00	0,00	0,52	2,56	4,80	14,80	30,10	37,86	36,53	63,37	35,91	27,18	54,79	39,79
Eficácia A %	#	100,00	100,00	100,00	99,67	97,50	97,19	82,84	45,66	24,10	0,00	0,00	51,85	47,16	0,00	0,00
Média G	72,46^a	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,26^b	1,93^b	0,84^b	7,84^b	27,92^a	24,98^a	59,35^a	60,75^a	43,24^b	65,66^b	98,87^a	106,28^a
Eficácia G %	#	100,00	100,00	100,00	99,74	98,26	98,97	91,12	59,39	54,15	1,94	19,02	59,24	45,78	3,36	0,00
p-value	0,6998	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	<0,0001	0,0675	0,4663	0,7005	0,9076	0,0088	0,0267	0,8082	0,4160

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística (p<0,05).

Anexo J. Valores das contagens individuais de ovos de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperadas de cães da raça Beagle do grupo e controle e tratado com a associação do fipronil ao piriproxifen na formulação “spray”, médias, desvios padrões e eficácias do tratamento.

Animal / Grupo	Recuperação de Ovos														
	+2	+10	+17	+24	+31	+38	+45	+52	+59	+66	+73	+80	+87	+94	+101
Controle															
288376	44	51	50	43	48	63	100	112	43	53	117	76	93	35	186
044249	45	56	54	49	45	65	11	6	23	152	104	26	121	101	31
035750	43	42	48	61	56	57	242	63	61	68	122	201	172	145	208
288363	49	47	47	53	57	51	142	110	127	117	135	111	207	42	227
594533	51	60	53	42	46	49	102	141	212	144	129	79	258	112	197
458668	44	40	60	54	49	69	93	163	30	101	280	94	166	243	147
Média A	46,00^a	49,33^a	52,00^a	50,33^a	50,17^a	59,00^a	115,00^a	99,17^a	82,67^a	105,83^a	147,83^a	97,83^a	169,50^a	113,00^a	166,00^a
DP	3,22	7,84	4,77	7,20	5,12	8,00	75,57	56,74	73,58	39,90	65,62	58,00	59,10	76,41	71,32
Média G	45,91^a	48,83^a	51,83^a	49,91^a	49,96^a	58,55^a	85,11^a	70,25^a	60,73^a	98,92^a	139,13^a	83,24^a	160,66^a	91,73^a	141,45^a
Tratado															
594568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	20	31	30	31
288438	0	0	0	0	0	0	0	0	101	90	106	86	51	70	68
458773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56	20	37	14	76	62
288429	0	0	0	0	0	0	0	3	20	13	23	15	52	121	67
104220	0	0	0	0	0	0	0	72	131	0	225	59	198	76	29
595814	0	0	0	0	0	0	0	0	171	182	392	104	256	419	34
Média A	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	12,50^b	70,50^a	56,83^a	137,67^a	53,50^a	100,33^a	132,00^a	48,50^b
DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	29,17	73,73	70,92	145,84	36,09	100,80	143,53	18,98
Eficácia A %	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	87,39	14,72	46,30	6,88	45,32	40,81	0,00	70,78
Média G	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	0,00^b	1,58^b	18,11^a	14,39^a	80,46^a	42,74^a	62,83^a	92,51^a	45,36^b
Eficácia G %	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	97,76	70,19	85,45	42,17	48,66	60,89	0,00	67,93
p-value	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0104	0,7806	0,1709	0,8793	0,1429	0,1776	0,7488	0,0306

Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão. Letras diferentes nas médias significa que ocorreu diferença estatística (p<0,05).

Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis* incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto.

Animal / Grupo	Total de ovos incubado por repetição																	
	+2			+10			+17			+24			+31			+38		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle																		
288376	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
044249	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
035750	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
288363	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
594533	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
458668	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
Média A	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00
DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média G	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00
Tratado																		
594568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
288438	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
458773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
288429	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
595814	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.

Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis* incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto. (continuação 1).

Animal / Grupo	Total de ovos incubado por repetição																	
	+45			+52			+59			+66			+73			+80		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle																		
288376	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
044249	11	0	11	6	0	6	20	3	23	20	20	40	20	20	40	20	6	26
035750	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
288363	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
594533	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40	20	20	40
458668	20	20	40	20	20	40	20	10	30	20	20	40	20	20	40	20	20	40
Média A	18,50	16,67	35,17	17,67	16,67	34,33	20,00	15,50	35,50	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	17,67	37,67
DP	3,67	8,16	11,84	5,72	8,16	13,88	0,00	7,31	7,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,72	5,72
Média G	18,13	11,64	32,41	16,49	11,64	29,54	20,00	13,30	34,79	20,00	20,00	40,00	20,00	20,00	40,00	20,00	16,49	37,24
Tratado																		
594568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	40	20	0	20
288438	0	0	0	0	0	0	20	20	40	0	0	0	20	20	40	20	20	40
458773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	40	20	0	20	20	17	37
288429	0	0	0	3	0	3	20	0	20	13	0	13	20	3	23	15	0	15
104220	0	0	0	20	20	40	40	20	60	0	0	0	20	20	40	20	20	40
595814	0	0	0	1	0	1	40	20	60	20	20	40	20	20	40	20	20	40
Média A	0,00	0,00	0,00	4,00	3,33	7,33	20,00	10,00	30,00	8,83	6,67	15,50	20,00	13,83	33,83	19,17	12,83	32,00
DP	0,00	0,00	0,00	7,92	8,16	16,05	17,89	10,95	27,57	10,01	10,33	19,63	0,00	9,60	9,60	2,04	10,01	11,40
Média G	0,00	0,00	0,00	1,35	0,66	1,63	8,51	3,58	11,14	3,28	1,76	4,35	20,00	8,59	32,54	19,07	6,42	29,96

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.

Anexo K. Número de ovos de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis* incubados para avaliação do percentual de evolução de ovo a adulto. (continuação 2).

Animal / Grupo	Total de ovos incubado por repetição								
	+87			+94			+101		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle									
288376	20	13	33	18	15	33	18	13	31
044249	17	14	31	19	16	35	16	8	24
035750	16	13	29	17	13	30	20	13	33
288363	11	18	29	16	14	30	16	19	35
594533	19	14	33	18	19	37	13	16	29
458668	16	17	33	17	13	30	14	15	29
Média A	16,50	14,83	31,33	17,50	15,00	32,50	16,17	14,00	30,17
DP	3,15	2,14	1,97	1,05	2,28	3,02	2,56	3,69	3,82
Média G	16,24	14,72	31,28	17,48	14,87	32,39	16,01	13,58	29,96
Tratado									
594568	20	11	31	20	10	30	20	11	31
288438	20	20	40	20	20	40	20	20	40
458773	14	0	14	20	20	40	20	20	40
288429	20	20	40	20	20	40	20	20	40
104220	20	20	40	20	20	40	20	9	29
595814	20	20	40	20	20	40	20	14	34
Média A	19,00	15,17	34,17	20,00	18,33	38,33	20,00	15,67	35,67
DP	2,45	8,26	10,52	0,00	4,08	4,08	0,00	5,01	5,01
Média G	18,85	10,52	32,27	20,00	17,85	38,13	20,00	14,98	35,37

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.

Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões.

Animal / Grupo	Total de pulgas adultas recuperadas dos ovos eclodidos																	
	+2			+10			+17			+24			+31			+38		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle																		
288376	18	17	35	16	14	30	20	13	33	17	19	36	15	15	30	18	15	33
044249	20	16	36	20	17	37	13	20	33	20	14	34	16	13	29	12	14	26
035750	16	20	36	18	19	37	18	16	34	19	15	34	20	16	36	11	17	28
288363	16	17	33	20	16	36	17	18	35	16	17	33	18	16	34	16	17	33
594533	17	19	36	17	15	32	16	17	33	18	14	32	19	17	36	20	15	35
458668	15	17	32	19	16	35	20	14	34	20	19	39	20	18	38	12	14	26
Média A	17,00	17,67	34,67	18,33	16,17	34,50	17,33	16,33	33,67	18,33	16,33	34,67	18,00	15,83	33,83	14,83	15,33	30,17
DP	1,79	1,51	1,75	1,63	1,72	2,88	2,66	2,58	0,82	1,63	2,34	2,50	2,10	1,72	3,60	3,71	1,37	3,97
Média G	16,93	17,62	34,63	18,27	16,10	34,40	17,16	16,17	33,66	18,27	16,20	34,60	17,90	15,76	33,67	14,48	15,29	29,96
Tratado																		
594568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
288438	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
458773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
288429	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
595814	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.

Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões (continuação 1).

Animal / Grupo	Total de pulgas adultas recuperadas dos ovos eclodidos																	
	+45			+52			+59			+66			+73			+80		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle																		
288376	16	11	27	18	15	33	13	15	28	16	17	33	17	16	33	18	13	31
044249	9	0	9	6	0	6	15	3	18	15	18	33	18	13	31	14	12	26
035750	13	12	25	17	13	30	14	16	30	16	14	30	15	16	31	16	18	34
288363	17	15	32	19	17	36	18	17	35	20	17	37	16	14	30	15	13	28
594533	15	13	28	16	18	34	14	19	33	19	15	34	18	17	35	12	15	27
458668	10	18	28	14	16	30	16	5	21	19	19	38	16	12	28	15	17	32
Média A	13,33	11,50	24,83	15,00	13,17	28,17	15,00	12,50	27,50	17,50	16,67	34,17	16,67	14,67	31,33	15,00	14,67	29,67
DP	3,27	6,16	8,08	4,73	6,68	11,11	1,79	6,75	6,72	2,07	1,86	2,93	1,21	1,97	2,42	2,00	2,42	3,14
Média G	13,00	8,34	23,22	14,17	9,45	24,82	14,92	10,53	26,78	17,40	16,58	34,06	16,63	14,56	31,26	14,89	14,51	29,53
Tratado																		
594568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	12	21	14	0	14
288438	0	0	0	0	0	0	6	4	10	10	4	14	7	6	13	14	16	30
458773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	6	17	13	0	13	12	9	21
288429	0	0	0	3	0	3	10	0	10	8	0	8	19	3	22	10	0	10
104220	0	0	0	1	2	3	6	3	9	0	0	0	11	10	21	12	17	29
595814	0	0	0	0	0	0	5	4	9	9	2	11	15	8	23	16	13	29
Média A	0,00	0,00	0,00	0,67	0,33	1,00	4,50	1,83	6,33	6,33	2,00	8,33	12,33	6,50	18,83	13,00	9,17	22,17
DP	0,00	0,00	0,00	1,21	0,82	1,55	3,89	2,04	4,93	5,01	2,53	7,12	4,32	4,46	4,58	2,10	7,63	8,61
Média G	0,00	0,00	0,00	0,41	0,20	0,59	2,85	1,15	3,79	3,78	1,17	4,55	11,75	4,75	18,34	12,87	4,92	20,59

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.

Anexo L. Valores de pulgas adultas da espécie *Ctenocephalides felis felis* recuperados dos ovos eclodidos, médias e desvios padrões (continuação 2).

Animal / Grupo	Total de pulgas adultas recuperadas dos ovos eclodidos								
	+87			+94			+101		
	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ	R1	R2	Σ
Controle									
288376	20	13	33	18	15	33	18	13	31
044249	17	14	31	19	16	35	16	8	24
035750	16	13	29	17	13	30	20	13	33
288363	11	18	29	16	14	30	16	19	35
594533	19	14	33	18	19	37	13	16	29
458668	16	17	33	17	13	30	14	15	29
Média A	16,50	14,83	31,33	17,50	15,00	32,50	16,17	14,00	30,17
DP	3,15	2,14	1,97	1,05	2,28	3,02	2,56	3,69	3,82
Média G	16,24	14,72	31,28	17,48	14,87	32,39	16,01	13,58	29,96
Tratado									
594568	17	8	25	16	6	22	13	6	19
288438	14	12	26	18	20	38	19	12	31
458773	13	0	13	19	13	32	11	12	23
288429	10	13	23	17	14	31	16	11	27
104220	11	12	23	16	13	29	10	3	13
595814	15	14	29	18	14	32	10	6	16
Média A	13,33	9,83	23,17	17,33	13,33	30,67	13,17	8,33	21,50
DP	2,58	5,23	5,46	1,21	4,46	5,20	3,66	3,83	6,80
Média G	13,14	7,27	22,53	17,30	12,66	30,29	12,80	7,57	20,63

Σ = Somatório; Média A = Média Aritmética; Média G= Média Geométrica; DP = Desvio Padrão.