

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

TESE

**Eficácia e Segurança Clínica Comparativa de Duas
Formulações De Aplicação Tópica Contendo 10% De Fipronil
No Controle de Ectoparasitos Em Cães e Gatos**

Michelle Goldan de Freitas Tancredi

2009



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

**EFICÁCIA E SEGURANÇA CLÍNICA COMPARATIVA DE DUAS
FORMULAÇÕES DE APLICAÇÃO TÓPICA CONTENDO 10% DE
FIPRONIL NO CONTROLE DE ECTOPARASITOS
EM CÃES E GATOS**

MICHELLE GOLDAN DE FREITAS TANCREDI

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, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2009

594.38
T162s
T

Tancredi, Michelle Goldan de Freitas, 1973-

Eficácia e segurança clínica comparativa de duas formulações de aplicação tópica contendo 10% de Fipronil no controle de ectoparasitos em cães e gatos / Michelle Goldan de Freitas

Tancredi – 2009.

ix, 65 f. : il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 58-65

1. Parasitologia veterinária – Teses. 2. Cão – Parasito – Controle - Teses. 3. Gato – Parasito – Controle - Teses. 4. Parasito – Controle – Teses. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

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

MICHELLE GOLDAN DE FREITAS TANCREDI

Tese submetida ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, em 27 de fevereiro de 2009.

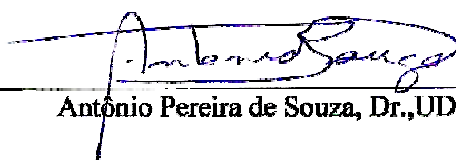
TESE APROVADA EM 27/02/2009.



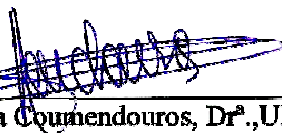
Fabio Barbour Scott, Dr., UFRRJ
(Orientador)



Valdomiro Bellato, Dr., UDESC



Antônio Pereira de Souza, Dr., UDESC



Katherina Coumendouros, Dr^a, UFRRJ



Thaís Ribeiro Correia, Dr^a, UFRRJ

RESUMO

TANCREDI, Michelle Goldan de Freitas. **Eficácia e segurança clínica comparativa de duas formulações de aplicação tópica contendo 10% de fipronil no controle de ectoparasitos em cães e gatos.** Seropédica: UFRRJ, 2009. 65 p. (Tese, Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária), Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Os objetivos do presente estudo foram avaliar: a eficácia e segurança clínica de uma formulação tópica de fipronil a 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* em cães e gatos e *Rhipicephalus sanguineus* em cães; a eficácia residual de uma nova formulação em teste de fipronil em pelo de cães no controle de ovos, larvas e adultos de *C. felis felis*; o efeito da dispersão da formulação teste em pelo de cães tratados sobre adultos de *C. felis felis*; e influência do banho sobre a eficácia pulicida e carrapaticida em cães da nova formulação. Os animais utilizados pertenciam ao Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro ou domiciliados. Pulgas e carrapatos eram provenientes de colônias mantidas no LQEPV. As metodologias foram baseadas em normas ou literatura. A eficácia pulicida em gatos foi: 99,4; 100; 100; 95,1; 86,8 e 70% para os dias +2 +7, +14, +21; +28, +35 e +42, respectivamente. A eficácia carrapaticida em cães foi de 100; 100; 95,4; 90,2; 83,4; 62,6% para os dias +2 +7, +14, +21; +28 e +35, respectivamente. A eficácia pulicida em cães foi: 100; 100; 100; 99,5; 99,8; 91,6% para os dias +2 +7, +14, +21; +28 e +35, respectivamente. Foi constatado que a formulação em teste obteve satisfatórios níveis de eficácia e esperado período residual contra reinfestações. Em relação à influência do banho na atividade pulicida, a eficácia foi de 100% para os dias +3, +7, +14, +21 e +28, e 98,4; 95 e 70,6% para os dias 35, +42 e +49, respectivamente no grupo com banho único. Para o grupo com banho semanal, a eficácia foi de: 98,8; 100; 100; 100; 86,9 e 44,2%, para os dias 3, +7, +14, +21,+28 e +35, respectivamente. A eficácia carrapaticida no grupo com banho único foi de: 99,5; 100; 100; 91,8; 91,6; 70,9 e 63,2% para os dias +3, +7, +14, +21, +28, +35 e +42, respectivamente. No grupo banho semanal as eficácias foram de 100; 100; 99,1; 81,1; 58,9 e 41,3 para os dias +3, +7, +14, +21, +28 e +35, respectivamente. O banho único demonstrou não provocar queda da eficácia do produto. Banhos semanais, apesar de apresentarem eficácia satisfatória, demonstraram menor período residual. Para os experimentos *in vitro* avaliando atividade residual sobre pulgas pode concluir-se que a eficácia: adulticida variou de mediana à alta até dia +14; a larvicida foi irregular, apresentando curta atividade residual; e a ovicida foi elevada, apresentando longo período residual. Nos ensaios *in vitro* avaliando a velocidade de morte a formulação teste foi 100% eficaz em até 16h até o dia +21 e 24h nos dias +28 e +35, demonstrando prolongada atividade residual. Portanto, a formulação teste de aplicação tópica de fipronil 10% alcançou, em geral, satisfatórios níveis de eficácia e atividade residual sobre *C. felis felis* em cães e gatos e *R. sanguineus* em cães, comparáveis à formulação referência existente no mercado, além de apresentar segurança clínica desejada.

Palavras-chave: ectoparasitos, fipronil, pequenos animais

ABSTRACT

TANCREDI, Michelle Goldan de Freitas. **Comparative efficacy and clinical safety of two topical formulations containing 10% fipronil on the control of ectoparasites on dogs and cats.** Seropédica: UFRRJ, 2009. 65 p. (Thesis, Doctor Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

The objectives of the present study were to evaluate the efficacy and clinical safety of a novel topical 10% fipronil on the control of *Ctenocephalides felis felis* on dogs and cats and *Rhipicephalus sanguineus* on dogs; residual efficacy of the fipronil formulation on dog's coat on the control of eggs, larvae and adults of *C. felis felis*; effect of dispersion of the tested formulation on adults of *C. felis felis*; and the influence of bathe on the efficacy of the novel formulation against fleas and ticks on dogs. Utilized animals were belong to the the Laboratory of Experimental Chemotherapy in Veterinary Parasitology (LECV) from the Department of Animal Parasitology of the Institute of Veterinary of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro or domiciliated ones. Fleas and ticks were gathered from colonies maintained in the LECVP. Methodologies were based on guidelines and the literature. Pulicide efficacy on cats was: 99.4; 100; 100; 95.1; 86.8 and 70% on days +2 +7, +14, +21; +28, +35 e +42, respectively. The efficacy against ticks on dogs was: 100; 100; 95.4; 90.2; 83.4 and 62.6% on days +2 +7, +14, +21; +28 e +35, respectively. Pulicide efficacy on dogs was: 100; 100; 100; 99.5; 99.8 and 91.6% on days +2 +7, +14, +21; +28 e +35, respectively. Those essays demonstrated satisfactory efficacy levels obtained by the formulation and expected residual period against reinfestations. Regarding the influence of shampooing on pulicide activity, the efficacy was 100% on days +3, +7, +14, +21 and +28; 98.4; 95 and 70.6% on days +35, +42 e +49, respectively for the group with only one bathe. The weekly shampooing group presented efficacy of 98.8; 100; 100; 100; 86.9 and 44.2% on days +3, +7, +14, +21, +28, +35 and +42, respectively. Efficacy against ticks for the group shampooed once was 99.5; 100; 100; 91.8; 91.6; 70.9 and 63.2% on days +3, +7, +14, +21, +28, +35 and +42, respectively. The weekly shampooing group presented efficacy of 100; 100; 99.1; 81.1; 58.9 e 41.% on days +2 +7, +14, +21; +28 and +35, respectively. Shampooing once did not affect the product's efficacy. Weekly bathes, despite showed satisfactory efficacy, presented shorter residual period. Regarding the *in vitro* trials to evaluate the residual activity against fleas, the following can be concluded: the adulticide efficacy varied from average to high until day +14; larvicide efficacy was irregular and presented short residual activity; efficacy against eggs was high and presented long residual activity. Regarding the *in vitro* essays to evaluate speed of kill the formulation was 100% effective within 16h until day +21 and, 24h on days +28 and +35, demonstrating long residual activity. Therefore, the topical 10% fipronil formulation presented, in general, satisfactory efficacy levels and residual activity on *C. felis felis* on cats and dogs and, *R. sanguineus* on dogs, comparable to the reference formulation found commercially, besides have presented the desirable clinical safety.

Key words: ectoparasites, small animals, fipronil

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos gatos que participaram da avaliação da eficácia comparativa entre duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis*..... 11
- Tabela 2.** Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos cães que participaram da avaliação da eficácia comparativa entre duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*13
- Tabela 3.** Identificação, sexo, peso, volume de produto empregado e grupo dos cães que participaram da avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de duas formulações tópicas de fipronil a 10% sobre *Ctenocephalides felis felis*16
- Tabela 4.** Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos cães que participaram da avaliação da influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil a 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*18
- Tabela 5.** Dados dos cães domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, São João de Meriti e Barra do Piraí, localizados no Estado do Rio de Janeiro, que participaram do ensaio de segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%.....19
- Tabela 6.** Dados dos gatos domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro e Nova Iguaçu, localizados no Estado do Rio de Janeiro, que participaram do ensaio de segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%.....22.
- Tabela 7.** Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em gatos.....24
- Tabela 8.** Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10 % no controle do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* em cães Beagle.....25
- Tabela 9.** Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães Beagle.....27
- Tabela 10.** Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* dois dias após o tratamento.....29
- Tabela 11.** Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* sete dias após o tratamento.....30
- Tabela 12.** Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 14 dias após o tratamento.....31

Tabela 13. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 21 dias após o tratamento.....	32
Tabela 14. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 28 dias após o tratamento.....	33
Tabela 15. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 35 dias após o tratamento.....	35
Tabela 16. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de larvas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 20 dias após cada desafio.....	36
Tabela 17. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico no controle de ovos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 72 horas após cada desafio.....	37
Tabela 18. Avaliação dos cães quanto à presença de resíduo de produto no pelo de cobertura antes do tratamento com duas formulações tópicas de fipronil a 10%	38
Tabela 19. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% de uso tópico no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> um dia após o tratamento.....	39
Tabela 20. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dois dias após o tratamento.....	40
Tabela 21. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> sete dias após o tratamento.....	42
Tabela 22. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 14 dias após o tratamento.....	43
Tabela 23. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 21 dias após o tratamento.....	44
Tabela 24. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> 28 dias após o tratamento.....	45
Tabela 25. Avaliação da dispersão em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com a formulação referência de fipronil a 10% de uso tópico.....	46

Tabela 26. Avaliação da dispersão em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com a formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico.....46

Tabela 27. Influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil 10% de uso tópico no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* em cães.....47

Tabela 28. Influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil 10% de uso tópico no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães.....48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Ectoparasitos de Importância Médico-Veterinária.....	3
2.1.1 Importância de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	3
2.1.2 Importância de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	4
2.2 Controle.....	4
2.2.1 Fenilpirazóis.....	5
2.2.1.1 Fipronil.....	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1 Localização da Experimentação.....	9
3.2 Animais.....	9
3.3 Fármaco.....	9
3.4 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Gatos.....	10
3.5 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	11
3.6 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Cães.....	12
3.7 Avaliação da Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	14
3.7.1 Avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de cães sobre <i>Ctenocephalides felis felis</i>	14
3.7.2 Avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	14
3.8 Avaliação da Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	15
3.9 Avaliação da Segurança Clínica da Formulação Teste de Fipronil 10%.....	17
3.9.1 Cães.....	17
3.9.2 Gatos.....	21
3.10 Cálculo da Eficácia e Análise dos Resultados.....	21
4 RESULTADOS.....	23
4.1 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Gatos.....	23
4.2 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	23
4.3 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Cães.....	26
4.4 Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	28

4.4.1 Eficácia residual em pelo de cobertura de cães sobre <i>Ctenocephalides felis felis</i>	28
4.4.2 Eficácia residual em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com fipronil sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	34
4.5 Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	41
4.6 Segurança Clínica do Uso da Formulação Teste de Fipronil 10%.....	49
4.6.1 Cães.....	49
4.6.2 Gatos.....	49
5 DISCUSSÃO	50
5.1 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Gatos.....	50
5.2 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	51
5.3 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Cães.....	52
5.4 Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	53
5.5 Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em Cães.....	54
5.6 Segurança Clínica do Uso da Formulação Teste de Fipronil 10%.....	56
6 CONCLUSÕES	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 INTRODUÇÃO

O convívio entre o homem e os animais domésticos se torna mais estreito, sendo estes - principalmente cães e gatos - muitas vezes considerados membros da família. O estreitamento desse convívio, no entanto, faz com que seja necessária uma especial atenção à saúde animal, pois são inúmeras as doenças compartilhadas entre estes e os humanos. Grande parte das doenças zoonóticas é transmitida por vetores artrópodes, dentre os quais podemos citar a pulga *Ctenocephalides felis felis* e o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*.

Tais ectoparasitos são considerados os que mais comumente parasitam os cães e, no caso da pulga, gatos, apresentando-se amplamente distribuídos no Brasil, causando danos à saúde animal, que vão desde a ação espoliadora, desconforto e desordens dermatológicas, diretamente causadas por estes, até o fato de atuarem como hospedeiros intermediários ou vetores de diversos patógenos, como helmintos, hemoprotozoários, riquetsias, entre outros.

Neste sentido, medidas de controle são extremamente necessárias para fins de tratamento ou prevenção das infestações por tais ectoparasitos e, conseqüentemente, as doenças por eles veiculadas. Tais medidas compreendem o controle mecânico, como retirada manual e higiene tanto do animal quanto do ambiente em que ele vive; e o controle químico, baseado no uso de compostos parasiticidas. O controle biológico, que vem sendo bastante estudado, e tem se mostrado como ferramenta promissora no controle de artrópodes parasitos de animais de companhia. Especialmente em pequenos animais, os programas de controle de ectoparasitos têm como base a combinação equilibrada de métodos mecânicos, culturais e da aplicação de compostos químicos.

Ao longo dos últimos anos observou-se um grande avanço no desenvolvimento de novos compostos que se prestam ao controle de ectoparasitos de cães e gatos. O mercado exige novos produtos com mais elevados níveis de eficácia, que possuam maior período de proteção contra reinfestações, baixa toxicidade tanto para os animais quanto para o homem e que também não sejam agressivos ao meio ambiente.

Dentre os grupamentos químicos mais empregados atualmente no controle de ectoparasitos em pequenos animais podemos citar os carbamatos, organofosforados, os piretróides, as amidinas, as lactonas macrocíclicas, os neonicotinóides e os fenilpirazóis.

Os fenilpirazóis foram desenvolvidos na década de 80 e introduzidos no mercado em meados dos anos 90 com diversas indicações tanto para uso agrícola como em medicina veterinária. A molécula mais amplamente empregada desta classe no controle de ectoparasitos em animais domésticos é o fipronil. Mais recentemente, o piriprole também vem sendo utilizado no controle de ectoparasitos de cães e gatos.

O fipronil vem demonstrando satisfatórios níveis de eficácia e um longo período de proteção contra reinfestações não só contra pulgas e carrapatos, mas também ácaros causadores de sarnas, ácaros pilícolas e piolhos. Além disso, tal droga se mostra resistente a banhos, a utilização de xampus e também não sofre alteração pela exposição à luz solar. Estudos demonstram ainda um desejável efeito “knock down” sobre o ectoparasito o que ajuda na prevenção de doenças por eles transmitidas. Os pelos e debris que caem dos animais tratados também podem auxiliar no controle das formas imaturas no ambiente, principalmente no que se refere à pulgas.

O fipronil foi desenvolvido pela Rhone-Poulenc e durante anos foi comercializado pela Merial em todo o mundo na forma de produtos veterinários para usos em cães, gatos e bovinos. A abertura do mercado em relação a este fármaco possibilitou que outras empresas farmacêuticas desenvolvessem diferentes formulações, com mecanismos de dispersão diferenciados e que possibilitem melhorias na ação ectoparasiticida do fipronil, a partir de

novas formulações. Este fato possibilitará um maior oferecimento de formulações diferenciadas para o mercado veterinário aumentando, assim, as possibilidades de utilização.

Desta forma, os objetivos do presente estudo foram:

1. Avaliar a eficácia e segurança clínica comparativa de duas formulações de aplicação tópica à base de fipronil a 10% no controle da pulga *C. felis felis* em cães e gatos e do carrapato *R. sanguineus* em cães;
2. Avaliar a eficácia residual de nova formulação de fipronil em pelo de cobertura de cães no controle de ovos, larvas e adultos de *C. felis felis*;
3. Avaliar a dispersão da formulação teste em pelo de cobertura de cães tratados;
4. Avaliar a influência do banho sobre a eficácia pulicida e carrapaticida em cães de nova formulação de fipronil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ectoparasitos de Importância Médico-Veterinária

O Filo Arthropoda é composto por inúmeras espécies de insetos (Classe Insecta, Ordem Hexapoda) e aracnídeos, como ácaros e carrapatos (Classe Arachnida, Ordem Acari) que são ectoparasitos de animais domésticos. Infestações nos animais podem causar intensa irritação acarretando danos à condição geral destes, como perda de peso e danos à pelagem. Em muitos casos, tais artrópodes são responsáveis pela transmissão de doenças ou ainda funcionam como vetores de diversos patógenos aos animais e ao homem. Dentre os ectoparasitos mais comuns, de mais ampla distribuição geográfica e que comprovadamente atuam como causadores ou transmissores de uma diversidade de enfermidades estão a pulga *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) e o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) (TAYLOR, 2001).

2.1.1 Importância de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas são ectoparasitos comumente observados em cães e gatos em todo o mundo e a espécie mais encontrada nestes animais, em algumas regiões, é *Ctenocephalides felis*, vulgarmente denominada “pulga do gato”, no entanto, sua baixa especificidade por hospedeiro leva ao parasitismo de diversas outras espécies animais, inclusive o homem. Apenas a subespécie *C. felis felis* tem sua ocorrência relatada no continente americano (DRYDEN, 1993).

Durante o ciclo biológico de *C. felis felis*, somente os adultos permanecem sobre o hospedeiro e as formas imaturas desenvolvem-se no ambiente, estando mais expostas a fatores abióticos como temperatura e umidade relativa do ar, que podem influenciar no tempo de desenvolvimento do ciclo e sobrevivência de cada estágio (DRYDEN, 1993). Segundo Linardi e Guimarães (2000) encontram-se no ambiente 95% dos indivíduos da população de pulgas, enquanto apenas 5% estão sobre o hospedeiro.

Estes insetos são hematófagos na sua fase adulta e, além de causarem danos devido à injúria provocada pela picada e espoliação sanguínea durante a alimentação, são potenciais transmissores de agentes patogênicos causadores de doenças ao homem e aos animais. Este fato é ainda mais relevante quando se associa que os cães e gatos são animais de companhia que estabeleceram um estreito convívio com o homem, freqüentando o domicílio ou o peridomicílio (DRYDEN, 1993).

Infestações moderadas a grave determinam grande incômodo e prurido, assim como a dermatite alérgica à picada de pulgas (MEHLHORN et al., 2001; RUST, 2005).

Tal parasito também atua como hospedeiro intermediário de helmintos como o cestóide *Dipylidium caninum* podendo infectar tanto animais, como cães e gatos, como humanos (KRÄMER; MENCKE, 2001) e *Dipetalonema reconditum* (KORKEJIAN; EDESON, 1978).

Diversos estudos vêm sendo realizados quanto à transmissão de riquetsias por pulgas desta espécie. Azad et al. (1997), nos Estados Unidos, relataram a veiculação de *Rickettsia typhi* e *R. felis*, ambas de considerável importância em saúde coletiva. Já, Rolain et al. (2003), na França, detectaram molecularmente outras bactérias, como *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae* além da já mencionada *R. felis*. No Brasil, alguns

pesquisadores detectaram *R. felis* em populações provenientes dos Estados de Minas Gerais e São Paulo (OLIVEIRA et al., 2002; HORTA et al., 2005). Recentemente, Pérez-Osorio et al. (2008) e Gilles et al. (2008) incriminam *C. f. felis* como principal reservatório e vetor de *R. felis*

Adicionalmente, estudos vêm sendo realizados quanto à investigação sobre o papel de *C. felis felis* na transmissão do vírus da leucemia felina (VOBIS et al., 2003) e de *Leishmania chagasi*, agente etiológico da leishmaniose visceral canina (COUTINHO; LINARDI, 2007).

Devido a sua relevante importância médico-veterinária e seu crescente papel em saúde pública, *C. felis felis* tem sido alvo de numerosos estudos relacionados à biologia, controle, transmissão de patógenos aos animais domésticos e ao homem. No que tange ao controle, grande enfoque vem sendo dado ao estudo dos fatores que interferem no ciclo biológico desta espécie e aos estudos relacionados à ação dos compostos químicos utilizados no controle destes parasitos (DRYDEN; PRESTWOOD, 1993; RUST, 2005; OTRANTO; WALL, 2008).

2.1.2 Importância de *Rhipicephalus sanguineus*

O carrapato vermelho do cão, também conhecido como carrapato dos canis, *R. sanguineus* é a espécie de mais ampla distribuição geográfica nas regiões tropicais e subtropicais. Acredita-se que tenha sido introduzido no Brasil durante a colonização européia, trazido da África Tropical (DANTAS-TORRES; FIGUEIREDO, 2006). Inicialmente, sua distribuição no território brasileiro era restrita (ARAGÃO, 1911). No entanto, ao longo dos anos, pode-se considerar que está presente em todo o território nacional (ARAGÃO; FONSECA, 1961; RIBEIRO et al., 1996). É encontrado em ambientes rurais e urbanos, é incriminado por causar diversos problemas nos animais seja de forma direta (espoliação sanguínea) ou, indiretamente, por atuar na transmissão de diversos agentes patogênicos (LABRUNA; PEREIRA, 2001).

Dentre os patógenos de importância médico-veterinária podemos citar hemoparasitos como: *Babesia canis* e *B. gibsoni* (DANTAS-TORRES; FIGUEIREDO, 2006), *Ehrlichia* sp. (DAVOUST et al., 2003; OTRANTO et al., 2008) e *L. chagasi* (COUTINHO et al., 2005). Apesar de sua baixa antropofilia, quando comparado aos outros ixodídeos, o papel de *R. sanguineus* na transmissão de patógenos para o homem é bem documentada (PALMAS et al., 2001). Diversas riquéstias são vetoriadas por tal carrapato, infectando animais e o homem, como *R. rickettsi* e *Bartonella henselae* (WIKSWO et al., 2007; DANTAS-TORRES, 2008) e *R. conorii* (MATSUMOTO et al., 2005).

Devido sua expressiva relevância em medicina veterinária e saúde pública são constantes os trabalhos relativos ao controle deste ixodídeo, seja através de novas práticas de manejo, emprego de agentes biológicos e, especialmente, quimioterápicos (SCOTT et al., 2001; DANTAS-TORRES, 2008).

2.2 Controle de Ectoparasitos de Animais de Companhia

Os animais de companhia vêm a cada dia conquistando um maior espaço nos lares e nas vidas da população mundial. E embora esses animais se estendam a aves, peixes, coelhos, furões, répteis e outros, os cães e gatos ainda são os preferidos. Paralelamente a esta crescente ocupação observa-se o desenvolvimento do mercado de pequenos animais. Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Sanidade Animal, no ano de 2004 os

animais de companhia ocupavam 9,3% do mercado veterinário, movimentando mais de 190 milhões de reais somente em nosso país (SINDAN, 2005).

Grande parte dos valores manejados no mercado veterinário é relacionada aos medicamentos desenvolvidos e comercializados, devendo-se destacar os ectoparasiticidas, que são responsáveis por 13,5% das classes terapêuticas disponíveis, só perdendo para os produtos biológicos e antimicrobianos (SINDAN, 2005).

Os programas de controle de ectoparasitos em pequenos animais têm como base a combinação equilibrada de métodos mecânicos, culturais e de métodos de aplicação de compostos químicos (DRYDEN, 1995; SCOTT et al., 2004).

A diversidade de estruturas, atividades biológicas e toxicidades dentre os ectoparasiticidas só é superada pelo número e variedade de espécies de ectoparasitos que se tenta controlar (LYNN, 2003). Ao longo dos últimos anos observou-se um grande avanço no desenvolvimento de novos compostos que se prestam ao controle de ectoparasitos de cães e gatos (SMITH, 1995; TAYLOR, 2001; OTRANTO; WALL, 2008). Diversos agentes antiparasitários têm sido colocados no mercado para tratar ou prevenir infestações em animais de companhia, sempre se buscando baixa toxicidade para animais e proprietários e baixo impacto ambiental, no que se refere à ação de resíduos de tais compostos. Alguns grupos anteriormente empregados eram tão deletérios ao ambiente e a vida animal que tiveram seu uso vetado, pois a consciência ambiental também atinge a comercialização de um produto (SCOTT et al., 2001). Novos compostos foram especificamente planejados para aproveitar as diferenças fisiológicas entre insetos e mamíferos e a partir daí se obter melhores eficácias e maior segurança (HOVDA; HOOSER, 2002). Atualmente, os métodos de controle químico mais corriqueiramente utilizados, e que merecem maior destaque, incluem o emprego dos reguladores de crescimento dos insetos e de substâncias adulticidas com prolongado poder residual (SMITH, 1995).

Os compostos químicos usados no controle de ectoparasitos agem sistemicamente, a partir da absorção pelo organismo do hospedeiro, ou por contato direto com os parasitos a partir de aplicação externa. Praticamente todos os ectoparasiticidas são neurotoxinas manifestando, desta forma, seus efeitos no sistema nervoso dos ectoparasitos. Os compostos de atividade sistêmica podem ser aplicados via parenteral (subcutâneo ou intramuscular), oral, ou aplicados topicamente sobre a pele, por onde o princípio ativo é absorvido percutaneamente e levado a circulação sanguínea. Os compostos aplicados topicamente, em geral, têm um efeito direto no parasito alvo (TAYLOR, 2001).

Devido a essas diferenças em farmacocinética, modos de aplicação e mecanismos de ação, distintas formulações de drogas podem ser indicadas para diferentes ectoparasitos (TAYLOR, 2001). Atualmente são vários os grupamentos químicos disponíveis para o controle de ectoparasitos em cães e gatos, dentre eles destacam-se os piretróides, organofosforados, carbamatos, amidinas, macrolídeos, neonicotinóides e os fenilpirazóis.

2.2.1 Fenilpirazóis

Os fenilpirazóis foram desenvolvidos na década de 80 e introduzidos no mercado nos meados dos anos 90 com diversas indicações tanto para uso agrícola como em medicina veterinária (TANNER et al., 1997; CHANDLER et al., 2004). A mais amplamente empregada molécula de tal classe no controle ectoparasitário em animais domésticos é o fipronil (SCOTT et al., 2004). Mais recentemente, um novo composto deste grupamento, o piriprole, também vem sendo utilizado no controle de ectoparasitos de cães e gatos (BARNETT et al., 2008; SCHUELE et al., 2008).

2.2.1.1 Fipronil

O mecanismo de ação do fipronil ocorre pelo antagonismo do receptor GABA (ácido γ -aminobutírico), onde se ligam, bloqueando os canais de cloro (RAUGH et al., 1990; POSTAL et al., 1995). Assim, interferindo na neuromodulação dos insetos, levando o parasito à morte por hiperexcitação (TANNER et al., 1997; SCOTT et al., 2002).

A distribuição do fipronil através da epiderme e das unidades pilosebáceas permite seu armazenamento nas glândulas sebáceas e sua gradual liberação via ductos foliculares (MEO et al., 1996). Em estudos realizados para avaliação da distribuição de fipronil na pele após aplicação “spot on” foi demonstrado que a droga é amplamente distribuída no estrato córneo, epiderme e unidades pilosebáceas, mas não na derme e hipoderme. Nas unidades pilosebáceas se localiza preferencialmente nas glândulas sebáceas e ao redor dos pelos, sendo liberado lentamente pelos ductos foliculares. A migração do fipronil é atribuída a um processo chamado translocação, que consiste numa difusão passiva através das secreções sebáceas presentes nos pelos e na pele (TANNER et al., 1997). Essa particularidade do fipronil garante, independentemente da formulação escolhida, sua persistência em altas concentrações na cobertura pilosa de cães e de gatos (MEO et al., 1996). Portanto tal droga se mostra resistente a lavagens da pele e a utilização de xampus, consistindo numa boa indicação para animais que nadam ou precisam de banhos freqüentes e, também não sofre alteração pela exposição à luz solar (GORTTEL, 1997; TANNER et al., 1997; CUNNINGHAM; RYAN, 1999). Mas como a maior parte dos produtos que são aplicados em uma pequena área, este deve primeiro ser translocado por todo o corpo do animal, antes que os parasitos tenham contato com o princípio ativo em concentrações suficientes para ser completamente eficaz. Este processo leva em torno de 24 horas, mas pode se prolongar caso o animal tenha uma pele muito seca, tiver sido banhado recentemente ou estiver com movimentação limitada. A formulação “spray” elimina os parasitos em até 48 horas.

Os pelos dos animais tratados, ao caírem no ambiente, exercem também significativo controle sobre as formas imaturas (HUNTER et al., 1996). Ao exercer seu efeito adulticida por contato, o fipronil possibilita que muitas pulgas sejam mortas até mesmo antes de realizarem seu primeiro repasto sangüíneo (TANNER et al., 1997), uma importante consideração para aqueles animais com dermatite alérgica a picada de pulgas (CURTIS, 1999). Também neste sentido, seu emprego no controle de *R. sanguineus* pode ser considerado uma medida preventiva para erliquiose canina (DAVOUST et al., 2003; OTRANTO et al., 2008), ou para outras enfermidades nas quais este carrapato atua como vetor ou hospedeiro.

O fipronil possui uma ampla margem de segurança em virtude da diferença estrutural do receptor GABA dos invertebrados e dos vertebrados, apresentando especificidade bem maior pelos canais de cloro dos insetos, sendo bem mais tóxicos para estes parasitos (PAYNE et al., 2001; HOVDA; HOOSER, 2002). Isto justifica sua segurança em vertebrados e sua aprovação para cadelas e gatas gestantes ou em lactação e, em filhotes a partir de dois dias de idade, na forma de spray. A formulação “top spot” não deve ser utilizada em filhotes de gatos com menos de três meses de idade e cães com menos de um quilo de peso (ANDRADE; SANTARÉM, 2002).

Apresenta baixa toxicidade após administrações dérmica, oral ou após inalação. Pode causar leve irritação na pele e olhos. É sugerido que uma significativa e prolongada exposição oral cause alterações no sistema nervoso, rins e tireóide (HOVDA; HOOSER, 2002). Dryden et al. (2000) e Jacobs et al. (2001) demonstraram através de ensaios controlados e clínicos os altos níveis de eficácia e segurança do fipronil no controle de pulgas *C. felis felis*.

O fipronil é usado mundialmente para tratamento e controle de infestações por pulgas *C. felis felis*. Estudos avaliando diversos parâmetros como eficácia adulticida, atividade

residual, influência do banho sobre a eficácia adulticida, entre outros. Em um estudo realizado para observar a velocidade de atuação de alguns compostos contra pulgas, foi demonstrado que o fipronil “top spot” 10% apresentou eficácia de 24,3 e 62,2% nos intervalos de três e oito horas após o tratamento em gatos e 35,9 e 46,5% em cães, respectivamente (SCHENKER et al., 2003).

A formulação “top spot” de fipronil a 10%, aplicado na dose recomendada pelo fabricante, foi eficaz em 100% dos gatos avaliados durante 84 dias após o tratamento e, em cães por 35 e 45 dias, sendo ainda demonstrado que banho com xampu não inseticida imediatamente antes do tratamento não afetou a eficácia contra pulgas (HUTCHINSON et al., 1998; CUNNINGHAM; RYAN, 1999; CADIERGUES et al., 2001). Esta mesma formulação foi testada por Dryden et al. (2000) em cães e gatos domiciliados que receberam três aplicações com intervalos mensais, obtendo satisfatórios níveis de eficácia ao longo do período experimental. Medleau et al. (2002) também utilizaram este mesmo protocolo de tratamento em gatos e obtiveram eficácia de 75, 73, 85 e 94% nos dias +14, +30, +60 e +90, respectivamente.

Franc e Yao (2007) avaliaram a eficácia comparativa da mesma formulação de fipronil frente à selamectina e ao imidacloprid, no controle de *C. felis felis* e *C. felis strongylus* em gatos, obtendo com o fipronil, 100% de eficácia para ambas as subespécies por até 37 dias após o tratamento.

Postal et al. (1995) empregaram uma formulação “spray” à base de fipronil a 0,25% no controle de pulgas em cães e gatos na dose de 3 ml/kg, correspondendo a 0,75 mg/kg e dois meses após o tratamento observaram eficácia de 61% no controle de pulgas. Em gatos esta formulação foi utilizada na dose de 7,5 mg/kg, sendo observada eficácia de 100, 73 e 91%, duas, quatro e oito semanas após o tratamento, respectivamente. Os autores ainda comentam que tais variações na eficácia provavelmente ocorreram, devido ao fato de que o fipronil mata as pulgas rapidamente, antes que façam oviposição, afetando o ciclo do parasito. Mais uma vez esta formulação foi aplicada em gatos na dose de 5 a 6 ml/kg, o que equivale a 1,25 a 1,5 mg/kg e demonstrou eficácia maior que 99,5% (PAYNE et al., 2001).

Young et al. (2004) avaliaram a eficácia adulticida da formulação referência e de um associação de fipronil com o regulador de crescimento de insetos S- metoprene (IGR) no controle de *C. felis felis* em cães obtendo para ambos os tratamentos eficácias bastante próximas a 100% até a quinta semana pós tratamento.

Diversos estudos avaliaram a eficácia de diferentes formulações contendo fipronil no tratamento da infestação por *R. sanguineus*. Muitos destes trabalhos realizaram ensaios de eficácia comparativa, confrontando os resultados de diferentes drogas.

Genchi et al. (1995) utilizaram o fipronil através de uma formulação “spray”, no controle de *R. sanguineus*, em cães naturalmente infestados, encontraram para os dias +30, +60 e +80, eficácia de 96, 95 e 100%, respectivamente. Já Hellmann et al. (2003) empregaram a formulação referência de fipronil, comparando com a associação do imidacloprid 10% e permetrina 50%, no controle de cães naturalmente infestados com os carrapatos *R. sanguineus* e *Ixodes ricinus*. O fipronil apresentou eficácia de 80, 90, 92, 88 e 87% no controle de *R. sanguineus* para os dias +2, +7, +14, +21 e +28 respectivamente.

Young et al. (2003) utilizaram o fipronil 9,8% associado ao metoprene 8,8% e ainda o imidacloprid 8,8% associado à permetrina 44%, ambos em uma formulação “spot-on”, para avaliar a capacidade de repelência dos produtos, bem como sua capacidade adulticida, no controle de *R. sanguineus*, em infestações artificiais. A capacidade de repelir os carrapatos foi sempre maior no grupo onde foi empregada a associação da permetrina com o imidacloprid. O fipronil associado ao metoprene obteve eficácia de 25,9% no dia +3 e 56,8% no o dia +7. Nos dias subseqüentes, os animais tratados com fipronil tinham mais carrapatos fixados do que o próprio grupo controle.

Cruthers et al. (2001) avaliaram a velocidade com que o fipronil “top spot” 10% (Frontline® TopSpot) age sobre carrapatos e observaram 100% de letalidade dos parasitos entre 24 e 48 horas após a aplicação em cães. O fipronil a 10% associado ao inibidor de crescimento metoprene na formulação “top spot” foi utilizado em cães infestados artificialmente com larvas de carrapatos e, foi verificada uma eficácia média de 99% (PEREZ-TORT et al., 2002). Esta mesma associação foi aplicada duas vezes, com intervalo de 28 dias, em cães naturalmente infestados por *R. sanguineus* e ao final de 56 dias de observação a eficácia contra as formas adultas do parasito foi 99,81% e, contra as formas imaturas 81,26% (OTRANTO et al., 2005).

Davoust et al. (2003) trataram um grande número de animais com Frontline® TopSpot por um ano e não observaram infestações por carrapatos durante todo o período de observação. (YOUNG et al., 2003; ESTRADA-PEÑA, 2005; OTRANTO et al., 2008).

Mc Call et al. (2004) empregaram uma formulação “top spot” contendo a já referida associação do fipronil com o IGR metoprene para o controle de *R. sanguineus* em cães atingindo eficácias de 98,6 e 91,1% nos dias + 21 e + 28, respectivamente.

Já Dryden et al. (2006) , empregando a mesma combinação, avaliaram a eficácia carrapaticida do produto atingindo nos dias três, sete, 14, 21 e 28 pós-tratamento uma eficácia de 100%, 100%, 100%, 91,9%, e 86,3%, respectivamente, realizando avaliações 48 horas após as infestações. Adicionalmente avaliaram a repelência e a prevenção contra fixação por carrapatos desta formulação não obtendo, porém, resultados satisfatórios.

Em outro estudo em que foram utilizadas as formulações spray 0,25% (Frontline® spray) e “top spot” 10% (Frontline® TopSpot) nas doses de 6 e 6,7 mg/kg, foi obtida eficácia média de 71,3 e 79,6% contra carrapatos *R. sanguineus*, respectivamente, ao longo de 17 dias de observação (FERNANDES, 2005).

O fipronil também é empregado no controle de outros ectoparasitos de cães e gatos.

Para o controle de *Sarcoptes scabiei*, agente etiológico da sarna sarcóptica, o fipronil quando empregado em uma formulação spray apresenta bons níveis de eficácia terapêutica (CURTIS, 1996; BORDEAU, 1998; ITOH; MURAOKA, 2000; BORDEAU; HUBERT, 2000; ANDRADE et al., 2005).

O fipronil quando aplicado diretamente no conduto auditivo de cães e gatos é eficaz no tratamento da sarna otodécica (VINCENZI; GENCHI, 2000; ITOH; ITOH, 2001; CURTIS, 2004; SOUZA et al., 2004).

Também é empregado no controle de infestações por ácaros trombiculídeos da espécie *Trombicula autumnalis* em cães e gatos (NUTALL et al., 1998), no tratamento da queiletielose (*Cheyletiella* spp.) em pequenos animais (CHADWICK, 1997; CURTIS, 2004; SCARAMPELLA et al., 2005) e no tratamento da linxacariose em gatos (LE MOS et al., 2003; CLARE et al., 2004).

É eficaz no controle do piolho parasito de cães *Trichodectes canis* (COOPER; PENALIGGON, 1996; POLLMEIER et al., 2002) e do piolho parasito de gatos *Felicola subrostratus* (POLLMEIER et al., 2004).

Apesar da alta segurança da droga para emprego em mamíferos, Jennings et al. (2002) observaram que os resíduos de fipronil são transferíveis aos homens, pelo contato com o resíduo do produto que permanece por tempo prolongado no pelo de cobertura do animal ou através da contaminação de fômites, como luvas e outros utensílios. Tal exposição, se ocorrer repetidamente, pode representar risco à saúde humana, especialmente de proprietários e pessoal que trabalha em veterinária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização da Experimentação

Os testes controlados de eficácia foram realizados nas dependências 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.

Os testes de segurança clínica foram realizados em animais domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, Barra do Piraí e São João de Meriti, localizados no Estado do Rio de Janeiro.

3.2 Animais

Nos ensaios controlados de eficácia foram empregados cães da raça Beagle, com idade variando entre seis meses a seis anos, machos e fêmeas, com peso variando entre nove e 16 quilos que pertenciam ao Canil Experimental do LQEPV. Os animais ficaram alojados dentro das gaiolas de ferro zincado (altura 0,7 m; largura 0,7 m; comprimento 1,20 m) suspensas do solo por um período de 48 horas, correspondente ao tempo entre a infestação com os parasitos e a leitura (retirada). Estas gaiolas estavam alocadas em abrigos de alvenaria. No restante do período experimental os animais permaneceram em canis de terra e grama, contendo um abrigo de alvenaria com oito metros quadrados. Animais do mesmo grupo permaneceram em um mesmo canil sem contato com animais de diferentes os grupos.

Os gatos empregados no estudo de eficácia são pertencentes ao gatil do mesmo laboratório que foram mantidos em gaiolas, como as dos cães, durante todo o período experimental.

Os cães e gatos empregados nas provas de segurança pertenciam a domicílios localizados nos municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu e São João de Meriti e Barra do Piraí (cães apenas), todos no Estado do Rio de Janeiro. Tanto os cães como os gatos pertenciam a diferentes raças ou não possuíam raça definida, tinham diversas idades, eram machos ou fêmeas, e foram manejados de acordo com necessidades e orientações de seus proprietários.

3.3 Fármaco

O fármaco utilizado foi o fipronil na concentração de 10% na forma de apresentação de pipeta. Esta foi denominada de formulação teste¹. Para efeito de comparação foi utilizada uma formulação referência². A dosagem empregada foi a recomendada pelos fabricantes das duas formulações:

1. uma pipeta de 0,67 ml para cães com até 10 kg de peso corporal;
2. uma pipeta de 1,34 ml para cães com peso entre 10,1 e 20 kg;
3. uma pipeta de 2,68 ml para cães com peso entre 20,1 e 40 kg;

¹ Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda.)

² Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal)

4. uma pipeta de 4,02 ml para cães com mais de 40 kg;
5. uma pipeta de 0,5 ml para gatos.

3.4 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Gatos

Todos os gatos foram alojados individualmente em gaiolas suspensas sete dias antes do início dos ensaios (dia -7). Nesta data foram infestados com 50 pulgas machos e 50 fêmeas, adultos não alimentados de pulgas da subespécie *C. f. felis* com 14 dias de idade oriundos da colônia mantida no LQEPV. Após 48 horas da infestação todos os animais foram penteados (“comb counting test”) e as pulgas retiradas foram quantificadas. Baseado nesta contagem preliminar foi elaborada uma lista decrescente com as contagens de parasitos. Efetuou-se um sorteio de cada animal do mais parasitado para o menos parasitado, até que se completassem as seis repetições distribuídas em três grupos. Posteriormente foi realizado o sorteio dos grupos referente aos tratamentos, sendo os animais dispostos nos seguintes grupos:

- **Grupo Controle:** Seis gatos artificialmente infestados, não receberam nenhum tratamento;
- **Grupo Formulação Referência:** Seis gatos artificialmente infestados foram tratados com a formulação referência de fipronil;
- **Grupo Formulação Tteste:** Seis gatos artificialmente infestados foram tratados com a formulação teste de fipronil.

Ao dia 0 os animais dos grupos tratados receberam formulações referência ou teste de fipronil.

Os dados dos animais e volume da formulação empregada podem ser observados na Tabela 1. Cada gato foi infestado com 100 pulgas adultas não-alimentadas (50 de cada sexo) oriundas da colônia supracitada. Os animais foram infestados nos dias -2, +5, +12, +19, +26, +33 e +40. Os gatos foram avaliados nos dias + 2, +7, +14, +21, +28, + 35 e +42, com o auxílio de um pente próprio para retirada de pulgas³, com aproximadamente 13 dentes por centímetro. As pulgas recuperadas foram quantificadas e fixadas em álcool 70°GL. A metodologia empregada em todos os estudos de eficácia controlada em cães e gatos para pulgas adultas e carrapatos foi a preconizada por Marchiondo et al. (2007).

³ Pente de aço para retirada de pulgas – Pet Quality

Tabela 1. Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos gatos que participaram da avaliação da eficácia comparativa entre duas formulações tópicas de fipronil a 10 % no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

Grupo/Animal	Peso (kg)	Sexo	Volume empregado (ml)
Controle			
1 C	2,0	F	-
2 C	2,0	M	-
3 C	3,0	M	-
4 C	3,0	F	-
5 C	3,0	F	-
6 C	3,0	F	-
Formulação referência¹			
1 B	2,0	M	0,5
2 B	3,0	F	0,5
3 B	4,0	F	0,5
4 B	3,0	F	0,5
5 B	4,0	F	0,5
6 B	3,0	M	0,5
Formulação teste²			
1 A	3,0	F	0,5
2 A	4,0	M	0,5
3 A	4,0	F	0,5
4 A	2,0	M	0,5
5 A	2,0	F	0,5
6 A	3,0	F	0,5

¹Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda)

3.5 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

Todos os animais foram alojados individualmente em gaiolas suspensas sete dias antes do início dos ensaios (dia -7). Nesta data foram infestados com 25 casais adultos não alimentados de carrapatos da espécie *R. sanguineus* com 21 dias de idade oriundos da colônia supracitada. Após 48 horas da infestação todos os animais foram penteados (“comb counting test”) e os carrapatos retirados foram quantificados. Baseado nesta contagem preliminar foi elaborada uma lista decrescente com as contagens de parasitos. Efetuou-se um sorteio de cada animal do mais parasitado para o menos parasitado, alocando-se sete animais em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completassem as seis repetições distribuídas em três grupos, posteriormente foi realizado o sorteio dos grupos referente aos tratamentos. Os animais ficaram dispostos nos seguintes grupos:

- **Grupo Controle:** Sete cães artificialmente infestados, não receberam nenhum tratamento;
- **Grupo Formulação referência:** Sete cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação referência de fipronil;

- **Grupo Formulação teste:** Sete cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação teste de fipronil.

Os animais receberam tratamento ao dia 0. Os dados dos animais referentes ao peso, sexo e volume da formulação empregada podem ser observados na Tabela 2. Cada animal foi infestado com 25 casais de carrapatos adultos não-alimentados oriundos da colônia do LQEPV. A infestação dos animais foi efetuada nos dias -2, +5, +12, +19, +26 e +33. Os cães foram avaliados, nos dias + 2, +7, +14, +21, +28 e + 35, os animais com o auxílio de um pente próprio para retirada de pulgas, com aproximadamente 13 dentes por centímetro. Os carrapatos recuperados foram quantificados e fixados em álcool 70°GL.

3.6 Avaliação da Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Cães

Todos os animais foram alojados individualmente em gaiolas suspensas sete dias antes do início dos ensaios (dia -7). Nesta data foram infestados com 50 pulgas machos e 50 fêmeas, adultos não alimentados de pulgas da espécie *C. felis felis* com 14 dias de idade oriundos da colônia supracitada. Após 48 horas da infestação todos os animais foram penteados (“comb test”) sendo as pulgas retiradas quantificadas. Baseado nesta contagem preliminar foi elaborada uma lista decrescente com as contagens de parasitos. Efetuou-se um sorteio de cada animal do mais parasitado para o menos parasitado, alocando-se sete animais em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completassem as sete repetições distribuídas em três grupos, posteriormente foi realizado o sorteio dos grupos referente aos tratamentos. No dia 0, foi efetuado o tratamento e os animais ficaram dispostos nos seguintes grupos:

- **Grupo Controle:** Sete cães artificialmente infestados, não receberam nenhum tratamento;
- **Grupo Formulação Referência:** Sete cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação referência de fipronil;
- **Grupo Formulação Teste:** Sete cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação teste de fipronil.

Os dados dos animais e do volume da formulação empregada podem ser observados na Tabela 2. Cada animal foi infestado com 100 pulgas adultas não-alimentadas, ambos oriundos de colônia supracitada. Os dias de infestação foram os seguintes: -2, +5, +12, +19, +26 e +33. Quarenta e oito horas após cada infestação, nos dias + 2, +7, +14, +21, +28 e + 35, os animais foram avaliados com o auxílio de um pente próprio para retirada de pulgas, com aproximadamente 13 dentes por centímetro. As pulgas recuperadas foram quantificadas e fixados em álcool 70°GL.

Tabela 2. Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos cães que participaram da avaliação da eficácia comparativa entre duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*.

Grupo/Animal	Sexo	Peso (kg)	Volume empregado (ml)
Controle			
281410	F	11,5	-
288678	F	9,5	-
261090	F	9,5	-
273377	F	13	-
279853	F	12	-
266524	F	10	-
288786	M	12	-
Formulação referência¹			
278555	F	11	1,34
272759	F	12	1,34
250851	F	11	1,34
269385	F	10	1,34
250823	F	5	0,67
300020	F	10	0,67
291310	M	11	
Formulação teste²			
292310	F	10	0,67
279594	F	11	1,34
264877	F	8	0,67
296689	F	10	0,67
288678	F	9	0,67
260688	F	12	1,34
290901	M	11	1,34

¹Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda).

3.7 Avaliação da Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis*

3.7.1 Avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de cães sobre *Ctenocephalides felis felis*

Foi seguida a metodologia proposta por Correia et al. (2008). Dois cães foram utilizados nesta etapa, um mantido como controle (sem tratamento) e um tratado com a formulação teste de fipronil, conforme a recomendação do fabricante. Após o tratamento, os animais foram submetidos à tricotomia em regiões distintas do corpo (pescoço, dorso, base da cauda, lados direito e esquerdo).

Os pelos tricotomizados das diferentes regiões foram homogenizados e acondicionados em placas de Petri descartáveis, devidamente identificadas com o dia de desafio, identificação do animal e grupo ao qual pertencia. Para cada grupo foram utilizadas seis repetições com 0,02 gramas de pelo e 10 exemplares de cada estágio evolutivo (adulto, ovo ou larva) de pulgas oriundos da colônia supracitada.

Para avaliação da eficácia sobre adultos de pulga, dez adultos não alimentados de pulga juntamente com 0,02 gramas de pelo foram acondicionados em tubo de ensaio. Os desafios foram realizados nos dias +2, +7, +14, +21, +28 e +35. O material foi avaliado nos tempos de dez minutos, 30 minutos, duas horas, oito horas, 16 horas e 24 horas, após o início do desafio. O critério utilizado foi a motilidade, ou seja, as pulgas que apresentassem movimentação foram consideradas vivas. Foi registrado o número de pulgas vivas nos diferentes tempos de avaliação.

Para avaliação da eficácia sobre ovos de pulga, dez ovos foram incubados com meio grama de uma dieta para manutenção da larva (CORREIA et al., 2003) e com 0,02 gramas de pelo acondicionados em tubo de ensaio. Os desafios foram realizados nos dias +2, +7, +14, +21 e +28. Os tubos foram acondicionados em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio em temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e $75 \pm 10\%$ de umidade relativa. O material foi avaliado 72 horas após cada dia de desafio, quanto à presença de larvas.

Para avaliação da eficácia sobre larvas de pulga, dez larvas foram incubadas com meio grama de uma dieta para manutenção da larva (CORREIA et al., 2003) e com 0,02 gramas de pelo acondicionados em tubo de ensaio. Os desafios foram realizados nos dias +2, +7, +14, +21 e +28. Os tubos foram acondicionados em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio em temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e $75 \pm 10\%$ de umidade relativa. O material foi avaliado 20 dias após cada dia de desafio, quanto à presença de adultos.

3.7.2 Avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Foi seguida a metodologia descrita anteriormente proposta por Correia et al. (2008). Vinte e quatro cães foram utilizados nesta etapa. Antes e após o tratamento, os animais foram submetidos à tricotomia em regiões distintas do corpo (pescoço, dorso, base da cauda, lados direito e esquerdo). Os pelos tricotomizados de cada região foram acondicionados em placas de Petri descartáveis, devidamente identificadas com o local tricotomizado, dia de desafio, identificação do animal e grupo ao qual pertencia. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos:

- **Grupo Controle:** Oito cães artificialmente infestados, não receberam nenhum tratamento;

- **Grupo Formulação Referência:** Oito cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação referência de fipronil;
- **Grupo Formulação Teste:** Oito cães artificialmente infestados foram tratados com a formulação teste de fipronil.

Os dados dos animais e do volume da formulação empregada podem ser observados na Tabela 3. Para cada região foi pesado 0,02 gramas de pelo e posteriormente adicionado em tubos de ensaio. No dia 0, antes do tratamento, para demonstrar que os animais não apresentavam resíduo no pelo de tratamentos anteriores, uma amostra de pelo de cada região foi coletada, homogenizada e adultos de pulga foram submetidos a este desafio. Em cada tubo foram colocados 10 adultos não alimentados de *C. f. felis* oriundos da colônia supracitada. Os tubos foram vedados com tecido não-tecido (TNT) de cor branca e elástico. Os desafios pós-tratamento foram realizados nos dias +1, +2, +7, +14, +21 e +28. Os tubos foram mantidos em condições ambientais. O material foi avaliado com dez minutos, 30 minutos, duas horas, oito horas, 16 horas e 24 horas, após o início de cada desafio. O critério de avaliação utilizado foi a motilidade. Foi registrado o número de pulgas vivas nos diferentes tempos de avaliação.

3.8 Avaliação da Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

Vinte e quatro cães foram divididos em quatro grupos de seis animais, mantendo a proporção de três machos e três fêmeas por grupo. Um grupo foi mantido sem tratamento (controle). Três grupos foram tratados com a formulação teste de fipronil 10%. Os animais de um grupo tratado não foram banhados (grupo sem banho), no outro grupo os animais receberam um banho antes do tratamento e os animais do outro grupo tratado foram banhados semanalmente. No banho dos animais foi utilizado um xampu neutro.

Tabela 3. Identificação, sexo, peso, volume de produto empregado e grupo dos cães que participaram da avaliação da eficácia residual em pelo de cobertura de duas formulações tópicas de fipronil a 10% sobre *Ctenocephalides felis felis*.

Grupos/Animais	Sexo	Peso (kg)	Volume empregado (ml)
Controle			
261090	F	12	-
266524	F	12	-
261482	F	13	-
247335	M	14	-
290901	M	13	-
297253	M	14	-
260902	M	16	-
281410	F	8	-
Formulação referência¹			
250823	F	6	0,67
294174	M	16	1,34
273503	M	10	0,67
269385	F	9	0,67
288678	F	10	0,67
272759	F	9	0,67
258090	M	11	1,34
275819	M	13	1,34
Formulação teste²			
250851	F	10	0,67
296689	F	10	0,67
258139	M	16	1,34
274848	M	11	1,34
292310	F	9	0,67
273377	F	9	0,67
288786	M	11	1,34
299972	M	12	1,34

¹Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda).

Cada animal foi enxugado com uma toalha até ficarem completamente secos. Os animais dos três grupos formulação teste foram pesados e tratados conforme a recomendação do fabricante e agrupados após randomização da seguinte forma:

- **Grupo Controle:** Seis cães não receberam nenhum tratamento;
- **Grupo Sem banho:** Seis cães sem banho foram tratados com a formulação teste de fipronil;
- **Grupo Banho único:** Seis cães foram banhados antes do tratamento com a formulação teste de fipronil;
- **Grupo Banho semanal:** Seis cães foram banhados antes do tratamento com a formulação teste de fipronil e semanalmente após cada dia de desafio.

Os dados dos animais referentes ao peso, sexo e volume da formulação empregada podem ser observados na Tabela 4. Os animais foram infestados com 100 pulgas adultas (50 machos e 50 fêmeas) e 50 carrapatos adultos (25 machos e 25 fêmeas), dois dias antes de cada desafio. Os desafios foram realizados nos dias +3, +7, +14, +21, +28, +35, +42 e +49, após o tratamento. Os banhos do grupo banhado semanalmente foram realizados nos dias zero (antes do tratamento), +8, +15, +22, +29, +36, +43 e +50. A avaliação de cada animal foi realizada com o auxílio de um pente fino próprio. As pulgas e os carrapatos foram quantificados e fixados em álcool 70° GL.

3.9 Avaliação da Segurança Clínica da Formulação Teste de Fipronil 10%

3.9.1 Cães

Para avaliação da segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%, foram utilizados cães de diferentes raças, diversas idades, machos, fêmeas e em bom estado sanitário domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, São João de Meriti e Barra do Piraí, RJ. Setenta e dois animais, com idade variando entre três meses e 14 anos, com peso variando entre um quilo e 50 quilos, foram tratados com o consentimento do proprietário e conforme a recomendação do fabricante descrita no item 3.3, no período entre novembro de 2007 e fevereiro de 2008. Foi preenchida uma ficha de registro de tolerância ao produto. Os dados dos animais podem ser observados na Tabela 5.

Os animais foram avaliados antes do tratamento, duas horas, 24 horas, 48 horas e sete dias após o tratamento. Os parâmetros avaliados foram comportamento geral (1 - normal; 2 - apático; 3 - apreensivo; 4 - agitado), mucosas (1 - normocoradas; 2 - hipocoradas; 3 - congestas, 4 - ictéricas), apetite (1 - normal; 2 - levemente alterado; 3 - moderadamente alterado; 4 - sem apetite), fezes (1- normais; 2- pastosas; 3- aquosas; 4 - sanguinolenta) vômito (1- ausente; 2 - esporádico; 3- contínuo; 4 - com sangue), sintomatologia nervosa e reação dermatológica (1- ausente; 2- leve; 3- moderada; 4 - intensa).

Tabela 4. Identificação, sexo, peso, grupo e volume de produto empregado nos cães que participaram da avaliação da influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*.

Grupo/Animal	Sexo	Peso (kg)	Volume empregado (ml)
Controle			
288786	M	11	-
247335	M	12	-
281410	F	10	-
261090	F	10	-
261482	F	11	-
296603	M	14	-
Sem banho			
281461	F	9	0,67
266524	F	10	0,67
299972	M	15	1,34
297253	M	12	1,34
283023	M	12	1,34
299495	F	12	1,34
Banho único			
250823	F	8	0,67
269446	F	10	0,67
078122	F	12	1,34
273503	M	10	0,67
258090	M	12	1,34
258139	M	16	1,34
Banho semanal			
279853	F	12	1,34
294174	M	16	1,34
273377	F	12	1,34
269385	F	10	0,67
275819	M	13	1,34
274848	M	15	1,34

Tabela 5. Dados dos cães domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, São João de Meriti e Barra do Piraí, localizados no Estado do Rio de Janeiro, que participaram do ensaio de segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%.

Número	Raça	Sexo	Idade	Peso (kg)	Volume (mL)
1	Labrador	F	2 anos	40	2,68
2	Labrador	F	1 ano	25	2,68
3	Beagle	M	1 ano	12	1,34
4	Pastor Alemão	F	4 anos	35	2,68
5	Pastor Alemão	M	14 anos	40	2,68
6	Teckel	F	12 anos	9	0,67
7	Cocker Spaniel	M	12 anos	20	1,34
8	Teckel	M	5 anos	8	0,67
9	Teckel	F	5 anos	8	0,67
10	Teckel	M	5 anos	7	0,67
11	Teckel	F	5 anos	7	0,67
12	SRD*	F	8 anos	12	1,34
13	Teckel	M	4 anos	9	0,67
14	Teckel	F	5 anos	6	0,67
15	Yorkshire	F	1 ano	4	0,67
16	SRD	M	10 anos	14	1,34
17	SRD	F	5 anos	6	0,67
18	Pastor Alemão	F	10 anos	20	1,34
19	SRD	F	4 anos	10,5	1,34
20	SRD	F	8 meses	15	1,34
21	Pinscher	F	2 anos	3,5	0,67
22	SRD	F	8 meses	10	0,67
23	SRD	F	6 meses	20	1,34
24	SRD	M	1 ano	5	0,67
25	Yorkshire	F	3 meses	1,5	0,67
26	Fox Paulistinha	F	1 ano	8	0,67
27	Cocker Spaniel	F	10 anos	13	1,34
28	Pinscher	M	8 anos	5	0,67
29	SRD	F	1 ano	8	0,67
30	Fox Paulistinha	F	1 ano	4	0,67
31	Teckel	F	4 meses	1,0	0,67
32	Teckel	F	6 anos	8	0,67
33	Weimareriner	F	4 anos	25	2,68
34	Beagle	M	7 anos	21	2,68
35	Boxer	F	11 anos	24	2,68
36	SRD	F	8 anos	12	1,34
37	SRD	F	10 anos	14	1,34
38	SRD	F	2 anos	10,5	1,34
39	SRD	F	7 anos	15	1,34
40	SRD	F	2 anos	10	0,67
41	SRD	F	3 anos	15	1,34
42	SRD	F	3 anos	15	1,34
43	SRD	F	9 meses	7	0,67
44	SRD	F	9 meses	8	0,67
45	Rottweiler	F	5 anos	41	4,02
46	Labrador	M	10 anos	37	2,68
47	SRD	F	2 anos	25	2,68
48	Beagle	M	7 anos	18	1,34
49	Rottweiler	F	5 anos	35	2,68
50	Rottweiler	M	3 meses	10	0,67

*Sem raça definida

Tabela 5. Dados dos cães domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, São João de Meriti e Barra do Piraí, localizados no Estado do Rio de Janeiro, que participaram do ensaio de segurança clínica da formulação teste de fipronil 10% (Continuação).

Número	Raça	Sexo	Idade	Peso (kg)	Volume (mL)
51	SRD*	F	2 anos	12	1,34
52	Beagle	M	7 anos	15	1,34
53	SRD	M	7 anos	15	1,34
54	SRD	F	8 anos	15	1,34
55	SRD	F	7 anos	13	1,34
56	Rottweiler	M	9 anos	35	2,68
57	Beagle	F	10 anos	12	1,34
58	SRD	F	3 anos	45	4,02
59	Dog Alemão	M	7 anos	50	4,02
60	SRD	M	9 meses	10,2	1,34
61	SRD	F	8 anos	20	1,34
62	Beagle	M	12 anos	20	1,34
63	Weimareriner	F	4 anos	20	1,34
64	Weimareriner	M	4 anos	25	2,68
65	SRD	M	5 anos	24	2,68
66	SRD	F	6 anos	25	2,68
67	Labrador	F	1 ano	25	2,68
68	Cocker Spaniel	F	4 anos	13	1,34
69	Poodle	F	4 anos	10	0,67
70	Bichon Frisé	M	3 anos	15	1,34
71	Bulldog Francês	M	2 anos	15	1,34
72	Lhasa Apso	F	6 anos	6	0,67

*Sem raça definida

3.9.2 Gatos

Para avaliação da segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%, foram selecionados gatos com ou sem raça definida, diversas idades, machos, fêmeas e em bom estado sanitário domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro e Nova Iguaçu, RJ. Cinquenta animais, com idade variando entre um mês e quatro anos, com peso variando entre 300 gramas e cinco quilos, foram tratados com o consentimento do proprietário e conforme a recomendação do fabricante descrita no item 3.3, no período entre novembro de 2007 e fevereiro de 2008. Os dados dos animais podem ser observados na Tabela 6. Foi preenchida uma ficha de registro de tolerância ao produto. Os animais foram avaliados antes do tratamento, duas horas, 24 horas, 48 horas e sete dias após o tratamento. Os parâmetros avaliados foram os mesmos para os cães.

3.10 Cálculo da Eficácia e Análise dos Resultados

A eficácia pulicida foi calculada com base na seguinte fórmula: Percentagem de eficácia = [(número médio de adultos ou larvas de pulgas vivas recuperadas no grupo controle – número médio de pulgas vivas recuperadas no grupo medicado) / (número médio de adultos ou larvas de pulgas vivas recuperadas no grupo controle)] x 100.

A eficácia carrapaticida foi calculada com base na seguinte fórmula: Percentagem de eficácia = [(número médio de carrapatos fixados e vivos recuperados no grupo controle – número médio de carrapatos fixados e vivos recuperados no grupo medicado) / (número médio de carrapatos fixados e vivos recuperados no grupo controle)] x 100.

Na análise dos resultados dos ensaios de eficácia controlados, os números de pulgas e carrapatos obtidos nas avaliações foram transformados em log natural de $n + 1$ e submetidos à análise de variância seguido do Teste de Tukey, quando as variâncias fossem desiguais. O nível de significância considerado foi de 95% ($P \leq 0,05$) (SAMPAIO, 2002). As análises estatísticas foram realizadas pelos programas estatísticos computacionais BioEstat 4.0 (AYRES et al., 2005) e Minitab® Statistical Software.

Tabela 6. Dados dos gatos domiciliados nos Municípios de Seropédica, Rio de Janeiro e Nova Iguaçu, localizados no Estado do Rio de Janeiro, que participaram do ensaio de segurança clínica da formulação teste de fipronil 10%.

Número	Raça	Sexo	Idade	Peso (kg)	Volume (mL)
1	SRD*	F	4 anos	2,5	0,5
2	SRD	M	4 anos	3,0	0,5
3	SRD	M	3 anos	4,0	0,5
4	SRD	M	3 anos	4,0	0,5
5	SRD	M	2 anos	2,5	0,5
6	SRD	F	2 anos	2,0	0,5
7	SRD	F	2,5 anos	2,5	0,5
8	SRD	M	5 anos	4,5	0,5
9	SRD	M	2 anos	2,5	0,5
10	SRD	F	4 anos	2,5	0,5
11	SRD	F	3 meses	0,7	0,5
12	SRD	F	1 ano	2,5	0,5
13	SRD	M	3 anos	3,5	0,5
14	SRD	M	3 anos	2,5	0,5
15	SRD	F	1 ano	2,0	0,5
16	SRD	M	4 anos	2,0	0,5
17	SRD	F	4 anos	2,0	0,5
18	SRD	M	1 ano	3,0	0,5
19	SRD	F	2 anos	2,0	0,5
20	SRD	M	2,5 anos	3,5	0,5
21	SRD	F	3 anos	1,5	0,5
22	SRD	F	2 anos	2,5	0,5
23	SRD	M	3 anos	3,5	0,5
24	SRD	M	1 ano	3,0	0,5
25	SRD	M	4 anos	3,5	0,5
26	SRD	M	3 meses	0,7	0,5
27	SRD	M	3 meses	0,7	0,5
28	SRD	M	6 meses	0,5	0,5
29	SRD	M	1 mês	0,3	0,5
30	SRD	M	3 anos	3,0	0,5
31	SRD	M	1 ano	2,0	0,5
32	SRD	M	1 ano	5,0	0,5
33	SRD	F	1 mês	0,3	0,5
34	SRD	F	2 meses	0,6	0,5
35	SRD	M	1,5 anos	3,0	0,5
36	SRD	F	1 ano	4,0	0,5
37	SRD	M	1 mês	0,3	0,5
38	SRD	F	9 meses	0,5	0,5
39	SRD	F	2 anos	4,0	0,5
40	SRD	F	5 anos	4,0	0,5
41	SRD	M	7 anos	5,0	0,5
42	Persa	M	3,5 anos	3,5	0,5
43	SRD	F	2 anos	2,0	0,5
44	SRD	M	2 anos	5,0	0,5
45	SRD	M	3 anos	4,0	0,5
46	Maine Coon	F	4 meses	1,0	0,5
47	Persa	F	2 anos	2,5	0,5
48	SRD	F	6 meses	1,2	0,5
49	SRD	M	1 ano	3,0	0,5
50	Persa	F	3 meses	0,7	0,5

*Sem raça definida

4 RESULTADOS

4.1 Eficácia de duas Formulações de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Gatos

As contagens de pulgas antes e após o tratamento, assim como as médias, desvio padrão e eficácia estão contidos na Tabela 7.

As médias do grupo controle ao longo do ensaio foram de 32,2 para o dia +2; 19,8 para o dia +7; 22,5 para o dia +14; 30,7 para os dias +21 e +28; 30,3 para o dia +35 e 24,3 para o dia +42.

As médias do grupo tratado com a formulação referência de fipronil ao longo do ensaio foram de 0,5 para o dia +2; zero para os dias +7 e +14; 0,3 para o dia +21; 3,2 para o dia +28; 7,7 para o dia +35 e 4,8 para o dia +42. Demonstrando que ocorreu uma queda no número pulgas do grupo mantendo níveis de infestações baixas até o dia +42. Comparativamente ao grupo controle as médias do grupo da formulação referência de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$). As eficácias do tratamento foram de 98,4% para o dia +2; 100% para os dias +7 e +14; 99,2 para o dia +21; 89,6% para o dia +28; 74,6% para o dia +35 e 80% para o dia +42.

As médias do grupo tratado com a formulação teste de fipronil ao longo do ensaio foram de 0,2 para o dia +2; zero para os dias +7, +14 e +21; 1,5 para o dia +28; quatro para o dia +35 e 7,4 para o dia +42. Demonstrando que ocorreu uma queda no número pulgas do grupo mantendo níveis de infestações baixas até o dia + 42. Comparativamente ao grupo controle as médias do grupo tratado com a formulação teste de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$). As eficácias do tratamento foram de 99,4% para o dia +2; 100% para os dias +7, +14 e +21; 95,1% para o dia +28; 86,8% para o dia +35 e 70% para o dia +42.

Comparando-se estatisticamente as médias de pulgas vivas do grupo tratado com a formulação teste de fipronil e com a formulação referência de fipronil não diferiram significativamente ($P > 0,05$) até o dia +42 após o tratamento, demonstrando a similaridade das formulações, ou seja, a formulação teste de fipronil é semelhante a formulação referência.

4.2 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

Os resultados das contagens de carrapatos antes e após o tratamento, assim como as médias, desvio padrão e eficácia podem ser observados na Tabela 8.

As médias do grupo controle ao longo do ensaio foram de 49,6 para o dia +2; 49,3 para o dia +7; 46 para o dia +14; 36,6 para o dia +21; 41,1 para o dia +28 e 39,6 para o dia +35.

As médias de carrapatos adultos do grupo tratado com a formulação referência de fipronil ao longo do ensaio foram de 3,7 para o dia +2; zero para o dia +7; quatro para o dia +14; 9,3 para o dia +21; 9,6 para o dia +28 e 26,4 para o dia +35, demonstrando que ocorreu uma queda no número de carrapatos do grupo mantendo níveis de infestações baixas até o dia + 14. Comparativamente ao grupo controle, as médias do grupo da formulação referência de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$), com exceção do

Tabela 7. Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em gatos.

Grupo/ Animal	Número de pulgas recuperadas por dia de desafio						
	+2	+7	+14	+21	+28	+35	+42
Controle							
1 C	29	13	7	10	17	20	19
2 C	57	29	21	41	25	61	38
3 C	28	24	31	36	39	30	21
4 C	41	30	30	37	27	22	25
5 C	18	5	21	32	41	22	13
6 C	21	18	25	28	35	27	30
Média ± DP¹	32,3^a±14,5	19,2^a±9,7	22,5^a±8,7	30,7^a±11,1	30,7^a±9,2	30,3^a±15,5	24,3^a±8,8
Formulação referência²							
1 B	0	0	0	0	0	6	1
2 B	2	0	0	0	0	2	1
3 B	0	0	0	0	16	22	14
4 B	1	0	0	0	0	3	0
5 B	0	0	0	0	1	6	6
6 B	0	0	0	2	2	7	7
Média ± DP	0,5^b±0,8	0^b±0	0^b±0	0,3^b±0,8	3,2^b±6,3	7,7^b±7,3	4,8^b±5,3
Eficácia (%)	98,4	100	100	99,2	89,6	74,6	80
Formulação teste³							
1 A	1	0	0	0	6	6	3
2 A	0	0	0	0	0	0	4
3 A	0	0	0	0	0	3	18
4 A	0	0	0	0	0	4	2
5 A	0	0	0	0	0	2	-*
6 A	0	0	0	0	3	9	10
Média ± DP	0,2^b±0,4	0^b±0	0^b±0	0^b±0	1,5^b±2,5	4,0^b±3,2	7,4^b±6,7
Eficácia (%)	99,4	100	100	100	95,1	86,8	70

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); *Fuga do animal; Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 8. Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* em cães Beagle.

Grupos/Animal	Número de carrapatos vivos e fixados por dia de desafio					
	+2	+7	+14	+21	+28	+35
Controle						
281410	43	49	58	53	42	22
288678	48	50	25	32	37	47
261090	21	50	41	30	35	29
273377	49	50	50	31	37	58
279853	42	50	46	43	34	40
266524	90	49	52	29	55	48
288786	54	47	50	38	48	33
Média ± DP¹	49,6^a±19,2	49,3^a±1,0	46,0^a±9,8	36,6^a±8,2	41,1^a±7,8	39,6^a±11,5
Formulação referência²						
278555	1	0	2	11	12	54
272759	0	0	0	7	14	24
250851	1	0	8	21	12	27
269385	1	0	8	2	8	30
250823	2	0	2	2	15	34
300020	7	0	1	22	2	18
291310	14	0	7	0	6	19
Média ± DP	3,7^b±4,7	0^b±0	4,0^b±3,3	9,3^b±8,4	9,6^b±4,7	29,4^a±11,3
Eficácia (%)	92,5	100	91,0	74,6	76,1	25,7
Formulação teste³						
292310	0	0	2	11	8	42
279594	0	0	0	2	1	4
264877	0	0	3	2	10	6
296689	0	0	0	3	1	14
288678	0	0	3	5	14	19
260688	0	0	5	0	9	16
290901	0	0	2	2	5	3
Média ± DP	0^c±0	0^b±0	1,8^b±2,1	3,6^b±3,3	4,8^b±6,8	14,8^b±12,4
Eficácia (%)	100	100	95,4	90,23	83,4	62,6

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiproxex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

dia +35. As eficácias do tratamento foram de 92,5% para o dia +2; 100% para o dia +7; 91% para o dia +14; 74,6% para o dia +21; 76,1% para o dia +28 e 25,7% para o dia +35.

As médias do grupo tratado com a formulação teste de fipronil ao longo do ensaio foram de zero para o dia +2; zero para o dia +7; 1,8 para o dia +14; 3,6 para o dia +21; 4,8 para o dia +28 e 11,3 para o dia +35, demonstrando que ocorreu uma queda no número de carrapatos do grupo mantendo níveis de infestações baixas entre o dia +21 e +28. Comparativamente ao grupo controle, as médias do grupo tratado com a formulação teste de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$). As eficácias do tratamento foram de 100% para os dias +2 e +7; 95,4% para o dia +14; 90,2% para o dia +21; 83,4% para o dia +28 e 62,6% para o dia +35.

Comparando-se estatisticamente as médias de carrapatos vivos e fixados do grupo tratado com a formulação teste de fipronil e com a formulação referência de fipronil, não se observou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os dias +7 e o dia +28 após o tratamento, entretanto para o dia +2 e +35 observou-se diferença significativa entre os dois tratamentos ($P \leq 0,05$) sendo que a média do grupo formulação teste de fipronil apresentou valores inferiores (zero e 14,8) quando comparado à média do grupo formulação referência de fipronil (3,7 e 29,4), respectivamente para os dias +2 e +35, indicando um período maior de proteção contra a reinfestação para a formulação teste de fipronil entre sete e 14 dias, e uma eficiência mais rápida na eliminação dos carrapatos já instalados, após o tratamento.

4.3 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Cães

Os resultados referentes às contagens de pulgas antes e após o tratamento, assim como as médias, desvio padrão e eficácia estão contidos na Tabela 9.

As médias do grupo controle ao longo do ensaio foram de 85,9 para o dia +2; 96 para o dia +7; 89 para o dia +14; 90,6 para o dia +21; 69,9 para o dia +28 e 96 para o dia +35.

As médias do grupo tratado com a formulação referência de fipronil ao longo do ensaio foram de 0,14 para o dia +2; zero para o dia +7; zero para o dia +14; 3,86 para o dia +21; 2,6 para o dia +28 e 26,4 para o dia +35. Demonstrando que ocorreu uma queda no número de pulgas do grupo, mantendo níveis de infestações baixas até o dia +28. Comparativamente ao grupo controle, as médias do grupo formulação referência de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$). As eficácias do tratamento foram de 99,83% para o dia +2; 100% para o dia +7; 100% para o dia +14; 95,7% para o dia +21; 96,3% para o dia +28 e 72,5% para o dia +35.

As médias do grupo tratado com a formulação teste de fipronil ao longo do ensaio foram de zero para o dia +2; zero para o dia +7; zero para o dia +14; 0,4 para o dia +21; 0,1 para o dia +28 e 8,1 para o dia +35. Demonstrando que ocorreu uma queda no número de pulgas do grupo mantendo níveis de infestações baixas até o dia +35. Comparativamente ao grupo controle as médias do grupo formulação teste de fipronil diferiram estatisticamente para todos os dias de avaliações ($P \leq 0,05$). As eficácias do tratamento foram de 100% para o dia +2; 100% para o dia +7; 100% para o dia +14; 99,5% para o dia +21; 99,8% para o dia +28 e 91,6% para o dia +35.

Comparando-se estatisticamente as médias de pulgas vivas do grupo tratado com a formulação teste de fipronil com as do grupo formulação referência de fipronil não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) até o dia +28 após o tratamento, entretanto para o dia +35 observou-se diferença significativa entre os dois tratamentos ($P \leq 0,05$), sendo que a média do grupo formulação teste de fipronil apresentou valores inferiores (8,1) quando

Tabela 9. Eficácia comparativa de duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães Beagle.

Grupo / Animal	Número de pulgas recuperadas por dia de desafio					
	+2	+7	+14	+21	+28	+35
Controle						
281410	92	100	92	104	57	114
288678	77	100	80	88	42	91
261090	77	100	87	94	73	92
273377	70	100	94	79	83	99
279853	84	98	83	102	96	106
266524	84	85	96	65	61	72
288786	117	89	94	102	77	99
Média ± DP¹	85,9^a±14,3	96^a ± 5,8	89,4^a±5,7	90,6^a±14,4	69,9^a±18	96,1^a±12,2
Formulação referência²						
278555	0	0	0	5	0	22
272759	0	0	0	0	3	18
250851	0	0	0	11	5	19
269385	0	0	0	0	1	57
250823	0	0	0	0	2	55
300020	1	0	0	11	6	14
291310	0	0	0	0	1	0
Média ± DP	0,1^b±0,3	0^b±0	0^b±0	3,9^b±5,2	2,6^b±2,0	26,4^b±19,8
Eficácia (%)	99,8	100	100	95,7	96,3	72,5
Formulação teste³						
292310	0	0	0	0	0	14
279594	0	0	0	0	0	1
264877	0	0	0	0	1	1
296689	0	0	0	2	0	34
288678	0	0	0	0	0	0
260688	0	0	0	0	0	7
290901	0	0	0	1	0	0
Média ± DP	0^b±0	0^b±0	0^b±0	0,43^b±0,8	0,1^b±0,4	8,1^c±11,5
Eficácia (%)	100	100	100	99,5	99,8	91,6

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

comparado a média do grupo formulação referência de fipronil (19,8), indicando um período maior de proteção contra a reinfestação para a formulação teste de fipronil, de até sete dias a mais.

4.4 Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis*

4.4.1 Eficácia residual em pelo de cobertura de cães sobre *Ctenocephalides felis felis*

Os resultados da eficácia residual sobre adultos de *C. felis felis* podem ser observados nas Tabelas 10 a 17. Para o desafio do dia +2 após o tratamento o número médio de pulgas vivas observadas no grupo controle para os diferentes períodos de tempo foi de 10; 9,7; 9,7; 9,2; 9 e 8,7; respectivamente para 10 minutos, 30 minutos e duas, oito, 16, e 24 horas após o desafio. Para a formulação teste, o número médio de pulgas vivas e as eficácias observadas, respectivamente foram de 9,7 e 3,3% para 10 minutos; 9,3 e 3,4% para 30 minutos; 8 e 17,2% para duas horas; 0,5 e 94,5% para 8h; 0 e 100% para 16 e 24 horas (Tabela 10). Observou-se diferença significativa entre as médias dos grupos tratado e controle a partir do período de observação de oito horas ($P \leq 0,05$).

No dia +7 após o tratamento, o número médio de pulgas vivas observadas para o grupo controle foi de 10; 10; 10; 10; 9,3 e 9; respectivamente para os períodos de 10 minutos, 30 minutos, duas, oito, 16 e 24 horas. Para a formulação teste, o número médio de pulgas vivas e as eficácias foram de 10 e 0%; 9,7 e 3,3%; 7,5 e 25%; 0,8 e 91,7%; respectivamente para os tempos de 10 minutos, 30 minutos, duas e oito horas; 0 e 100%, para os tempos de 16 e 24 horas (Tabela 11). Não ocorreu diferença entre as médias de adultos vivos observados no controle e na formulação teste nos períodos de tempo de 10 minutos, 30 minutos e duas horas ($P > 0,05$), diferença esta observada nos tempos de oito, 16 e 24 horas ($P \leq 0,05$).

Quatorze dias após o tratamento, o número médio de pulgas vivas para o grupo controle foi de 10; 10; 9,8; 9,8; 9,8 e 9,8, respectivamente para 10 minutos, 30 minutos, duas, oito, 16 e 24 horas de observação após o desafio. Já o número médio de pulgas vivas e as eficácias observadas para a formulação teste foram de 10 e 0%; 9 e 10%; 3,5 e 64,4%; 3,5 e 64,4%; 0 e 100%; e 0 e 100%, respectivamente para 10 minutos, 30 minutos, duas, oito, 16 e 24 horas após o desafio (Tabela 12). Observou-se diferença significativa entre as médias dos grupos tratado e controle, a partir do tempo de observação de duas horas ($P \leq 0,05$).

Vinte e um dias após o tratamento, o número médio de pulgas vivas observado no grupo controle foi de 10 para os tempos de 10 minutos, 30 minutos e duas horas, e de 9,7; 9,2 e 9,2 para os tempos de oito, 16 e 24 horas respectivamente. Na formulação teste, o número médio de pulgas vivas e as eficácias correspondentes observadas foram de 10 e 0% para o período de tempo de 10 minutos, de 9,7 e 3,3% para 30 minutos, 6,7 e 33,3% para duas horas, 1 e 89,7% para oito horas, e de 0 e 100% para os períodos de tempo de 16 e 24 horas após o desafio (Tabela 13). Observou-se diferença significativa entre as médias dos grupos tratado e controle, a partir do tempo de observação de oito horas ($P \leq 0,05$).

No dia +28 pós-tratamento, o número médio de pulgas vivas para o grupo controle foi de 10 para todos os períodos de observação. O número médio de pulgas vivas e as eficácias correspondentes foram de 10 e 0% para os tempos de 10 minutos, 30 minutos e duas horas de observação, e de 9,8 e 1,7%; 0,5 e 95%; 0 e 100%, respectivamente para os tempos de oito, 16 e 24 horas (Tabela 14).

Tabela 10. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10%, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* dois dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	9	9	9
2	10	9	9	9	9	8
3	10	10	10	10	10	9
4	10	10	10	8	8	8
5	10	9	9	9	8	8
6	10	10	10	10	10	10
Média ± DP¹	10^a±0	9,7^a±0,5	9,7^a±0,5	9,2^a±0,8	9^a±0,9	8,7^a±0,8
Formulação teste²						
1	10	9	8	0	0	0
2	10	9	8	0	0	0
3	10	10	9	3	0	0
4	10	9	7	0	0	0
5	9	10	9	0	0	0
6	9	9	7	0	0	0
Média ± DP	9,7^a±0,5	9,3^a±0,5	8^a±0,9	0,5^b±1,2	0^b±0	0^b±0
Eficácia (%)	3,3	3,4	17,2	94,5	100	100

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 11. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10%, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* sete dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	9	8
4	10	10	10	10	7	6
5	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10	10
Média ± DP¹	10^a±0	10^a±0	10^a±0	10^a±0	9,3^a±1,2	9^a±1,7
Formulação teste²						
1	10	10	8	0	0	0
2	10	10	5	0	0	0
3	10	10	9	3	0	0
4	10	9	9	1	0	0
5	10	10	9	0	0	0
6	10	9	5	1	0	0
Média ± DP	10^a±0	9,7^a±0,5	7,5^a±2	0,8^b±1,2	0^b±0	0^b±0
Eficácia (%)	0	3,3	25	91,7	100	100

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 12. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10%, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 14 dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	10	10
4	10	10	9	9	9	9
5	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10	10
Média ± DP¹	10^a±0	10^a±0	9,8^a±0,4	9,8^a±0,4	9,8^a±0,4	9,8^a±0,4
Formulação teste²						
1	10	10	3	3	0	0
2	10	10	4	4	0	0
3	10	10	4	4	0	0
4	10	9	1	1	0	0
5	10	6	3	3	0	0
6	10	9	6	6	0	0
Média ± DP	10^a±0	9^a±1,5	3,5^b±1,6	3,5^b±1,6	0^b±0	0^b±0
Eficácia (%)	0	10	64,4	64,4	100	100

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 13. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10 %, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 21 dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	9	9	9
3	10	10	10	10	9	9
4	10	10	10	10	10	10
5	10	10	10	10	9	9
6	10	10	10	9	8	8
Média ± DP¹	10^a±0	10^a±0	10^a±0	9,7^a±0,5	9,2^a±0,8	9,2^a±0,8
Formulação teste²						
1	10	9	7	2	0	0
2	10	10	8	1	0	0
3	10	10	5	1	0	0
4	10	10	7	0	0	0
5	10	9	6	2	0	0
6	10	10	7	0	0	0
Média ± DP	10^a±0	9,7^a±0,5	6,7^b±1	1^b±0,9	0^b±0	0^b±0
Eficácia (%)	0	3,3	33,3	89,7	100	100

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 14. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10%, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 28 dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	10	10
4	10	10	10	10	10	10
5	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10	10
Média ± DP¹	10^a±0	10^a±0	10^a±0	10^a±0	10^a±0	10^a±0
Formulação teste³						
1	10	10	10	10	0	0
2	10	10	10	10	0	0
3	10	10	10	10	0	0
4	10	10	10	10	1	0
5	10	10	10	10	1	0
6	10	10	10	9	1	0
Média ± DP	10^a±0	10^a±0	10^a±0	9,8^a±0,4	0,5^b±0,5	0^b±0
Eficácia (%)	0	0	0	1,7	95	100

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Não ocorreu diferença entre as médias de adultos vivos observados entre o grupo controle e a formulação teste até oito horas do início do desafio ($P > 0,05$). Nos tempos de 16 e 24 horas, o número médio de pulgas vivas do grupo formulação teste diferiu significativamente da média do controle ($P \leq 0,05$).

No dia +35 pós-tratamento, o número médio de pulgas vivas para o grupo controle foi de 10 para os períodos de observação de 10 minutos, 30 minutos, duas, e oito horas, e de 9,8 e 8,3 para os tempos de 16 e 24 horas, respectivamente. O número médio de pulgas vivas e as eficácias da formulação teste foram de 10 e 0% para os tempos de 10 minutos, 30 minutos e duas horas de observação, e de 9,2 e 0,8%; 4,5 e 54,2%; 0,7 e 92%, respectivamente para os tempos de oito, 16 e 24 horas (Tabela 15). Não ocorreu diferença entre as médias de adultos vivos observados entre o grupo controle e a formulação teste até oito horas do início do desafio ($P > 0,05$). Já nos tempos de 16 e 24 horas, a diferença foi significativa entre os grupos formulação teste e controle ($P \leq 0,05$).

Os resultados referentes eficácia residual sobre larvas de *C. felis felis* podem ser observados na Tabela 16. O número médio de adultos emergidos no grupo controle foi de 5; 7; 8,7; 5,7 e 9,3 para os dias +2, +7, +14, +21 e +28, respectivamente. Para a formulação teste, o número médio de adultos observado e as eficácias correspondentes foram de 0,5 e 90% para o dia +2; 1,5 e 78,6% para o dia +7; 4 e 53,8% para o dia +14; 0,2 e 97,1% para o dia +21, e 8,5 e 8,9% para o dia +28 (Tabela 16). As médias do grupo formulação teste diferiram significativamente das do grupo controle até o dia +21 ($P \leq 0,05$).

Com relação à eficácia residual sobre ovos de *C. felis felis*, os resultados podem ser observados na Tabela 17. No grupo controle, o número médio de larvas eclodidas foi de 6,5; 8,2; 3,5; 5,2 e 6,8 para os dias +2, +7, +14, +21 e +28, respectivamente. No grupo formulação teste, o número médio de larvas observado e as eficácias foram de zero e 100% para os dias +2, +7 e +14; 0,2 e 96,8%; e 2,8 e 58,5% para os dias +21 e +28, respectivamente. Observou-se diferença significativa entre as médias de larvas eclodidas do grupo controle e do grupo formulação teste até o dia +28 ($P \leq 0,05$).

4.4.2 Eficácia residual em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com fipronil sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Os resultados podem ser observados nas Tabelas 18 a 26. No dia zero, antes do tratamento foi demonstrado que os animais não apresentavam resíduo de produto parasiticida no pelo de cobertura e as médias entre os grupos controle, formulação referência e formulação teste não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela 18). Para o dia +1, o número médio de pulgas vivas e as eficácias podem ser observados na Tabela 19. As médias das formulações de fipronil não diferiram entre si ($P > 0,05$), mas diferiram significativamente do controle em todas as regiões ($P \leq 0,05$).

Para o dia +2, os resultados podem ser observados na Tabela 20. Houve diferença significativa entre as formulações referência e teste de fipronil na região da base da cauda ($P \leq 0,05$). As demais regiões não diferiram entre si nos diferentes tratamentos, mas diferiram do controle.

Tabela 15. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10%, de uso tópico, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 35 dias após o tratamento.

Grupos/Repetição	Número de pulgas vivas nos diferentes períodos de tempo					
	10 minutos	30 minutos	2 hs	8 hs	16 hs	24 hs
Controle						
1	10	10	10	10	10	8
2	10	10	10	10	10	7
3	10	10	10	10	10	10
4	10	10	10	10	9	9
5	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10	6
Média ± DP¹	10^a±0	10^a±0	10^a±0	10^a±0	9,8^a±0,4	8,3^a±1,6
Formulação teste²						
1	10	10	10	9	6	0
2	10	10	10	10	4	2
3	10	10	10	8	4	1
4	10	10	10	9	3	1
5	10	10	10	9	6	0
6	10	10	10	10	4	0
Média ± DP	10^a±0	10^a±0	10^a±0	9,2^a±0,8	4,5^b±1,2	0,7^b±0,8
Eficácia (%)	0	0	0	8,3	54,2	92

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 16. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10 %, de uso tópico, no controle de larvas de *Ctenocephalides felis felis* 20 dias após cada desafio.

Grupos/Repetição	Número de adultos 20 dias após o dia de cada desafio				
	+2	+7	+14	+21	+28
Controle					
1	0	5	9	5	8
2	4	7	10	6	9
3	6	7	9	5	10
4	7	7	6	6	9
5	8	8	8	7	10
6	5	8	10	5	10
Média ± DP¹	5^a±2,8	7^a±1,1	8,7^a±1,5	5,7^a±0,8	9,3^a±0,8
Formulação teste²					
1	0	2	3	0	7
2	0	2	4	0	6
3	0	0	6	0	9
4	3	3	5	1	10
5	0	2	2	0	9
6	0	0	4	0	10
Média ± DP	0,5^b±1,2	1,5^b±1,2	4^b±1,4	0,2^b±0,4	8,5^a±1,6
Eficácia (%)	90	78,6	53,8	97,1	8,9

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 17. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com uma formulação teste de fipronil a 10 %, de uso tópico, no controle de ovos de *Ctenocephalides felis felis* 72 horas após cada desafio.

Grupos/Repetição	Número de larvas recuperadas após 72 horas de cada dia de desafio				
	+2	+7	+14	+21	+28
Controle					
1	9	8	0	0	6
2	7	7	0	4	7
3	7	7	5	4	5
4	3	8	7	4	8
5	9	9	0	9	9
6	4	10	9	10	6
Média ± DP¹	6,5^a±2,5	8,2^a±1,2	3,5^a±4	5,2^a±3,7	6,8^a±1,5
Formulação teste²					
1	0	0	0	0	5
2	0	0	0	0	2
3	0	0	0	0	3
4	0	0	0	1	6
5	0	0	0	0	1
6	0	0	0	0	0
Média ± DP	0^b±0	0^b±0	0^b±0	0,2^b±0,4	2,8^b±2,3
Eficácia (%)	100	100	100	96,8	58,5

¹Desvio Padrão; ²Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não

Tabela 18. Avaliação dos cães quanto à presença de resíduo de produto no pelo de cobertura antes do tratamento com duas formulações tópicas de fipronil a 10%.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas antes do tratamento
Controle	
261090	8
266524	10
261482	9
247335	10
290901	8
297253	9
260902	10
281410	10
Média ± DP¹	9,3^a ± 0,9
Formulação referência²	
250823	9
294174	10
273503	10
269385	10
288678	9
272759	10
258090	9
275819	10
Média ± DP	9,6^a ± 0,5
Eficácia (%)	0
Formulação teste³	
250851	10
296689	10
258139	9
274848	10
292310	9
273377	10
288786	7
299972	10
Média ± DP	9,4^a ± 1,1
Eficácia (%)	0

¹Desvio Padrão; ²Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ³Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 19. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* um dia após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	7	8	8	8	10
266524	10	7	10	10	10
261482	10	9	10	10	10
247335	9	10	9	10	9
290901	9	9	10	9	9
297253	8	9	10	10	6
260902	10	10	10	10	10
281410	9	10	9	10	10
Média ± DP⁶	9^a ± 1,1	9^a ± 1,1	9,5^a ± 0,8	9,6^a ± 0,7	9,7^a ± 1,4
Formulação referência⁷					
250823	1	3	3	0	0
294174	1	2	5	0	0
273503	3	7	4	1	1
269385	0	1	8	0	0
288678	0	1	10	1	1
272759	10	1	5	3	3
258090	0	0	2	2	1
275819	1	1	1	0	0
Média ± DP	2^b ± 3,4	2^b ± 2,2	4,8^b ± 3	0,9^b ± 1,1	0,8^b ± 1
Eficácia (%)	77,8	77,8	50,0	90,9	91,9
Formulação teste⁸					
250851	3	0	3	0	0
296689	0	0	4	0	1
258139	4	0	10	1	1
274848	1	3	4	2	2
292310	7	2	0	0	1
273377	2	0	3	0	1
288786	0	0	1	0	0
299972	0	0	0	0	0
Média ± DP	2,1^b ± 2,5	0,6^b ± 1,2	3,1^b ± 3,2	0,4^b ± 0,7	0,8^b ± 0,7
Eficácia (%)	76,4	93,1	67,1	96,1	91,9

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 20. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* dois dias após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	10	10	10	10	10
266524	10	10	10	10	10
261482	10	10	10	10	10
247335	10	10	10	10	10
290901	10	10	10	10	10
297253	10	10	10	10	9
260902	10	10	9	9	10
281410	10	10	10	10	10
Média ± DP⁶	10^a ± 0	10^a ± 0	9,9^a ± 0,4	9,9^a ± 0,4	9,9^a ± 0,4
Formulação referência⁷					
250823	0	3	5	0	1
294174	0	0	3	0	0
273503	1	3	9	2	0
269385	0	0	7	0	0
288678	3	1	9	0	4
272759	2	0	5	0	0
258090	0	0	5	0	0
275819	0	0	2	0	0
Média ± DP	0,8^b ± 1,2	0,9^b ± 1,4	5,6^b ± 2,6	0,3^b ± 0,7	0,6^b ± 1,4
Eficácia (%)	92,5	91,3	43	97,5	93,7
Formulação teste⁸					
250851	1	0	1	0	2
296689	2	0	5	0	0
258139	0	0	8	0	0
274848	0	0	1	0	0
292310	5	0	4	0	0
273377	0	0	0	0	0
288786	0	0	0	0	0
299972	0	0	0	0	0
Média ± DP	1^b ± 1,8	0^b ± 0	2,4^c ± 3	0^b ± 0	0,3^b ± 0,7
Eficácia (%)	90	100	75,9	100	97,5

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Para o dia +7, os resultados podem ser observados na Tabela 21. Houve diferença significativa entre as formulações referência e teste de fipronil na região do dorso ($P \leq 0,05$). As demais regiões não diferiram entre si nos diferentes tratamentos, mas diferiram do controle.

Para o dia +14, os resultados podem ser observados na Tabela 22. Houve diferença significativa entre as médias das formulações referência e teste de fipronil nas regiões do pescoço e lado direito ($P \leq 0,05$), enquanto para as demais regiões não foi observada diferença entre elas ($P > 0,05$). Com relação a base da cauda, as duas formulações de fipronil não diferiram do controle.

Para os dias +21 (Tabela 23) e +28 (Tabela 24), as médias dos grupos formulação teste e referência não diferiram entre si e do grupo controle ($P > 0,05$), demonstrando a redução dos níveis de eficácia residual em pelo de cobertura de cães no controle de adultos de pulgas.

Ao se comparar as diferentes regiões foi possível fazer uma análise da dispersão do produto no corpo dos animais (Tabelas 25 e 26). Para a formulação referência, houve diferença significativa da região da base da cauda para as demais regiões ($P \leq 0,05$) até 48 horas após o tratamento, entretanto as regiões não diferiram entre si nos dias +7, +14, +21 e +28. No dia +1 e +2, foi observado para a formulação teste, que as médias de pulgas recuperadas nas regiões do pescoço, dorso, lados direito e esquerdo não diferiram entre si ($P > 0,05$), que a média da base da cauda diferiu significativamente das demais ($P \leq 0,05$), mas esta não diferiu da média de pulgas recuperadas na região do pescoço ($P > 0,05$). No dia +7 e +14, foi observado que as médias da região do dorso e da base da cauda diferiram significativamente entre si ($P \leq 0,05$), mas não diferiram das demais regiões ($P > 0,05$). Nos dias +21 e +28, as médias de pulgas recuperadas nas cinco regiões não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$).

4.5 Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

As contagens de pulgas, médias, desvio padrão e eficácia dos tratamentos podem ser observados na Tabela 27. As eficácias foram de 100% para os dias +3, +7 e +14; 99,5; 96,4 e 67,3%, respectivamente para os dias +21, +28 e +35 para o grupo tratado sem banho. Para o grupo tratado banho único foi 100% eficaz nos dias +3, +7, +14, +21 e +28; 98,4; 95 e 70,6%, respectivamente para os dias +35, +42 e +49. Para o grupo tratado banho semanal, a eficácia no dia +3 foi 98,8%, de 100% para os dias +7, +14 e +21, e de 86,9 e 44,2%, respectivamente para os dias +28 e +35. Não ocorreu diferença significativa entre as médias dos grupos tratados nos dias +3, +7, +14 e +21, mas todos diferiram significativamente do grupo controle. No dia +28, a média do grupo sem banho não diferiu significativamente das médias dos grupos banho único e banho semanal ($P > 0,05$), mas as médias dos grupos banho único e banho semanal diferiram entre si, e todas as médias dos grupos tratados diferiram da média do grupo controle. Tanto no dia +42 e no +49, a média do grupo controle diferiu significativamente do grupo banho único ($P \leq 0,05$).

Com relação aos carrapatos, os resultados podem ser observados na Tabela 28. As eficácias observadas foram de 100% para os dias +3, +7 e +14; 90,3; 80,7 e 50% para os dias +21, +28 e +35, respectivamente, no grupo tratado sem banho. No grupo tratado banho único, as eficácias foram de 99,5; 100; 100; 91,8; 91,6; 70,9 e 63,2%, respectivamente para os dias +3, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 após o tratamento. Já no grupo banho semanal as eficácias foram de 100; 100; 99,1; 81,1; 58,9 e 41,3 para os dias +3, +7, +14, +21, +28 e +35, respectivamente.

Tabela 21. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* sete dias após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	10	10	10	7	10
266524	10	10	10	10	10
261482	10	10	10	10	10
247335	10	10	10	10	10
290901	10	10	10	10	10
297253	10	10	10	8	9
260902	10	10	10	10	10
281410	10	10	10	10	10
Média ± DP⁶	10^a ± 0	10^a ± 0	10^a ± 0	9,4^a ± 1,2	9,9^a ± 0,4
Formulação referêcia⁷					
250823	0	3	7	4	4
294174	0	4	6	0	0
273503	3	3	10	7	6
269385	6	0	4	0	7
288678	5	3	8	6	0
272759	10	0	10	8	4
258090	0	0	3	0	0
275819	0	0	0	0	0
Média ± DP	3^b ± 3,7	1,6^b ± 1,8	6^b ± 3,5	3,1^b ± 3,5	2,6^b ± 3
Eficácia (%)	70	83,8	40	66,7	73,4
Formulação teste⁸					
250851	7	1	4	0	1
296689	6	0	10	8	0
258139	0	1	2	2	6
274848	0	0	4	1	1
292310	2	0	7	8	7
273377	1	0	0	0	0
288786	0	0	6	0	0
299972	7	0	8	5	0
Média ± DP	2,9^b ± 3,2	0,3^c ± 0,5	5,1^b ± 3,3	3^b ± 3,5	1,9^b ± 2,9
Eficácia (%)	71,3	97,5	48,8	68	81

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 22. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 14 dias após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	9	10	6	10	9
266524	10	10	8	7	6
261482	9	10	10	8	10
247335	10	10	8	7	8
290901	6	7	10	10	10
297253	9	10	8	10	9
260902	10	10	10	10	10
281410	9	9	10	10	9
Média ± DP⁶	9^a ± 1,3	9,5^a ± 1,1	8,8^a ± 1,5	9^a ± 1,4	8,9^a ± 1,4
Formulação referência⁷					
250823	8	9	10	5	7
294174	7	3	0	5	6
273503	7	1	8	0	7
269385	6	9	10	4	5
288678	6	8	7	8	0
272759	9	9	6	6	8
258090	9	1	10	10	0
275819	6	0	9	6	2
Média ± DP	7,3^a ± 1,3	5^b ± 4,1	7,5^a ± 3,4	5,5^b ± 2,9	4,4^b ± 3,2
Eficácia (%)	19,4	47,4	14,3	38,9	50,7
Formulação teste⁸					
250851	6	1	7	5	0
296689	3	0	7	3	2
258139	0	4	8	3	8
274848	4	1	6	9	5
292310	3	4	9	4	9
273377	8	8	10	10	8
288786	6	0	10	6	6
299972	4	5	9	0	0
Média ± DP	4,3^b ± 2,4	2,9^b ± 2,9	8,3^a ± 1,5	5^b ± 3,3	4,8^b ± 3,7
Eficácia (%)	52,8	69,7	5,7	44,4	46,5

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 23. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 21 dias após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	10	10	10	10	10
266524	10	10	10	10	10
261482	10	10	10	10	10
247335	10	9	10	10	10
290901	10	10	10	10	10
297253	10	10	10	9	9
260902	10	10	10	10	10
281410	9	9	10	10	9
Média ± DP⁶	9,9^a ± 0,4	9,8^a ± 0,5	10^a ± 0	9,9^a ± 0,4	9,8^a ± 0,5
Formulação referência⁷					
250823	10	10	10	10	10
294174	8	10	10	9	10
273503	10	10	9	10	7
269385	8	10	10	10	10
288678	5	1	10	10	10
272759	8	10	7	10	9
258090	10	0	7	8	3
275819	10	0	10	0	10
Média ± DP	8,6^a ± 1,8	6,4^a ± 5	9,1^a ± 1,4	8,4^a ± 3,5	8,6^a ± 2,5
Eficácia (%)	12,7	34,6	8,8	15,2	11,5
Formulação teste⁸					
250851	10	2	10	10	9
296689	10	10	5	10	10
258139	9	10	8	10	10
274848	9	5	10	9	7
292310	10	6	10	9	10
273377	9	10	10	10	10
288786	10	9	8	10	10
299972	10	10	10	5	10
Média ± DP	9,6^a ± 0,5	7,8^a ± 3,1	8,9^a ± 1,8	9,1^a ± 1,7	9,5^a ± 1,1
Eficácia (%)	2,5	20,5	11,3	7,6	2,6

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 24. Eficácia residual em pelo de cobertura de cães tratados com duas formulações tópicas de fipronil a 10% no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* 28 dias após o tratamento.

Grupos/Animais	Número de pulgas vivas após 24 horas do desafio				
	P ¹	D ²	BC ³	LD ⁴	LE ⁵
Controle					
261090	9	10	10	10	10
266524	10	10	10	10	10
261482	10	9	10	10	10
247335	10	10	10	10	10
290901	10	10	10	9	10
297253	10	8	10	8	10
260902	10	10	9	7	10
281410	10	8	9	9	9
Média ± DP⁶	9,9^a ± 0,4	9,4^a ± 0,9	9,8^a ± 0,5	9,1^a ± 1,1	9,9^a ± 0,4
Formulação referência⁷					
250823	10	10	8	10	10
294174	10	10	9	10	10
273503	10	9	10	10	8
269385	10	10	10	10	9
288678	10	10	10	10	0
272759	10	10	10	10	8
258090	9	0	8	8	10
275819	8	10	7	10	10
Média ± DP	9,6^a ± 0,7	8,6^a ± 3,5	9^a ± 1,2	9,8^a ± 0,7	8,1^a ± 3,4
Eficácia (%)	2,5	8	7,7	0	17,7
Formulação teste⁸					
250851	10	0	8	10	10
296689	10	3	10	10	10
258139	10	9	10	10	10
274848	10	10	8	10	8
292310	10	10	9	10	10
273377	8	10	10	10	10
288786	8	10	10	10	10
299972	10	9	10	10	10
Média ± DP	9,5^a ± 0,9	7,6^a ± 3,9	9,4^a ± 0,9	10^a ± 0	9,8^a ± 0,7
Eficácia (%)	3,8	18,7	3,8	0	1,3

¹Pelos do pescoço; ²Pelos do dorso; ³Pelos da base da cauda; ⁴Pelos do lado direito; ⁵Pelos do lado esquerdo; ⁶Desvio Padrão; ⁷Frontline® TopSpot (Merial Saúde Animal); ⁸Fiprolex® Drop Spot (Sespo Indústria e Comércio Ltda); Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 25. Avaliação da dispersão em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com a formulação referência de fipronil a 10% de uso tópico.

Regiões	Número médio de pulgas vivas por dia de desafio após o tratamento					
	1	2	7	14	21	28
Pescoço	2 ^a ± 3,4*	0,8 ^a ± 1,2	3 ^a ± 3,7	7,3 ^a ± 1,3	8,6 ^a ± 1,8	9,6 ^a ± 0,7
Dorso	2 ^a ± 2,2	0,9 ^a ± 1,4	1,6 ^a ± 1,8	5 ^a ± 4,1	6,4 ^a ± 5	8,6 ^a ± 3,5
Base da cauda	4,8 ^b ± 3	5,6 ^b ± 2,6	6 ^a ± 3,5	7,5 ^a ± 3,4	9,1 ^a ± 1,4	9 ^a ± 1,2
Lado direito	0,9 ^a ± 1,1	0,3 ^a ± 0,7	3,1 ^a ± 3,5	5,5 ^a ± 2,9	8,4 ^a ± 3,5	9,8 ^a ± 0,7
Lado esquerdo	0,8 ^a ± 1	0,6 ^a ± 1,4	2,6 ^a ± 3	4,4 ^a ± 3,2	8,6 ^a ± 2,5	8,1 ^a ± 3,4

*Desvio padrão; Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 26. Avaliação da dispersão em pelo de cobertura de diferentes regiões do corpo de cães tratados com a formulação teste de fipronil a 10% de uso tópico.

Regiões	Número médio de pulgas vivas por dia de desafio após o tratamento					
	1	2	7	14	21	28
Pescoço	2,1 ^{ab} ± 2,5*	1 ^{ab} ± 1,8	2,9 ^{ab} ± 3,2	4,3 ^{ab} ± 2,4	9,6 ^a ± 0,5	9,5 ^a ± 0,9
Dorso	0,6 ^a ± 1,2	0 ^a ± 0	0,3 ^a ± 0,5	2,9 ^a ± 2,9	7,8 ^a ± 3,1	7,6 ^a ± 3,9
Base da cauda	3,1 ^b ± 3,2	2,4 ^b ± 3	5,1 ^b ± 3,3	8,3 ^b ± 1,5	8,9 ^a ± 1,8	9,4 ^a ± 0,9
Lado direito	0,4 ^a ± 0,7	0 ^a ± 0	3 ^{ab} ± 3,5	5 ^{ab} ± 3,3	9,1 ^a ± 1,7	10 ^a ± 0
Lado esquerdo	0,8 ^a ± 0,7	0,3 ^a ± 0,7	1,9 ^{ab} ± 2,9	4,8 ^{ab} ± 3,7	9,5 ^a ± 1,1	9,8 ^a ± 0,7

*Desvio padrão; Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 27. Influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil 10% de uso tópico no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* em cães.

Grupo/ Animal	Número total de pulgas vivas após o tratamento por dia de desafio							
	+ 3	+7	+14	+21	+28	+35	+42	+49
Controle								
288786	11	50	39	76	40	87	77	40
247335	35	40	40	63	49	79	54	44
281410	50	56	56	69	69	67	75	73
261090	27	76	76	42	45	47	43	90
261482	29	65	65	37	71	77	71	78
296603	21	39	39	44	55	68	42	36
Média±DP¹	28,8^a±13,2	54,3^a±14,5	52,5^a±15,8	55,2^a±16,2	54,8^a±12,8	70,8^a±13,8	60,3^a±16	60,2^a±22,9
Sem banho								
281461	0	0	0	0	1	17	-	-
266524	0	0	0	1	0	22	-	-
299972	0	0	0	0	0	5	-	-
297253	0	0	0	0	4	30	-	-
283023	0	0	0	0	7	30	-	-
299495	0	0	0	0	0	35	-	-
Média±DP	0^b±0	0^b±0	0^b±0	0,2^b±0,4	2^{bc}±2,9	23,2^b±11	-	-
Eficácia(%)	100	100	100	99,5	96,4	67,3	-	-
Banho único								
250823	0	0	0	0	0	0	10	6
269446	0	0	0	0	0	3	3	15
078122	0	0	0	0	0	0	1	19
273503	0	0	0	0	0	3	0	16
258090	0	0	0	0	0	1	2	20
258139	0	0	0	0	0	0	2	30
Média±DP	0^b±0	0^b±0	0^b±0	0^b±0	0^b±0	1,2^c±1,5	3^b±3,6	17,7^b±7,8
Eficácia(%)	100	100	100	100	100	98,4	95	70,6
Banho semanal								
279853	0	0	0	0	29	80	-	-
294174	2	0	0	0	3	32	-	-
273377	0	0	0	0	4	38	-	-
269385	0	0	0	0	4	47	-	-
275819	0	0	0	0	0	14	-	-
274848	0	0	0	0	3	26	-	-
Média±DP	0,3^b±0,8	0^b±0	0^b±0	0^b±0	7,2^c±10,8	39,5^{ab}±22,7	-	-
Eficácia(%)	98,8	100	100	100	86,9	44,2	-	-

¹Desvio Padrão; Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Tabela 28. Influência do banho na eficácia da formulação teste de fipronil 10% de uso tópico no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães.

Grupo/ Animal	Número total de carrapatos vivos após o tratamento por dia de desafio						
	+ 3	+7	+14	+21	+28	+35	+42
Controle							
288786	38	43	36	38	32	49	54
247335	20	41	28	43	25	38	40
281410	38	47	33	34	50	39	34
261090	31	45	32	20	32	35	18
261482	40	48	45	32	31	50	37
296603	39	46	40	39	32	43	26
Média±DP¹	34,3^a±7	45^a±2,6	35,7^a±6,1	34,3^a±8	33,7^a±8,5	42,3^a±6,1	34,8^a±12,3
Sem banho							
281461	0	0	0	8	8	6	-
266524	0	0	0	4	3	59	-
299972	0	0	0	3	7	22	-
297253	0	0	0	2	12	6	-
283023	0	0	0	1	7	12	-
299495	0	0	0	2	2	22	-
Média± DP	0^b±0	0^b±0	0^b±0	3,3^b±2,5	6,5^{bc}±3,6	21,2^b±19,9	-
Eficácia(%)	100	100	100	90,3	80,7	50	-
Banho único							
250823	0	0	0	1	8	15	13
269446	0	0	0	4	5	14	8
078122	0	0	0	1	0	12	14
273503	0	0	0	1	3	7	4
258090	0	0	0	7	0	9	12
258139	1	0	0	3	1	17	26
Média	0,2^b±0,4	0^b±0	0^b±0	2,8^b±2,4	2,8^{bc}±3,2	12,3^b±3,8	12,8^b±7,4
Eficácia(%)	99,5	100	100	91,8	91,6	70,9	63,2
Banho semanal							
279853	0	0	1	18	26	35	-
294174	0	0	0	4	5	20	-
273377	0	0	0	0	13	19	-
269385	0	0	1	12	16	13	-
275819	0	0	0	3	7	29	-
274848	0	0	0	2	16	33	-
Média	0^b±0	0^b±0	0,3^b±0,5	6,5^b±6,4	13,8^{ac}±7,5	24,8^{ab}±8,8	-
Eficácia(%)	100	100	99,1	81,1	58,9	41,3	-

¹Desvio Padrão; Médias com letras iguais não diferem significativamente (P>0,05).

Não houve diferença significativa entre as médias dos grupos tratados até o dia +21 ($P > 0,05$), porém todas diferiram do número médio de carrapatos do controle ($P \leq 0,05$). No dia +28, a média do grupo sem banho não diferiu das médias dos grupos banho único e banho semanal, mas estas diferiram entre si. Neste mesmo dia de desafio a média do grupo controle não diferiu do grupo banho semanal, mas diferiu das médias dos outros dois grupos tratados. As médias do grupo tratado banho semanal e do grupo controle diferiram significativamente ao final dos 42 dias de experimentação.

4.6 Segurança Clínica do Uso da Formulação Teste de Fipronil 10%

4.6.1 Cães

Dentre os 72 cães tratados, nenhum animal apresentou alteração em decorrência do tratamento com a formulação teste de fipronil, ou seja, não induziu nenhuma alteração clínica quando observados imediatamente após administração do medicamento e novamente as 24 e 48 horas e sete dias após o tratamento.

4.6.2 Gatos

O tratamento de 50 gatos de diferentes idades e raças, com a formulação teste de fipronil, não induziu nenhuma alteração clínica nos animais medicados, quando observados imediatamente após administração do medicamento e novamente as 24 e 48 horas e sete dias após o tratamento. Incluindo gatos com idade inferior a três meses.

5 DISCUSSÃO

5.1 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Gatos

Verificou-se que as eficácias obtidas para os grupos tratados com a formulação em teste e a formulação referência de fipronil foram equivalentes até o dia +42, ou seja, ao final da sexta semana pós-tratamento. Podendo ser considerado um bom período de proteção contra reinfestações.

Medleau et al. (2002) empregaram três tratamentos com intervalos mensais em gatos obtiveram eficácia de 75, 73, 85 e 94% nos dias +14, +30, +60 e +90, respectivamente. O intuito do presente estudo foi avaliar a eficácia de ambas as formulações testadas empregando-se apenas um tratamento e, assim, acompanhar o período de proteção contra reinfestações conferido por estas. No entanto, podem ser confrontados os resultados obtidos para o dia + 14, pois até tais períodos observacionais as metodologias empregadas foram equivalentes. Portanto, pode-se afirmar que as eficácias tanto para formulação em teste quanto para a formulação referência de fipronil foram de 100%, superiores aos 75% obtidos por tal estudo. Quando comparada a eficácia obtida por Medleau et al. (2002) no dia + 30, pode-se confrontá-las com os índices de eficácia alcançados nos dias +28 e +35 do presente estudo, 95,1 e 86,6%, respectivamente para formulação em teste e, 89,6 e 74,6% para a formulação referência, ainda superiores.

Alguns estudos avaliam principalmente o efeito de morte rápida do inseto exercido pelo inseticida. Schenker et al. (2003) afirmaram, que o fipronil “top spot” 10% apresentou eficácia de 24,3 e 62,2% nos intervalos de três e oito horas após o tratamento em gatos.

Franc e Yao (2007) avaliaram a eficácia adulticida da mesma formulação referência de fipronil no controle de *C. felis felis* e *C. f. strongylus* em gatos, comparativamente com as eficácias da selamectina e do imidacloprid. Estes empregaram uma metodologia bastante semelhante à do presente estudo, sendo apenas diferente quanto aos dias de reinfestações e avaliações. O fipronil obteve eficácia de 100% para ambas as subespécies entre os dias +9 e + 37, corroborando em parte com os resultados do presente estudo, pois apresentou mais elevados níveis de eficácia em torno da quinta e sexta semanas após o tratamento. Assim sendo, a proteção contra reinfestações pode ser considerada mais efetiva.

Payne et al. (2001) avaliaram uma formulação spray contendo fipronil 0,29% em pulgas de três diferentes linhagens laboratoriais. Obtendo eficácias superiores a 98,2% para todas as linhagens até o dia + 16. No dia +23, duas linhagens continuaram com eficácia acima de 98,4% e outra 88,8%, diferindo significativamente das demais, porém ainda sendo considerada elevada. No último dia de avaliação, dia +30, a eficácia do fipronil diferiu significativamente entre todas as linhagens, porém permaneceram superiores a 77,3%. Além de empregarem uma formulação spray, e de os dias de infestação e avaliação não coincidirem com os do presente ensaio, ambos sendo com dois dias de atraso, os índices de eficácia mostraram-se satisfatórios e similares até a quarta e quinta semanas após tratamento. Adicionalmente, tal trabalho mostra que diferentes linhagens de pulga podem apresentar diferentes susceptibilidades ao fipronil, o que reforça a necessidade de testes com as mesmas formulações sejam realizados em diversos países ou regiões de um

mesmo país ou mesmo diferentes linhagens laboratoriais, principalmente quando são testes visando o registro de novas formulações voltadas ao controle de ectoparasitos para o mercado médico-veterinário.

5.2 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

Em relação à atividade carrapaticida das formulações teste e referência de fipronil em cães, ambas obtiveram níveis de eficácia equivalentes até o dia +28, fim da quarta semana. Ao dia +35, a formulação teste apresentou eficácia de 62,6% significativamente superior à alcançada pela formulação referência, demonstrando, assim como ocorrido quanto à atividade pulicida, um maior período residual, conferindo uma semana a mais de proteção contra reinfestações. Apesar de tal índice de eficácia não ser considerado satisfatório, o resultado corrobora com os achados de Otranto et al. (2005) que indicam a necessidade de tratamentos com intervalos de 28 dias para um eficaz controle de *R. sanguineus*. Estes autores verificaram níveis de eficácia de 99,81 e 81,26% para formas adultas e imaturas do carrapato, respectivamente, após dois tratamentos. Ainda, neste sentido, Davoust et al. (2003) indicaram que o emprego de tratamentos mensais em animais naturalmente infestados auxiliam na prevenção da erliquiose monocítica canina em regiões endêmicas.

A eficácia atingida ao dia +2 pode ser comparada aos achados de estudos que avaliam a capacidade do fipronil em ocasionar a morte rápida do artrópode. Cruthers et al. (2001) observaram 100% de letalidade dos parasitos entre 24 e 48 horas após a aplicação da formulação referência em cães, semelhantemente às formulações teste (100%) e referência (92,5%) no presente estudo.

Estrada-Peña e Ascher (1999) realizaram três experimentos comparando a eficácia da formulação referência de fipronil no controle de *R. sanguineus*. No primeiro ensaio, utilizando animais tratados experimentalmente infestados, foi observada uma eficácia de 30,4% ao dia + 7, sendo considerada bastante inferior às reportadas no presente estudo tanto para a formulação teste e referência, que atingiram 100% de eficácia no mesmo período observacional. Em outro ensaio, os animais eram infestados naturalmente, após duas horas de caminhada, com os animais em lugares com alta infestação a cada sete dias, por um período de setenta dias. O percentual de cães livres de *R. sanguineus* foi de 30, 60, 70, 70, 20, 20%, para os dias 2, 3, 14, 21, 28 e 35, respectivamente. Mesmo utilizando infestação natural, considerada um menor desafio ao produto, a eficácia relatada é inferior ao do presente estudo, onde foram relatados níveis de eficácia entre 83,4 e 100% entre os dias +2 e +28 e 62,5% no dia +35 para a formulação teste; e entre 74,6 e 100% para a formulação referência entre os dias +2 e +28.

A eficácia relata por Genchi et al. (1995) que utilizaram o fipronil através de uma formulação spray, no controle de *R. sanguineus*, em cães naturalmente infestados, foi superior ao presente estudo, uma vez que os autores encontraram, para os dias +30, +60 e +80, eficácia de 96, 95 e 100%, respectivamente. Além disso, o período residual tão prolongado pode ser explicado pelo uso de animais naturalmente infestados, sendo um desafio menor que sucessivas reinfestações artificiais.

Fernandes (2005) empregou formulações spray 0,25% de fipronil e uma formulação “top spot” contendo a anteriormente citada associação de fipronil com metoprene no controle de *R. sanguineus*. As eficácias atingidas para os dias + 2 e +7 para as formulações spray e “top spot” foram 80,2 e 94,1 e 82,9 e 88,2%, respectivamente. Seus resultados

foram um pouco inferiores aos obtidos no presente estudo visto que as eficácias para ambas as formulações empregadas no presente estudo foram de 100% para a formulação teste nos dias +2 e +7 e de 92,5 e 100% para a formulação referência nos mesmos dias de avaliação.

Já Hellmann et al. (2003) empregaram a formulação referência, comparando com a associação do imidacloprid 10% a permetrina 50%, no controle de cães naturalmente infestados com os carrapatos *R. sanguineus* e *I. ricinus*. O fipronil apresentou eficácia de 80, 90, 92, 88 e 87% no controle de *R. sanguineus* para os dias +2, +7, +14, +21 e +28 respectivamente, resultados bastantes semelhantes aos encontrados no presente estudo tanto para a formulação teste quanto para a formulação referência.

Young et al. (2003) utilizaram o fipronil 9,8% associado ao metoprene 8,8% e “spot-on” para avaliar a capacidade de repelência dos produtos, bem como sua capacidade adulticida, no controle de *R. sanguineus* em infestações artificiais. Quanto à eficácia carrapaticida, o produto empregado obteve resultados bastante inferiores aos do presente estudo, pois foram relatados baixos índices de eficácia: 25,9% no dia +3 e 56,8% no o dia +7, resultados abaixo dos 100% alcançados pela formulação teste nos dias +2 e +7 e dos 92,5 e 100% para a formulação referência em dias equivalentes de avaliação.

Mc Call et al. (2004) empregaram uma formulação “top spot” contendo a já referida associação do fipronil com o IGR metoprene para o controle de *R. sanguineus* em cães atingindo eficácias de 98,6 e 91,1% nos dias + 21 e + 28, respectivamente. Tais níveis de eficácia podem ser considerados um pouco superiores aos alcançados no presente estudo pela formulação teste (90,23 e 83,4%, respectivamente), e mais distantes das eficácias da formulação referência (74,6 e 76,1%, respectivamente). Já Dryden et al. (2006), empregando a mesma combinação, avaliaram a eficácia carrapaticida do produto atingindo nos dias 3, 7, 14, 21 e 28 pós-tratamento uma eficácia de 100, 100, 100, 91,9 e 86,3%, respectivamente, realizando avaliações 48 horas após as infestações. Tais resultados são muito próximos aos níveis de eficácia residual atingidos para a formulação teste para os mesmos períodos, demonstrando um aspecto semelhante quanto à proteção à reinfestações em animais tratados.

Schuele et al. (2008) empregando o, também fenilpirazol, pirirole no controle de infestações por *R. sanguineus* em cães demonstraram que a droga mantém altos níveis de eficácia por até um mês após o tratamento. Estes realizaram dois experimentos, obtendo índices de eficácia entre 99,3 e 100% efetuando avaliações entre os dias +9 e +30; e 96,8 e 100% entre os dias +4 e +30. Tais índices são comparáveis aos apresentados, principalmente, pela formulação teste empregada no presente estudo, uma vez que as eficácias foram acima de 90% até ao menos o dia +21. O pirirole demonstrou ser tão eficaz quanto o fipronil no controle desta espécie de carrapato, mantendo satisfatórios níveis de eficácia por no mínimo um mês, demonstrando um mais longo período contra reinfestações.

5.3 Eficácia de uma Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Cães

Já em cães, ambas as formulações obtiveram eficácias equivalentes até o dia +28, fim da quarta semana. No entanto, ao dia + 35 a eficácia da formulação referência decaiu para 72,5%, estatisticamente diferindo da eficácia atingida formulação em teste, que foi de 91,6%. Portanto, pode-se dizer que a formulação em teste apresentou um maior período residual, conferindo uma semana a mais de proteção contra reinfestações. No entanto,

segundo Dryden et al. (2000), o protocolo mais indicado e utilizado para o controle de pulgas em cães e gatos com a formulação referência de fipronil estabelece a necessidade tratamentos mensais para a obtenção de melhores resultados, o que reforça a eficácia da formulação teste, requerendo, portanto, aplicações mensais.

Cruthers et al. (2001) avaliaram apenas a rapidez com que a formulação referência de fipronil mata pulgas *C. felis felis* em cães, obtendo eficácia de 100% para o segundo dia após o tratamento, resultado semelhante ao obtido no presente estudo, já que a formulação teste e a referência de fipronil atingiram eficácias de 100 e 99,8% na avaliação efetuada no dia +2.

Young et al. (2004) avaliaram a eficácia adulticida da formulação referência e de um associação de fipronil com o IGR S- metoprene no controle de *C. felis felis* em cães. Obtiveram em ambos os tratamentos eficácias bastante próximas a 100% até a quinta semana, porém as eficácias permaneceram elevadas até a sexta e sétima semanas após tratamento, conferindo um maior período contra reinfestações quando comparados aos alcançados pelas formulações teste e referência no ensaio em questão. Além disso, pode-se inferir que a eficácia adulticida da associação ao IGR não diferiu das formulações contendo apenas o fipronil empregadas tanto no trabalho de Young et al. (2004) quanto no presente trabalho pois o metoprene não apresenta atividade adulticida, sendo os índices de eficácia resultado da ação do fenilpirazol.

Barnett et al. (2008) empregaram o novo fenilpirazol, piriprole, contra a pulga do gato em diversos ensaios avaliando sua eficácia tanto contra estágios imaturos quanto adultos. Num ensaio avaliando a velocidade em que a droga mata o inseto (“speed of kill”) a droga atingiu entre 96,5 e 100% até 48 horas após o tratamento, resultados que conferem com os do estudo em questão ao mesmo período de avaliação. Avaliando a atividade adulticida desta molécula num ambiente simulando um domicílio, ou seja, com parte do chão acarpetado, obtiveram níveis de eficácia entre 96,5 e 100% por até sete semanas após o tratamento, demonstrando que esta nova droga pertencente à mesma classe de inseticidas, pode apresentar um período residual mais longo que o fipronil.

5.4 Eficácia Residual em Pelo de Cobertura de Cães Tratados com uma Formulação Teste de Fipronil 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis*

Através da avaliação da atividade residual do fipronil sobre pulgas adultas expostas ao pelo de cobertura dos animais tratados demonstrou-se que houve considerável eficácia sobre formas adultas de *C. felis felis* até o dia +7, sendo considerada mediana ao dia +14 e decaindo consideravelmente nos dias + 21 e +28. Tais dados sugerem que os pelos que se desprendem de animais tratados podem auxiliar no controle de pulgas presentes no ambiente que por ventura entrem em contato com pelos de animais tratados, uma vez que fora do hospedeiro, tais parasitos se encontram preferencialmente nos locais em que os animais dormem como carpetes, camas e casas; locais estes onde há acúmulo de pelo, promovendo o contato destes com formas evolutivas e adultos do sifonáptero. Mais curto período de eficácia residual quando comparado aos testes *in vivo* é esperado, pois quando as pulgas mantem contato direto com animal para fazer repasto sanguíneo, estas além de ficar mais tempo sobre o hospedeiro, refletindo num maior tempo de exposição ao fipronil; ainda entram em contato com o produto presente não só nos pelos, mas também na camada de gordura presente na pele dos animais, onde o fipronil persiste em altas concentrações, uma vez que é armazenado nas glândulas sebáceas sofrendo gradual liberação, conforme reportado por Meo et al. (1996) e Tanner et al. (1997). Mesmo os baixos níveis relatados a

partir do dia +14, ainda podem ser considerados de certo modo relevantes já que constituem apenas uma forma de controle ambiental das formas adultas, larvares e ovos de pulgas, adicionalmente ao controle adulticida desejado com o tratamento, como salientado por Mehlhorn et al. (2001) e Correia et al. (2008).

Quanto à dispersão dos produtos por diferentes áreas do corpo dos animais tratados puderam ser observadas diferenças tanto entre as formulações teste e referência quanto em relação às áreas avaliadas. Isso se refletiu nos níveis de eficácia obtidos para cada área de cada animal em cada período de avaliação. No entanto, de maneira geral, foi demonstrado que a formulação apresenta padrão de dispersão similar ao mostrado pela formulação referência, atingindo as diversas áreas avaliadas. Tais resultados corroboram com estudos de Tanner et al. (1997) que demonstram que o fipronil é amplamente distribuído no estrato córneo, epiderme e unidades pilosebáceas de animais tratados.

A atividade larvicida apresentada pela formulação teste de fipronil presente no pelo de animais tratados foi bastante elevada para os dias +2 e +21. Para os dias + 7 e + 14 a eficácia larvicida foi considerada mediana. A atividade residual foi considerada curta. Tais resultados foram inferiores aos de Correia et al. (2008), no qual o dinotefuran demonstrou efeito larvicida por todos os 44 dias após o tratamento.

A atividade ovicida apresentada pela formulação teste de fipronil presente no pelo de animais tratados foi bastante elevada até o dia +21. Decaindo para mediana ao dia +28. Pode-se considerar que a formulação teste demonstrou ótima eficácia larvicida acompanhada de um período residual satisfatoriamente longo.

Os resultados dos ensaios *in vitro* que avaliaram a velocidade de morte através da exposição de pulgas adultas aos pelos de animais tratados com a formulação teste de fipronil demonstraram uma boa ação da droga, levando a totalidade de pulgas à morte a partir de 16 horas até o dia +21, porém a maior parte já estava morta após 8 horas de exposição. No dia +28, quase a totalidade estava morta em 16 horas e todas em 24 horas. No dia +35, em 24h quase a totalidade de adultos também já havia morrido. Demonstrando, assim, a prolongada atividade residual apresentada pela formulação teste de fipronil.

São escassos os trabalhos que avaliam o efeito do ectoparasiticida presente no pelo de animais tratados com fipronil ou outras formulações ectoparasiticidas sobre adultos e formas imaturas de *C. f. felis*. A eficácia residual observada no presente estudo é superior a encontrada por Mehlhorn et al. (2001), que empregaram a formulação referência em cães, expondo as pulgas ao contato direto com o animal por meio de placas de Petri presas às laterais do corpo, no qual a maioria das pulgas se encontrava mortas decorridas 24 e 29 horas, contudo algumas permaneceram vivas após tal período. Correia et al. (2008), empregando a mesma metodologia do presente estudo, avaliaram a atividade do neonicotinóide dinotefuran, também provocando a morte da maioria das pulgas expostas ao pelo de animais tratados entre 16 e 24 horas.

5.5 Influência do Banho na Eficácia da Formulação Teste de Fipronil 10% no Controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em Cães

Os resultados demonstraram que não houve influência negativa do banho, seja ele único ou realizado semanalmente até 21 dias após o tratamento com a formulação teste de fipronil. Após o dia +28 as eficácias do grupo sem banho e com banhos semanais decaíram para 96,4 e 86,9%, prosseguindo de 100% no grupo com banho único. Apesar de significativamente diferentes, tais níveis de eficácia ainda se mantiveram satisfatórios, o

que corrobora com a literatura consultada. Uma vez que a aplicação de produtos como este é recomendada mensalmente, o banho único ou semanal não demonstrou influência negativa na atividade pulicida. As reinfestações e, por conseguinte, avaliações foram interrompidas à quinta semana (dia +35) para os grupos sem banho e com banho semanal quando as eficácias não mais se apresentaram satisfatórias. No entanto, tais reinfestações prosseguiram por mais duas semanas (dia +35 e +42) no grupo com banho único, atingindo eficácia satisfatória até o final da sexta semana, decaindo na avaliação realizada à sétima semana. Já para o grupo com banho único, este se mostrou mais longo. Como descrito por Meo et al (1996) e Tanner et al. (1997), a distribuição do fipronil através da epiderme e das unidades pilosebáceas permite seu armazenamento nas glândulas sebáceas e sua gradual liberação via ductos foliculares, tão logo, os banhos não haviam interferido no armazenamento do fipronil estocado nas glândulas sebáceas. Talvez, os banhos semanais tenham causado algum efeito deletério auxiliando na remoção de parte do fipronil contido nas glândulas ou já liberados no pelo dos animais, em médio prazo. O banho único, no entanto, parece ter permitido sua persistência em altas concentrações na cobertura pilosa dos cães por um período mais longo. O período residual da atividade adulticida da formulação teste de fipronil nos grupos sem banho ou com banhos semanais foram compatíveis com a literatura consultada, uma vez que outros autores demonstraram que lavagens da pele e a utilização de xampus não interferem na atividade adulticida do fipronil consistindo numa boa indicação para animais que nadam ou necessitam de banhos frequentes (GORTEL, 1997; CUNNINGHAM; RYAN, 1999).

Tais resultados também são semelhantes aos de Schuele et al. (2008), empregando o também fenilpirazol, piriprole, que obtiveram eficácia em torno de 100% mesmo submetendo os animais a lavagens com água semanais por até um mês após o tratamento.

O desafio de lavagem e, conseqüentemente, remoção da droga do pelo e pele dos animais foi menor comparando-se com o presente estudo uma vez que a atividade lipofílica do xampu tem a capacidade de retirar o excesso de gordura destes, juntamente com parcela da droga armazenada.

Em relação à influência do banho na eficácia do fipronil sobre carrapatos, os níveis de eficácia dos grupos sem banho, banho único e com banho semanal se mostraram satisfatórias até a terceira semana de avaliação para todos os grupos. Porém, no grupo que sofreu banhos semanais, a eficácia se mostrou insatisfatória na avaliação ao dia + 28. Os demais grupos, sem banho ou banho único, apresentaram bons índices até esta data. Tão logo, foi demonstrado que o banho único não exerce influência negativa na atividade adulticida do fipronil sobre carrapatos, quando comparado aos níveis atingidos no grupo que não sofreu banho. Em contrapartida, no grupo com banhos semanais, sugere-se que a ação do xampu, quando aplicado semanalmente, pode ter influenciado negativamente os níveis de fipronil armazenados nas glândulas sebáceas e presente no pelame dos animais, já que conferiu um maior desafio à manutenção da droga, refletindo possivelmente na mais prematura redução da eficácia. É importante salientar que banhos semanais são contraindicados para cães, pois causam efeitos negativos tanto ao pelo quanto a pele do animal, devendo ser evitados. De modo geral, os resultados de eficácia corroboram com a literatura. Porém, a escassez de dados ou a descrições incompletas na metodologia impossibilitam comparações detalhadas. Everett et al. (1997), avaliando o efeito da imersão em água e banho com xampu sobre a formulação referência de fipronil, afirmam que em cães expostos à lavagem com xampu a eficácia foi de 100% até o dia +23, decaindo para 89,7 e 65,1% nos dias + 37 e +51, respectivamente. A imersão em água promoveu um declínio na eficácia após o dia +37. Tanner et al. (1997), empregando uma formulação spray de fipronil a 0,25% reportam que a eficácia carrapaticida foi de 100% ao

dia +9, e acima de 90% nos dias +16 e +30 e acima de 80% nos dias +1, +23 e +44, concluindo que o emprego de xampus talvez reduza a eficácia residual do produto investigado. Neste caso, o emprego de uma formulação spray pode explicar uma maior redução nos níveis de eficácia, uma vez que pode ser mais facilmente retirada da pelagem.

Mais recentemente, Schuele et al. (2008) empregando o fenilpirazol piriprole não observaram diferença entre os níveis de eficácia do produto em cães que sofreram lavagem ou banho com xampu único ao longo de um mês de experimentação. Adicionalmente, os mesmos autores demonstraram que a um banho único com xampu também não afetava a eficácia do fenilpirazol, obtendo níveis de eficácia próximos a 100% por até cinco semanas após o tratamento, o mesmo ocorreu com o grupo equivalente no presente estudo.

5.6 Segurança Clínica do Uso da Formulação Teste de Fipronil 10%

Como os cães e gatos não apresentaram reações adversas à formulação teste de fipronil segundo os ensaios clínicos controlados, tal produto demonstrou altos níveis de segurança para o uso em cães e gatos corroborando com Dryden et al. (2000) e Jacobs et al. (2001), empregando a formulação referência.

Nos ensaios para avaliação da segurança clínica da formulação teste de fipronil não foram incluídos três gatos com menos de três meses de idade e cães com menos de 1 kg de peso, como contra-indicado por Andrade e Santarém (2002) para a formulação referência, pois estes se apresentam susceptíveis a reações adversas.

Como relatado na literatura tal droga apresenta ampla margem de segurança em virtude da diferença estrutural do receptor GABA dos invertebrados e dos vertebrados, apresentando especificidade bem maior pelos canais de cloro dos insetos, sendo bem mais tóxicos para estes parasitos (PAYNE et al., 2001; HOVDA; HOOSER, 2002).

6 CONCLUSÕES

As formulações teste e referência de fipronil a 10% são eficazes no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* em cães e gatos.

As formulações teste e referência de fipronil a 10% são eficazes no controle de adultos de *Rhipicephalus sanguineus* em cães.

O resíduo de fipronil presente em pelo de cobertura de cães tratados com as formulações teste e referência foi eficaz no controle de adultos de *C. felis felis* por um período de 35 dias.

O resíduo de fipronil presente em pelo de cobertura de cães tratados com as formulações teste e referência foi capaz de inibir a eclosão das larvas e a emergência de adultos de *C. felis felis* por um período de 21 dias.

Não houve diferença nos níveis de eficácia entre as formulações teste e referência de fipronil.

A aplicação de banho nos cães antes do tratamento influenciou negativamente a eficácia carrapaticida e não influenciou a eficácia pulicida.

Os banhos semanais não influenciaram nas eficácias carrapaticida e pulicida, visto que a recomendação para o tratamento é mensal.

A formulação teste de fipronil a 10% não apresentou toxicidade e pode ser empregada com segurança em cães e gatos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S. F.; SANTARÉM, V. A. Endoparasiticidas e ectoparasiticidas. In: ANDRADE, S. F. *Manual de Terapêutica Veterinária*. São Paulo: Roca, 2002. p.437-476.
- ANDRADE, S. F.; TANOUE, E.; ALVES, F. P.; FARIAS, M. R. Uso de fipronil spray no tratamento da escabiose canina. *Colloquium Agrariae*, v.1, n.1, p.25-28, 2005.
- ARAGÃO, H. Notas sobre ixódidas brasileiros. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.3, p.145-195, 1911.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de ixodologia VIII- Lista e chave para representantes da fauna ixodológica brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.59, p.115-129, 1961.
- AVELAR, D.M.; BUSSOLOTTI, A.S.; RAMOS, M.C.A.; LINARDI, P.M. Endosymbiontes 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.
- 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.
- AZAD, A. F.; RADULOVIC, S.; HIGGINS, J. A.; NODEN, B. H.; TROYER, J. M. Flea-borne Rickettsioses: Ecologic Considerations. *Emerging Infectious Diseases*, v.3, n.3, 1997.
- BARNETT, S.; LUEMPFT, L.; SCHUELE, G.; QUEZADA, A.; STREHLAU, G.; DOHERTY, P. Efficacy of pyriprole topical solution against the cat flea, *Ctenocephalides felis*, on dogs. *Veterinary Therapeutics*, v.9, n.1, p.4-14, 2008.
- BEARD, C.; BUTLER, J.F.; HALL, D.W. Prevalence and biology of endosymbionts of fleas (Siphonaptera: Pulicidae) from dogs and cats in Alachua County, Florida. *Journal of Medical Entomology*, v. 27, n. 6, p. 1050-1061, 1990.
- BECK, W. Case report: head mange in a cat caused by *Notoedres cati* (Acari: Sarcoptidae) – biology of *Notoedres cati*, pathogenesis, clinical features, diagnosis and treatment. *Kleintierpraxis*, v. 45, n. 9, p. 715-722, 2000.
- BORDEAU, W. Treatment of a case of canine sarcoptic mange using fipronil. *Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, v. 33, n. 6, p. 521-526, 1998.
- BORDEAU, W.; HUBERT, B. Treatment of 36 cases of canine *Sarcoptes* using a 0.25% fipronil solution. *Veterinary Dermatology*, v. 11. suppl. 1, p. 27, 2000.

CADIERGUES, M. C.; CAUBET, C.; FRANC, M. Comparison of the activity of selamectin, imidacloprid and fipronil for the treatment of dogs infested experimentally with *Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis felis*. *Veterinary Record*, v. 149, n.23, p. 704-706, 2001.

CHADWICK, A. J. Use of a 0.25 per cent fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis. *Journal of Small Animal Practice*, v. 38, n.6, p. 261-262, 1997.

CHANDLER, G. T.; TAWNIA, C.; VOLZ, D.; SPENCER, W.; FERRY, J. L.; KLOSTERHAUS, S. L. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility and reproduction: a rapid life cycle assay in 96-well microplate format. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 23, n. 1, p. 117-124, 2004.

CLARE, F.; MELLO, M. L. C.; BASTOS, T. V.; LESSA, C.; CONCEIÇÃO, L. G. Use of fipronil for treatment of *Lynxacarus radovskyi* in outdoor cats in Rio de Janeiro (Brazil). *Veterinary Dermatology*, v. 15, suppl. 1, p. 50, 2004.

COOPER, P. R.; PENALIGGON, J. Use of fipronil to eliminate recurrent infestation by *Trichodectes canis* in a pack of bloodhounds. *Veterinary Record*, v. 139, n.4, p. 95, 1996.

CORREIA, T.R.; SOUZA, C.P.; FERNANDES, J.I.; MARTINS, I.V.F.; SANTOS, H.D.; SCOTT, F.B. Ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) a partir de diferentes dietas artificiais. *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 5, n. 2, p. 153-160, 2003.

CORREIA, T.R.; CRUZ, V.P. DA; RIBEIRO, F. DE A.; MELO, R.M.P.S.; FERNANDES, J.I.; VEROCAI, G.G.; SCOTT, F.B. Atividade residual *in vitro* do pêlo de cobertura de cães tratados com dinotefuran sobre larvas e adultos de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché,1835) (Siphonaptera: Pulicidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n.4, p.195-199, 2008.

COUTINHO, M. T. Z.; BUENO, L. L.; STERZIK, A.; FUJIWARA, R. T.; BOTELHO, J. R.; MARIA, M.; GENARO, O; LINARDI, P. M. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, v. 128, n.1-2, p. 149–155, 2005.

COUTINHO, M. T. Z.; LINARDI, P. M. Can fleas from infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? *Veterinary Parasitology*, v. 147, n.3-4, p. 320–325, 2007.

CRUTHERS, L.; SLONE, R. L.; GUERRERO, J.; ROBERTSON-PLOUCH, C. Evaluation of the speed of kill of fleas and ticks with Frontline® Top Spot™ in dogs. *Veterinary Therapeutics*, v.2, n. 2, p. 170-174, 2001.

CUNNINGHAM, J. R.; RYAN, W. G. Comparação entre fipronil (top spot) e imidacloprid (spot on) no controle de infestações por pulgas quando aplicados logo após banho com xampu. *A Hora Veterinária*, v.19, n. 109, p.15-18, 1999.

CURTIS, C. F. Use of 0.25 per cent fipronil spray to treat sarcoptic mange in a litter of five-week-old puppies. *Veterinary Record*, v.139, n.2, p. 43-44, 1996.

CURTIS, C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats. Part 2. *In Practice*, v.21, p.448-454, 1999.

CURTIS, C. F. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, v. 15, .2, p. 108-114, 2004.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEIREDO, L. A. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. *Veterinary Parasitology*, v. 141, n.3-4, p. 197–203, 2006.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, v. 152, n.3-4, p. 173–185, 2008.

DAVOUST, B.; MARIÉ, J. L.; MERCIER, S.; BONI, M.; VANDERWEGHE, A.; PARZY, D.; BEUGNET, F. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. *Veterinary Parasitology*, v. 112, n.1-2, p. 91-100, 2003.

DRYDEN, M. W. Biology of fleas of dogs and cats. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.15, n.4, p.569-579, 1993.

DRYDEN, M.W.; PRESTWOOD, A. K. Successful flea control. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian* , v. 15, n. 6, p. 821-831, 1993.

DRYDEN, M. W.; DENENBERG, T. M.; BUNCH, S. Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. *Veterinary Parasitology*, v.93, n.1, p. 69-75, 2000.

DRYDEN, M. W.; SMITH, V.; PAYNE, P. A.; MC TIER, T. L. Comparative speed of kill of selamectin, imidacloprid, and fipronil-(S)-methoprene spot-on formulations against fleas on cats. *Veterinary Therapeutics*, v.6, n.3, p.228-236, 2005.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A.; HOSTETLER, J.; SMITH, V. Evaluation of an Imidacloprid (8.8% w/w) – Permethrin (44.0% w/w) topical spot-on and a Fipronil (9.8% w/w) – (S)- Methoprene (8.8% w/w) topical spot-on to repel, prevent attachment, and kill adult *Rhipicephalus sanguineus* and *Demacantor variabilis* ticks on dogs. *Veterinary Therapeutics*, v.7, n.3, p.187-198, 2006.

ESTRADA-PEÑA, A.; ASCHER, F. Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical 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. 1799-803, 1999.

ESTRADA-PEÑA, A. Efficacité compare de l'Amitraz, du Propoxur, du Fipronil et de la Deltaméthrine contre La tique du chien, *Rhipicephalus sanguineus*. *Révue de Médecine Veterinaire*, v.156, n.3, p.125-128, 2005.

- EVERETT, R.; CUNNINGHAM, J.; TANNER, P; JEANNIN, P. C. An investigative study to evaluate the effect of water immersion or shampooing on the efficacy of Frontline Top Spot. *Proceedings of The North American Veterinary Conference*, p.91, 1997.
- FERNANDES, J. I. Eficácia do piretróide d-fenotrina e do fipronil no controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em cães. 2005. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- FRANC, M.; YAO, K. P. Comparison of the activity of selamectin, imidacloprid, and fipronil for the treatment of cats infested experimentally with *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides felis strongylus*. *Veterinary Parasitology*, v.143, n.2, p.131-133, 2007.
- GENCHI, C.; DI SACCO, B.; CALDERONE, A.; OLDANI, G.; CALLEGARI, M.; MORELLI, M.; VENCO, G.; DEL MASO, R. Efficacy of fipronil in a spray (Frontline RM) in a treating flea and tick infestations on dogs. *Professione Veterinaria*, v.1S, p.19-22, 1995.
- GILLES, J.; JUST, F. T.; SILAGHI, C.; PRADEL, S.; PASSOS, L. M. F.; LENGAUER, H.; HELLMANN, K.; PFISTER, K. *Rickettsia felis* in Fleas, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, v.14, n.8, p.1294-1296, 2008.
- GORTEL, K. Advances in topical and systemic therapy for flea control in dogs. *Canine Practice*, v.22, n.2-3, p. 16-21, 1997.
- HELLMANN, K.; KNOPPE, T.; KRIEGER, K.; STANNECK, D. 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*, n.90, p.S125-S126, 2003.
- HORTA, M. C.; PINTER, A.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; GENNARI, S. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia felis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, n.3, p.321-325, 2005.
- HOVDA, L. R.; HOOSER, S. B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, v. 32, n.2, p. 455-467, 2002.
- HUBERT, B.; BEUGNET, F. Étude comparative de la sélamectine et du fipronil dans le traitement de la gale des oreilles chez le chien. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, v. 36, n.1, p. 75-78, 2001.
- HUTCHINSON, M. J.; FOX, M. T.; JEANNIN, P. C.; POSTAL, J. M. Evaluation of flea control strategies using fipronil on cats in a controlled simulated home environment. *Veterinary Record*, v. 142, n.14, p. 356-357, 1998.

- ITOH, N.; MURAOKA, N. Efficacy of fipronil against *Sarcoptes scabiei* in dogs. *Journal of Veterinary Medicine – Japan*, v. 53, n. 6, p. 472-475, 2000.
- ITOH, N.; ITOH, S. Efficacy of 10% fipronil against infestation of dogs by *Otodectes cynotis*. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, v. 54, n. 4, 279-281, 2001.
- JACOBS, D. E.; HUTCHINSON, M. J.; RYAN, W. G. Control of flea populations in a simulated environment model using lufenuron, imidacloprid or fipronil. *Medical and Veterinary Entomology*, v.25, n.1, p.73-77, 2001.
- JENNINGS, K. A.; KELLER, R. J.; DOSS, R. B. Human exposure to fipronil from dogs treated with Frontline. *Veterinary and Human Toxicology*, v. 44, n. 5, p. 301-303, 2002.
- KORKEJIAN, A.; EDESON, J.F. Studies on naturally occurring filarial infections in dogs in Lebanon. I. *Dipetalonema reconditum*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v. 72, n. 1, p. 65-78, 1978.
- KRÄMER, F.; MENCKE, N. *Flea Biology and Control*. 1 ed., Berlin: Springer, 2001, 192p.
- LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapatos em cães no Brasil. *Revista Clínica Veterinária*, v.6, n. 30, p. 24-32, 2001.
- LEMO, T. D.; PEREIRA, A. B. F. S.; BALTAZAR, J.; VILARDO, F. E. S. Diagnóstico e tratamento do *Lynxacarus radovskyi* no estado do Rio de Janeiro, Brasil- Relato de caso. *Revista da Universidade Rural – Série Ciências da Vida*, v. 23, n. 1, p. 69-70, 2003.
- LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. *Sifonápteros do Brasil*. 1ed. São Paulo: Museu de Zoologia USP/FAPESP, 2000. 291 p.
- LYNN, R. C. Antiparasitic drugs. In: BOWMAN, D. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. 8 ed. St Louis: Saunders, 2003. 422p.
- MARCHIONDO, A. A.; HOLDSWORTH, P. A.; GREEN, P.; BLAGBURN, B. L.; JACOBS, D. E. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of parasites 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.
- MATSUMOTO, K.; BROUQUI, P.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, v.5, n.4, p.363-372, 2005.
- MC CALL, J. W.; ALVA, R.; IRWIN, J. P.; CARITHERS, D.; BOECKH, A. 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. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, v.2, n.1, p.74-77, 2004.

- MEDLEAU, L; HNILICA, K. A.; LOWER, K.; ALVA, R.; CLEKIS, T.; CASE, J.; MC ARTHUR, R.; BARRICK, R. A.; JEANNIN, P. Effect of topical application of fipronil in cats with flea allergic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 221, n.2, p. 254-257, 2002.
- 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*): a light and electron microscopic analysis of *in vivo* and *in vitro* experiments. *Parasitology Research*. v.87, n.3, p.198-207, 2001.
- NUTTALL, T. J.; FRENCH, A. T.; CHEETHAM, A. C.; PROCTOR, F. J. Treatment of *Trombicula autumnalis* infestation in dogs and cats with a 0.25 per cent fipronil pump spray. *Journal of Small Animal Practice*, v.39, n.5, p.237-239, 1998.
- OLIVEIRA, R. P.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; CHAMONE, C. B.; SIMONE, B. CALIC; SILVA, S. U.; WALKER, D. H. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. Fleas, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v.8, n.3, p.317-319, 2002.
- OTRANTO, D.; LIA, R. P.; CANTACESSI, C.; GALLI, G.; PARADIES, P.; MALLIA, E.; CAPELLI, G. 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. 3-4, p. 293–304, 2005.
- OTRANTO, D.; PARADIES, P.; TESTINI, G.; WEIGL, S.; CANTACESSI, C.; MENCKE, N.; CAPRARIIS, D. DE; PARISI, A.; CAPELLI, G.; STANNECK, D. Application of 10% imidacloprid / 50% permethrin to prevent *Ehrlichia canis* exposure in dogs under natural conditions. *Veterinary Parasitology*, v. 158, n.3-4, p. 320–328, 2008.
- OTRANTO, D.; WALL, R. New strategies for the control of arthropod vectors of diseases in dogs and cats. *Medical and Veterinary Entomology*, v.22, n.4, p.291-302, 2008.
- PÉREZ-OSORIO, C. E.; ZAVALA-VELÁZQUEZ, J. E.; LEÓN, J. J. A.; ZAVALA-CASTRO, J. E. *Rickettsia felis* as Emergent Global Threat for Humans. *Emerging Infectious Diseases*, v.14, n.7, p.1019-1023, 2008.
- PÉREZ-TORT, G.; IGLESIAS, M.F.; SIGAL-ESCALADA, G.; SANTIAGO, A. M. Eficacia de una combinación de Fipronil y Metoprene en aerosol en perros. *Veterinaria Argentina*, v.19, n.189, p.710-716, 2002.
- PALMAS, C.; BORTOLETTI, G.; CONCHEDDA, M.; CONTINI, C.; GABRIELE, F.; ECCA, A. R. Study on immunobiology in ectoparasites of public health interest: *Rhipicephalus sanguineus*. *Parassitologia*, v.43, n.1, p.29-35, 2001.
- PAYNE, P. A., DRYDEN, M. W.; SMITH, V; RIDLEY, R. K. 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.

PEREZ-TORT, G.; IGLESIAS, M. F.; SIGAL-ESCALADA, G.; SANTIAGO, A. M. Eficácia de una combinación de fipronil y metoprene en aerosol en perros. *Veterinaria Argentina*, v.19, n.189, p.710-716, 2002.

POLLMEIER, M.; PENGO, G.; LONGO, M.; JEANNIN, P.; Eficácia de fipronil contra ácaros *Sarcoptes scabiei* var. *canis* em cães. *Boletim Técnico Meril*. p. 2, 2000.

POLLMEIER, M., PENGO, G.; JEANNIN, P.; SOLL, M. Evaluation of the efficacy of fipronil formulations in the treatment and control of biting lice, *Trichodectes canis* (De Geer, 1778) on dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 107, n.1-2, p. 127-136, 2002.

POLLMEIER, M., PENGO, G.; LONGO, M.; JEANNIN, P.; Effective treatment and control of biting lice, *Felicola subrostratus* (Nitzsch in Burmeister, 1838), on cats using fipronil formulations. *Veterinary Parasitology*, v. 121, n.1-2, p. 157-165, 2004.

POSTAL, J. M.; 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.

RAUGH, J. J.; LUMMIS, S. C. R.; SATTELLE, D. B. Pharmacological and biochemical properties of insect GABA receptors. *Trends in Pharmacological Science*, v.11, n.8, p.325-329, 1990.

RIBEIRO, A. L.; FACCINI, J. H. L.; DAEMON, E. Estudo das variações morfológicas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) no Brasil. *Revista Universidade Rural- Série Ciências da Vida*, v.18, n.1, p.25-33, 1996.

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.

ROLAIN, J.M.; FRANC, M.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis* and *Wolbachia pipientis* in the cat fleas, France. *Emerging Infectious Disease*, v. 9, n.3, p. 338-342, 2003.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. 1.ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecina, 1998, 265p.

SCARAMPELLA, F.; POLLMEIER, M.; VISSER, M.; BOECKH, A.; JEANNIN, P. Efficacy of fipronil in the treatment of feline cheyletiellosis. *Veterinary Parasitology*, v. 129, n.3-4, p. 333-339, 2005.

SCHENKER, R.; TINEMBART, O.; HUMERT-DROZ, E.; CAVALIERO, T.; YERLY, B. 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.

SCHUELE, G.; BARNETT, S.; BAPST, B.; CAVALIERO, T.; LUEMPFT, L.; STREHLAU, G.; YOUNG, D. R.; MORAN, C.; JUNQUERA, P. 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*). *Veterinary Parasitology*, v. 151, n.3, p. 300-311, 2008.

SINDAN, 2005. Mercado Veterinário 2004 por Espécie Animal e Classes Terapêuticas. Disponível em: < <http://www.sindan.org.br/sindan> >. Acesso em 30 de agosto de 2005.

SMITH, C.A. Current concepts: searching for safe methods of flea control. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 206, n. 8, p. 1137-1143, 1995.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 6 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2001. 1528 p.

SCOTT, F. B., MARTINS, I. V. F.; CORREIA, T. R.; SOUZA, C. P. Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. *A Hora Veterinária*, v.22, n.125, p.13-18, 2002.

SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; MELO, R. M. P. S.; VEROCAI, G. G.; CAVALCANTI, M. C. H.; SCOTT, F. B. Eficácia do fipronil no tratamento da sarna otodécica em cães. *Revista Universidade Rural- Série Ciências da Vida*, v.24, supl.1, p. 23-24, 2004.

TANNER, P. A.; MEO, N. J.; SPARER, D.; BUTLER, S.; ROMANO, M. N.; KEISTER, D. M. Advances in the treatment of heartworm, fleas and ticks. *Canine Practice*, v. 22, n. 2-3, p. 40-47, 1997.

VINCENZI, P.; GENCHI, G. Eficácia do fipronil a 9,7% contra *Otodectes cynotis*. *Boletim Técnico Merial*. p. 3, 2000.

VOBIS, M.; D'HAESE, J.; MEHLHORN, H.; MENCKE, N. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research*, v. 91, n. 6, p. 467-470, 2003.

WIKSWO, M. E.; HU, R.; METZGER, M. E.; EREMEEVA, M. E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. *Journal of Medical Entomology*, v.44, n.1, p.158-162, 2007.

YOUNG, D. R.; ARTHUR, R. G.; DAVIS, W. L. Evaluation of K9 Advantix™ vs. Frontline Plus® Topical Treatments to Repel Brown Dog Ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on Dogs. *Parasitology Research*, n.90, p.S116-S118, 2003.

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.3-4, p. 397-407, 2004.