

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

DISSERTAÇÃO

**Influência do nível de desafio populacional de *Ctenocephalides felis felis*
sobre a eficácia do fipronil em Cães**

Cristiane Nunes Coelho da Rocha

2013



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

INFLUÊNCIA DO NÍVEL DE DESAFIO POPULACIONAL DE
***Ctenocephalides felis felis* SOBRE A EFICÁCIA DO FIPRONIL EM CÃES**

CRISTIANE NUNES COELHO DA ROCHA

Sob orientação do Professor

Fabio Barbour Scott

e Coorientação da Professora

Thaís Ribeiro Correia Azevedo

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

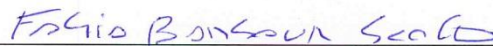
Seropédica, RJ
Novembro, 2013

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

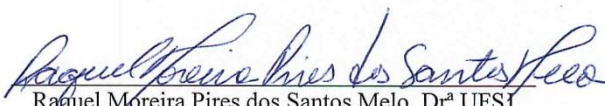
CRISTIANE NUNES COELHO DA ROCHA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

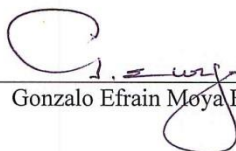
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19 / 11 / 13



Fabio Barbour Scott, Dr., UFRRJ
(Orientador)



Raquel Moreira Pires dos Santos Melo, Dr^a UFSJ



Gonzalo Efrain Moya Borja, Dr., UFRRJ

*Ao meu marido Heitor,
minha mãe e irmãos,
Danielle e Marquinhos.*

*“Que a glória seja dada a Deus, o qual,
por meio do seu poder que age em
nós, pode fazer muito mais do que nós
pedimos ou até pensamos.”*

Efésios 3:20

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS que permitiu mais essa vitória em minha vida.

Aos meus pais, em especial a minha mãe, e meus irmãos, Danielle e Marcus Vinícius, que sempre estiveram comigo me apoiando e ajudando em todos os momentos da minha vida.

Ao meu marido Heitor que esteve comigo pacientemente em mais essa jornada. Agradeço pelo seu amor, carinho, paciência, incentivo e ajuda em todos os momentos.

A Tia Lúcia, Alline, Ronaldo, André e Luciana pelo apoio e motivação nos estudos.

À minha avó Audília, avô José (*in memoriam*), tia Martinha, tia Maria Audília e demais tias, tios e primos pelo amor e carinho em todos os momentos.

Ao meu avô Sebastião, avó Glória (*in memoriam*), tias, tios e primos pelo amor e carinho em todos os momentos.

Aos meus primos Simone e Michel pelo apoio, carinho e amizade.

Aos meus grandes amigos Kelly e Renato pela amizade e presença em minha vida.

Ao Professor Fabio Barbour Scott pela oportunidade de realização de um sonho, orientação e amizade.

Ao Professor Laerte Grisi pela oportunidade, apoio e incentivo.

A Professora Thaís Ribeiro Correia Azevedo pelos ensinamentos, amizade e orientação.

Ao Professor Júlio Israel Fernandes pelo apoio e amizade.

A Professora Katherina Coumendouros pelo carinho e amizade.

De forma especial, agradeço aos amigos do laboratório pela ajuda fundamental na execução deste trabalho, especialmente a Monique Lambert, Lilian Batista, Tiago Abrahão e Rosângela Rodrigues. Aos amigos e colegas de laboratório Pedro Ivan Fazio, Cássio Florêncio, Diego Dias, Elizabeth Santos, Viviane Magalhães, Yara Cid, Alexsandro Santos, Fabrício Nascimento, Renata Assad, Ana Luiza Mattos, Juliana Puig, Natália Cortelleti, Vinícius Carvalho, Maria Clara Botelho, Ary Elias, Pedro Viana, Jéssica Lobato, Hellen Fernandes, Aline Pereira, Milena Batista e Juliana Braga, pela ajuda e amizade.

Agradeço também aos estagiários bolsistas Moisés Santos, Nathalia Vilella, Fernando Sayeg, Ana Carolina Campos, pela amizade e ajuda fundamental na parte prática experimental deste trabalho.

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

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela dedicação, apoio e amizade.

A CAPES pelo apoio financeiro recebido para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Cristiane Nunes Coelho da Rocha, filha de Ilton José Nunes Coelho e Marli da Conceição Daniel Coelho, nascida em 23 de maio de 1981, no município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Cursou o primário no Colégio Estadual João Kopke e o ensino fundamental no Colégio Cenecista João Baptista Ferrine, ambos em Engenheiro Paulo de Frontin, localizado no estado do Rio de Janeiro. O ensino médio foi cursado no Colégio Cenecista Paracambi, localizado no município de Paracambi, no estado do Rio de Janeiro.

No ano de 2001 ingressou no Curso de Zootecnia desta Instituição, diplomando-se em setembro de 2005.

Foi estagiária do Zoológico Municipal de Volta Redonda no setor de alimentação e nutrição de animais silvestres. Também foi estagiária da Fazenda Marambaia no setor de produção de ovinos Santa Inês, no município de Petrópolis, onde mais tarde foi contratada como Zootecnista.

Foi residente do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, entre maio de 2011 a fevereiro de 2012, sob orientação do Professor Laerte Grisi.

Em 2012 foi aprovada no Processo de Seleção para o Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, nível Mestrado, sob orientação do Professor Fabio Barbour Scott e coorientação da Professora Thaís Ribeiro Correia Azevedo, sendo bolsista CAPES entre março de 2012 e setembro de 2013. Em agosto de 2013 foi aprovada para ingresso no doutorado em Ciências Veterinárias pelo Programa de Mudança de Nível CAPES.

RESUMO

COELHO, Cristiane Nunes. **Influência do nível de desafio populacional de *Ctenocephalides felis felis* sobre a eficácia do fipronil em Cães.** 2013. 46 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do nível de desafio populacional de *Ctenocephalides felis felis* sobre a eficácia do fipronil 10% “topspot” em cães. Foram utilizados 24 cães da raça Beagle, compondo seis animais por grupo. Os cães foram divididos em quatro grupos. Os cães dos grupos controles I e II não receberam tratamento, enquanto que os cães dos grupos tratados I e II receberam tratamento com formulação de fipronil 10% “topspot”. Os cães dos grupos controle I e tratado I foram infestados com 50 casais de *C. felis felis* e os cães dos grupos controle II e tratado II foram infestados com 150 casais de *C. felis felis* cada. As infestações foram realizadas nos dias, -2, +5, +12, +19, +26, +33 e +40 e nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 foi realizada retirada mecânica e contagem de pulgas para avaliação. As eficácias pulguicidas, para o grupo tratado I, nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42, foram respectivamente 99,36%; 99,73%; 99,48%; 99,74%; 99,75%; 95,06% e 67,62%. As eficácias pulguicidas, para o grupo tratado II, avaliadas nos mesmos dias, foram respectivamente 100%; 100%; 100%; 100%; 99,91%; 95,60% e 68,55%. O fipronil mostrou-se eficaz na eliminação das pulgas em cães até o dia +35. A análise estatística comparativa entre as médias de pulgas vivas, entre os grupos controle I e tratado I, demonstrou que ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento. Os grupos controle II e tratado II também apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento. A análise estatística entre os grupos tratados I e II demonstrou que não ocorreu diferença significativa ($p \geq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais. O desafio foi encerrado no dia +42 já que a eficácia do fipronil nos grupos tratados I e II foram inferiores 70%. O produto em teste mostrou-se eficaz na eliminação das pulgas em cães até o dia + 35, não apresentando mais efeito residual de proteção quando os animais foram reinfestados. Diferentes níveis de exposição de populações de *C. felis felis*, 100 e 300 exemplares, através de infestações semanais, não foram capazes de determinar diferentes respostas de eficácia do fipronil quando empregados em cães.

Palavras-chave: fenilpirazol, controle químico, pulgas.

ABSTRACT

COELHO, Cristiane Nunes. **Influence of the level of population challenge of *Ctenocephalides felis felis* on the efficacy of fipronil in dogs.** 2013. 46 p. (Dissertation, Master in Veterinary Science, Veterinary, Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The objective of the present study was to evaluate the influence the level of of population challenge of *Ctenocephalides felis felis* on the efficacy of fipronil 10% “topspot” in dogs. For this, 24 Beagles were used, divided into four groups of six dogs each. The dogs on the control groups I and II were not treated, while the dogs on the treated group I e II were treated with the formulation of 10% fipronil “topspot”. The dogs in the control group I and treated group I were infested with 50 pairs of *C. felis felis* and dogs in groups control II and treated II were infested with 150 pairs of *C. felis felis* each. Infestations were performed on days -2, +5, +12, +19, +26, +33 and +40 and on days +2, +7, +14, +21, +28, +35 and +42 fleas were mechanical removed and counted for evaluation. Pulicide efficacy for treated group I on days +2, +7, +14, +21, +28, +35 and +42, were respectively 99.36%, 99.73%, 99.48%, 99.00%, 74.00%, 99.75%, 95.06% and 67.62%. The pulicide efficacy for the treated group II, evaluated on the same days, were respectively 100%, 100%, 100%, 100%, 99.91, 95.60% and 68.55%. Fipronil was effective in eliminating fleas on dogs until day +35. The statistical comparisons between the mean living fleas between groups control I and treated I showed significant differences ($p \leq 0.05$) for the challenges in all experimental days after treatment. Groups control II and treated II also showed significant differences ($p \leq 0.05$) for the challenges in all experimental days after treatment. Statistical analysis between treated groups I and II showed no significant difference ($p \geq 0.05$) between the challenges in all experimental days. The challenges were finished on day 42, when the effectiveness of fipronil in treated groups I and II were lower than 70%. The tested product was effective in eliminating fleas on dogs until day + 35 with no more residual effect of protection when the animals were reinfested. Different level of exposure of populations of *C. felis felis*, 100 and 300 exemplary, through weekly infestations were not able to determine different fipronil efficacy responses, when used in dogs.

Key words: phenylpyrazol, chemical control, fleas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos de tratamento, número de identificação, sexo, peso dos animais, dose correspondente do produto empregado e dose recebida por animal dos grupos experimentais	122
Tabela 2. Cronograma de execução das atividades e o resumo das etapas da avaliação da eficácia do fipronil 10 % “topspot” utilizado nos cães..... Erro! Indicador não definido.	4
Tabela 3. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos controle I e tratado I, infestados com 100 exemplares adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> , assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.	14
Tabela 4. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos controle II e tratado II, infestados com 300 exemplares adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> , assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.	18
Tabela 5. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos tratado I e tratado II, infestados com 100 e 300 exemplares adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> , assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.	1819

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do Fipronil (USEPA, 2001).	7
Figura 2. Número médio de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas nos animais dos grupos controle I e tratado I, infestados com 100 exemplares.	200
Figura 3. Número médio de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas nos animais dos grupos controle II e tratado II, infestados com 300 exemplares.	211
Figura 4. Número médio de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas nos animais dos grupos tratado I e tratado II, infestados com 100 e 300 exemplares.	222
Figura 5. Eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães infestados com 100 exemplares adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos animais do grupo tratado I.	243
Figura 6. Eficácia pulguicida do fipronil 10% "topspot" nos cães infestados com 300 exemplares adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos animais do grupo tratado II.	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Importância e Biologia de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	2
2.2 Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	4
2.2.1 Controle Mecânico de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	4
2.2.2 Controle Biológico de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	5
2.2.3 Controle Químico de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	5
2.3 Fipronil	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Localização da Experimentação	10
3.2 Obtenção de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	10
3.3 Delineamento Experimental	10
3.3.1 Seleção e Manejo dos Animais	10
3.3.2 Avaliação da Eficácia do Fipronil no Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em Cães.....	13
3.4 Análise Estatística.....	15
4 RESULTADOS	16
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO	27
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
ANEXO - Declaração do Comitê de Ética de Uso Animal.....	33

1 INTRODUÇÃO

A interação entre o homem e seus animais de estimação tem aumentado a preocupação com o bem estar animal e com a saúde pública.

Diversos artrópodes vivem como ectoparasitos em cães domésticos, destacando-se as pulgas e os carrapatos que exercem a hematofagia durante o parasitismo, comportando-se como vetores de importantes patógenos para o homem e para outros animais.

A pulga *Ctenocephalides felis felis* é o ectoparasito mais abundante em cães e gatos em todo o mundo; além de provocar desconforto aos animais devido a espoliação sanguínea, ela está associada a várias doenças, como a dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP), servindo também como vetor de diversos patógenos como bactérias, sendo também hospedeiro intermediário para filarídeos e cestóides.

Neste sentido medidas de controle são extremamente necessárias para fins de tratamento ou prevenção das infestações por tais ectoparasitos e das doenças por eles veiculadas. Tais medidas compreendem os controles mecânico, biológico e químico.

Além do controle químico, também é fundamental que se faça um controle mecânico a fim de impedir a proliferação de parasitas, pois, antes de introduzir os compostos químicos, as recomendações para o controle de pulgas consistem no tratamento do ambiente.

O fipronil, inseticida que teve sua origem na agricultura, é atualmente um dos antiparasitários mais utilizados em medicina veterinária, indicado como alternativa aos pesticidas aos quais os insetos já demonstram resistência. Possui níveis satisfatórios de eficácia e um longo período residual contra reinfestações não só contra pulgas, possuindo também atividade contra carrapatos, ácaros causadores de sarnas e piolhos.

Devido a sua relevante importância médico-veterinária e crescente papel em saúde pública, a pulga *C. felis felis* tem sido alvo de numerosos estudos relacionados à biologia, controle, transmissão de patógenos aos animais domésticos e ao homem.

Tendo em vista que a relação entre a formulação empregada e as diferentes cargas parasitárias utilizadas nas infestações pode interferir na eficácia e no período residual do produto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do nível de desafio populacional de *C. felis felis* sobre a eficácia do fipronil em cães.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância e Biologia de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas pertencem à ordem Siphonaptera, à família Pulicidae e ao gênero *Ctenocephalides*, o qual inclui 13 espécies e subespécies, sendo que apenas duas, *C. canis* (Curtis, 1826) e *C. felis felis* (Bouché, 1835) são cosmopolitas e foram registrados na América do Sul. A subespécie *C. felis felis* é mais adaptável do que *C. canis*, uma vez que infesta mais espécies hospedeiras e, portanto, se estabelece em áreas mais extensas. A distribuição destas espécies está relacionada a fatores ambientais que influenciam sua sobrevivência, desenvolvimento e reprodução (LINARDI; SANTOS, 2012).

Quatro subespécies de *C. felis* foram reconhecidas, sendo todas principalmente ectoparasitos de carnívoros (RUST; DRYDEN, 1997). No Brasil, *C. felis felis* é a única subespécie de pulga encontrada em animais de estimação, sendo considerada o ectoparasita mais importante de cães e gatos em muitas partes do mundo (CARLOTTI; JACOBS, 2000). Tendo sido relatada também em bezerros, cabras, ovelhas e outros animais domésticos. Altas infestações por pulgas em gatos, cachorros, bezerros e cordeiros pode causar anemia e morte (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Os hospedeiros das pulgas são mamíferos (94%) e aves (6%), sendo os roedores os hospedeiros preferenciais (74%) entre 12 ordens de mamíferos habitualmente parasitados. A maioria das espécies vive sobre a pele e pelagem dos respectivos hospedeiros; em outras, as fêmeas penetram e vivem sob a pele dos hospedeiros, lá permanecendo até à última ovipostura (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

São insetos ápteros, com o corpo achatado latero-lateralmente, medindo de um e meio a quatro milímetros de comprimento. O revestimento quitinoso é espesso e possui coloração castanha escura. As pernas são longas, fortes e adaptadas para o salto. Em algumas espécies, como a pulga do cão, *C. canis* (Curtis, 1826) e a pulga do gato, *C. felis* (Bouché, 1835), é possível observar a presença de ctenídios (do grego *ctenos*, que significa pente) que são cerdas mais robustas e esclerosadas (LINARDI, 2011). A maior parte das espécies conhecidas, cerca de 80%, apresentam ctenídios, destinados à fixação e locomoção entre os pelos dos hospedeiros (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

As pulgas são insetos que possuem metamorfose completa, sendo seu ciclo biológico dividido em quatro estágios: ovo, larva (que possui três estágios), pupa e adulto (KRASNOV, 2008).

O ciclo de ovo a adulto é completado em aproximadamente 25-30 dias, dependendo das condições de temperatura, umidade e alimentação obtida pelas larvas (LINARDI, 2011), podendo se estender por até 174 dias, no entanto, na maioria das condições domésticas, quase todas as pulgas completam o seu ciclo de vida dentro de três a oito semanas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os ovos são esbranquiçados, ovóides ou elipsoidais, medindo de 300 a 700µm, geralmente depositados nos locais de repouso dos hospedeiros. A eclosão ocorre dentro de um a três dias (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

As larvas são delgadas, esbranquiçadas e vermiformes. Possui cerdas curtas e seu comprimento varia de dois a cinco milímetros. As larvas são de vida livre, se alimentam de fezes de pulgas adultas (que são essenciais para o desenvolvimento bem sucedido), de detritos orgânicos que se encontram no ambiente e de ovos de pulgas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Uma vez que as larvas são fotofóbicas e positivamente geotrópicas, elas se encontram nas fibras de carpetes, colchões, materiais de enchimento de sofá e em restos orgânicos como

galhos e folhas. Acumulando-se em áreas onde o animal passa grande parte do tempo (BITAM et al., 2010).

Após um período de pré-pupa, a larva madura transforma-se em pupa, geralmente dentro de um casulo construído de seda. O casulo é ovóide, mede cerca de meio centímetro de comprimento e possui coloração esbranquiçada. Esses casulos podem ser encontrados no solo, na vegetação, nos tapetes, embaixo dos móveis e nas camas dos animais (DRYDEN; RUST, 1994).

Silverman e Rust (1985) reportaram que a pressão mecânica e o aumento da temperatura estimulam o rompimento do casulo (DRYDEN; RUST, 1994).

Os adultos começam a emergir dos casulos dentro de cinco a 13 dias, mas podem permanecer quiescentes dentro do casulo por mais de 140 dias, dependendo das condições externas, até o surgimento de estímulos (calor, dióxido de carbono ou pressão mecânica) que indiquem a proximidade do hospedeiro (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DRYDEN; RUST, 1994).

Adultos de *C. felis* podem permanecer em repouso no casulo por até 140 dias, em temperatura de 11° C e 75% UR. A capacidade de sobreviver durante longos períodos no casulo é especialmente importante para espécies como *C. felis*, que infestam hospedeiros que estão de passagem (DRYDEN; RUST, 1994).

A pulga recém-emergida pode sobreviver por vários dias antes de realizar o repasto sanguíneo. A sobrevivência da pulga recém-emergida depende muito da temperatura e umidade (DRYDEN; RUST, 1994). As pulgas que já iniciaram a reprodução geralmente morrem dentro de 24 a 48 horas, se afastadas do hospedeiro (DRYDEN et al., 1989).

A hematofagia é exclusiva da fase adulta e obrigatória para os dois sexos, podendo ser realizada tanto de dia quanto à noite. Cada repasto dura cerca de 10 minutos, com duas a três refeições ao dia (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

As fêmeas são capazes de produzir de 40-50 ovos por dia durante o pico de produção de ovos, com média de 27 ovos por dia durante 50 dias, e podem continuar a produção de ovos por mais de 100 dias. A maioria dos ovos é colocada durante as últimas oito horas de escotofase (DRYDEN; RUST, 1994).

O dimorfismo sexual é acentuado, com as fêmeas maiores que os machos e apresentando a porção posterior arredondada (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Adultos representam apenas cinco por cento de uma população de pulgas (BITAM et al., 2010), enquanto que 95% encontram-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Em animais domésticos, *C. felis felis* é um ectoparasito clinicamente importante por causar irritação pela inoculação de sua saliva no momento da picada, podendo resultar em dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP), servindo também como vetor de diversos patógenos como bactérias, sendo também hospedeiro intermediário para filarídeos e cestóides. A dermatite alérgica à picada de pulgas é a doença dermatológica mais comum em cães e uma das principais causas de dermatite miliar felina (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Em alguns indivíduos, a exposição a picadas de pulgas, eventualmente, leva a uma condição mais séria de dermatite alérgica, também conhecida como hipersensibilidade à picada de pulga (DAP). Uma vez que tenha ocorrido a sensibilização, o recrudesimento das lesões pode ser desencadeado apenas por um pequeno número de picadas, embora a sensibilidade varie entre os indivíduos (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Em altas infestações o sangue consumido pelas pulgas pode levar a anemia por deficiência de ferro e até mesmo a morte. *Ctenocephalides felis* foi também recentemente implicada na transmissão de *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis* e *Bartonella* spp, *Mycoplasma haemofelis*, e em alguns casos raros, até mesmo *Yersinia pestis*. Também serve como hospedeiro intermediário do nematóide filarídeo de cães, *Acanthocheilonema (Dipetalonema)*

reconditum. Várias espécies também utilizam *C. felis* como hospedeiro intermediário, incluindo *Dipylidium caninum* e *Hymenolepis nana* (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

2.2 Controle de *Ctenocephalides felis felis*

A maioria dos inseticidas funcionam muito bem eliminando as pulgas existentes no hospedeiro, durante a aplicação inicial. O problema é que ocorre normalmente a reinfestação. Historicamente, o controle de pulgas foi realizado por meio de aplicações repetidas de produtos sobre o animal, utilizando inseticidas e reguladores de crescimento de insetos (IGR) no ambiente (DRYDEN; BROCE, 2003).

O controle de pulgas só pode ser alcançado através da aplicação correta de produtos nos animais e um programa de controle ambiental, projetado para reduzir populações existentes e a emergência de pulgas adultas (DRYDEN; RUST, 1994).

O sucesso no controle de infestações de pulgas nos animais, geralmente envolve uma combinação de estratégias que incluem o hospedeiro alvo, o inseticida utilizado no ambiente e a retirada mecânica que são os meios de reduzir ou eliminar as fases da pulga no ambiente (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Para controlar efetivamente as pulgas, é necessário o conhecimento do seu desenvolvimento, biologia e ecologia (FOURIE; KOK; PETER, 2000).

O raciocínio é que ovos, larvas, pupas e adultos que surgiram recentemente proporcionam um reservatório para a contínua reinfestação (FOURIE; KOK; PETER, 2000).

Um dos objetivos do controle de pulgas é o alívio causado nos animais de estimação, devido ao incômodo e irritação provocados pelas mesmas, e um outro objetivo do tratamento que deve ser levado em consideração, é a eliminação das pulgas antes que elas comecem a se reproduzir. Se os produtos antipulgas são aplicados em doses e intervalos apropriados, deve haver atividade residual adequada entre as aplicações para eliminar todas ou quase todas as pulgas adquiridas novamente, antes que se inicie a produção de ovos (DRYDEN; BROCE, 2003).

A eficácia e a duração residual de muitos inseticidas podem ser influenciadas pela temperatura, umidade, dose de aplicação, formulação, tratamento e cepa de pulgas. Bem como, os níveis de reinfestação no animal e no ambiente, por isso, nenhum programa único de controle será eficaz (DRYDEN et al, 1989).

2.2.1 Controle Mecânico de *Ctenocephalides felis felis*

Meios mecânicos de controle ambiental incluem a lavagem de roupa da cama do animal ou panos das camas frequentadas pelos mesmos. A aspiração de tapetes, almofadas ou móveis poderá remover ovos e larvas de pulgas. Além disso, as pupas encasuladas que estiverem sobre o tapete também poderão ser afetadas. A vibração também estimula pulgas adultas a emergir de seus casulos, de modo que eles podem ser coletados pela aspiração (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

A primeira etapa para o controle mecânico de pulgas nos animais domésticos, como cães e gatos de pelo curto, é a higiene aliado à catação manual e à retirada mecânica das pulgas frequentemente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Pentear animais de estimação por cinco minutos fornece uma estimativa precisa das populações de pulgas. A inspeção dos animais infestados revelou que a cabeça e pescoço tem o maior número de pulgas, 29,4% e 26,6%, respectivamente (RUST, 2005).

O controle mecânico de pulgas envolve muitos aspectos, inclusive o sociocultural, visando principalmente alterar ou remover as condições que propiciam o desenvolvimento de populações de pulgas num ambiente interno e externo (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Já no ambiente peridomiciliar, medidas como varrer o canil, manejar a vegetação, impedir a circulação de biomassas para adubo, manejar o solo e evitar o contato do animal com animais externos ao domicílio ajudam a reduzir a população de pulgas (MELO, 2006).

2.2.2 Controle Biológico de *Ctenocephalides felis felis*

O controle biológico é uma técnica aplicada à redução da população de uma espécie-alvo que tem potencial de provocar dano econômico, além de ser recomendado para reduzir as populações de insetos pragas, e combater plantas daninhas, patógenos de plantas, nematóides, entre outros (MELO; AZEVEDO, 1998).

Atualmente há varias opções de organismos para o controle biológico, tais como insetos, nematóides, protozoários, bactérias, fungos e vírus (HOGSETTE, 1999).

O controle biológico de pulgas pode ser realizado utilizando nematóides; predação utilizando formigas e ácaros e o uso de fungos entomopatogênicos que possui atividade sobre a cutícula de adultos de *C. felis felis* (MELO, 2006; MELO et al., 2007).

Até recentemente, o controle químico de pulgas no animal era realizado, quase que de forma exclusiva. Entretanto, a rápida adaptação das pulgas a alguns princípios ativos, e sua aplicação feita de forma desordenada, levou ao aparecimento de populações de pulgas resistentes. Outro fator que deve ser levado em consideração é o elevado custo do tratamento, favorecendo ao aumento do interesse pelo controle biológico (HOGSETTE, 1999). Assim, os agentes de controle biológico são uma alternativa econômica e ecologicamente viável (VALADARES-INGLIS et al., 1998).

O objetivo do controle sempre deve ser a eliminação total da população de pulgas dentro da casa. Esta meta não é fácil de atingir, já que esta pulga tem uma capacidade reprodutiva alta e um ciclo de vida complexo (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Segundo Alves (1998), fungos são patógenos capazes de infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros, como ovos, larvas, pupas e adultos, sendo esta característica bastante desejável. Quando comparados com outros grupos de patógenos, os fungos apresentam vantagem, pois a maioria deles é altamente especializada na penetração via tegumento do inseto, diferente dos outros que só penetram por via oral.

2.2.3 Controle Químico de *Ctenocephalides felis felis*

São vários os grupamentos químicos disponíveis para o controle de ectoparasitas, como por exemplo, os piretróides, organofosforados, carbamatos, fenilpirazoles, nitroguanidinas, neonicotinóides e lactonas macrocíclicas, porém 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 nos hospedeiros e no ambiente (SCOTT et al., 2002).

Estratégias tradicionais de controle de pulgas têm como objetivo eliminar as pulgas no hospedeiro, usando substâncias adulticidas, combinando com o tratamento do ambiente, usando regulador de crescimento de insetos (RCI). Uma abordagem alternativa é a administração repetida, em intervalos mensais, de um produto de controle de pulgas no animal que tenha um efeito persistente, tais como imidacloprid ou o fipronil (SHANKS et al., 2000).

O controle de pulgas em cães e gatos tem sido realizado por meio de inseticidas sistêmicos e tópicos tais como lufenuron, fipronil, imidacloprid, selamectina (RUST, 2005). Esses produtos químicos têm atividade inseticida direta para o controle das pulgas no animal. Além disso, existem os reguladores de crescimento de insetos, como o lufenuron e o metoprene, que atuam interrompendo o desenvolvimento de ovos e larvas de pulgas (RUGG; HAIR, 2007).

Outros inseticidas como a metaflumizona, as espinosinas e o endoxacarbe foram introduzidos mais recentemente no controle de *C. felis felis*. A metaflumizona pertencente à classe da semicarbazona, não possui resistência cruzada conhecida a outros produtos químicos (RUGG; HAIR, 2007) e é altamente eficaz contra *C. felis* e também pode ser utilizado em combinação com um acaricida, como o amitraz, no controle de carrapatos (SABNIS et al., 2007). Produtos da classe das espinosinas foram introduzidos na Europa e no Japão na década de 1990, apresentando eficácia adulticida contra pulgas (SIAK; BURROWS, 2013). Estudos com espinosinas administrada por via oral apresentaram rápida eficácia na mortalidade de pulgas adultas (DRYDEN, 2013). O uso endoxabarbe “spot-on” no controle de pulgas tem apresentado eficácia não só na eliminação de pulgas adultas, assim como também na redução do número de ovos de pulgas (DRYDEN et al., 2013).

Os produtos químicos utilizados no controle de ectoparasitas de importância médica veterinária podem agir de maneira sistêmica, através da absorção pelo organismo do hospedeiro ou pelo contato direto com o parasito, após a aplicação externa. Praticamente todos os ectoparasiticidas agem como neurotoxinas no sistema nervoso central do parasito. Os produtos químicos que agem sistemicamente podem ser administrados por via parenteral ou aplicação tópica, onde o ativo é absorvido por via percutânea e levado para circulação sanguínea. Os produtos químicos com aplicação tópica possuem um efeito direto sobre o parasito alvo. Devido a essas diferenças no comportamento farmacocinético e nos modos de aplicação, diferentes formulações de drogas podem ser utilizadas para diferentes espécies de parasitos (TAYLOR, 2001).

Em ambientes externos, o tratamento químico pontual em áreas sombreadas e/ou que favoreçam o ciclo evolutivo das pulgas, associado à limpeza periódica e à poda adequada de jardins, gramados e arbustos, não só contribui para um maior sucesso na utilização de inseticidas ambientais, ao impedir novas reinfestações, como também para a obtenção de um maior intervalo entre tratamentos (CORREIA et al., 2010).

A frequência de tratamentos necessários para um controle de pulgas, a longo prazo, varia entre os diferentes compostos e formulações. Porém, os intervalos de tratamento ficam normalmente na faixa de um a seis meses (COOP, 2002).

Várias características do produto devem ser consideradas quando se projeta um programa de controle de pulgas e seleção de ativos. Entre eles estão: a velocidade de atuação, duração e atividade do espectro, via de administração e ação sistêmica versus ação tópica de do produto (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os inseticidas são apresentados em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, “spray”, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on”, “pour-on”, sendo empregados no controle dos principais ectoparasitos de cães e gatos (SCOTT et al., 2002).

Os ectoparasiticidas apresentam uma série de inconvenientes, como o desenvolvimento de resistência por parte dos parasitas e preocupações quanto à segurança humana e ambiental (COOP, 2002).

Novas substâncias são necessárias para o efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em

programas integrados de controle de insetos e baixo impacto ambiental (VIEGAS-JÚNIOR, 2003).

Atualmente a molécula empregada no controle ectoparasitário em animais domésticos é o fipronil (SCOTT et al., 2002).

2.3 Fipronil

O fipronil (5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-[(trifluorometil) sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrila) é um inseticida pertencente à classe dos fenilpirazóis (MOFFAT, 1993; USEPA, 1996).

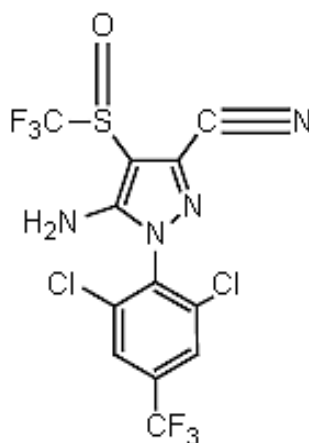


Figura 1. Fórmula estrutural do Fipronil (USEPA, 2001).

O fipronil foi descoberto e desenvolvido pela Rhône-Poulenc Ag Company, entre os anos de 1985 e 1987, apresentado em 1993 (THE PESTICIDE MANUAL, 2000) e registrado nos Estados Unidos em 1996 (WARE, 2000). Sendo membro de uma classe relativamente nova e pequena de inseticida, os pirazóis. O principal produto químico é o fenilpirazol que possui efeito herbicida (TINGLE et al., 2000; COLE; NICHOLSON; CASIDA, 1993), por isso, seu uso começou na agricultura, em culturas de batata, cana-de-açúcar, milho, algodão, arroz, soja, cevada e feijão para o controle das pragas das plantações. Também é utilizado como conservante de madeira; no controle de pulgas e carrapatos em animais e domesticamente contra baratas e formigas (USEPA, 2001; PAYNE et al., 2001).

Mais recentemente foi introduzido no mercado o piriprole que é um novo derivado dos fenilpirazóis, que são substâncias efetivas contra um amplo espectro de pulgas e carrapatos. Possui atividade contra *C. felis felis* apresentando elevado nível de eficácia e período residual de até cinco semanas (SCHUELE et al., 2008).

O fipronil possui atividade contra *Sarcoptes scabiei* (CURTIS, 1996), *Otodectes cynotis*, outras espécies de ácaros, tais como *Trombicula* e *Cheyletiella* e contra o piolho do cão *Trichodectes canis* (COOPER; PENALIGGON, 1996; TAYLOR, 2001).

Atua no sistema nervoso central do inseto inibindo o receptor do ácido γ -aminobutírico (GABA) (COUTINHO et al., 2005), e bloqueando os canais de íons cloreto (HAINZ; CASIDA, 1996). O sistema receptor-GABA, responsável pela inibição da atividade neural anormal, previne o estímulo excessivo dos nervos. Quando a função desse sistema regulador é bloqueada pelo fipronil ocorre hiperexcitação neural e conseqüentemente a morte

do inseto (COUTINHO et al., 2005). O bloqueio dos canais de íons cloreto do ácido gama-aminobutírico (GABA), tem maior sensibilidade nos receptores dos insetos que nos receptores dos mamíferos (HAINZL; CASIDA, 1996).

O mecanismo de seletividade do fipronil não está limitado aos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA). O potencial do mesmo inibe os canais de cloreto ativados por glutamato que estão presentes nos invertebrados, como insetos. O glutamato é um neurotransmissor que possui função excitatória ou inibitória e não está presente nos mamíferos. Assim sendo, os inseticidas que possuem potencial ou seletividade para bloquear o neurotransmissor de glutamato torna-se altamente eficaz sobre os insetos causando maior toxicidade, quando comparada aos mamíferos (NARAHASHI et al., 2010.)

O fipronil é altamente lipofílico e difunde-se pelas glândulas sebáceas dos folículos pilosos, atuando como um reservatório e proporcionando longa atividade residual (TAYLOR, 2001). Se distribui pelos tecidos, principalmente no tecido adiposo. O produto não é absorvido através da pele intacta, mas é armazenado nas glândulas sebáceas da pele e lentamente se espalha pela pelagem do animal (HOVDA; HOOSER, 2002).

É indicado para animais que precisam de banhos frequentemente, uma vez que, se mostra resistente a lavagem da pele e a utilização de xampu, e também não sofre alteração pela exposição à luz solar (CUNNINGHAM; RYAN, 1999).

O principal metabólito originado do fipronil em animais vertebrados e invertebrados é a sulfona (HAINZL; CASIDA, 1996). Além da sulfona, existe outro metabólito, que é um fotoproducto fipronil-dessulfinil, oriundo da fotodegradação. Em ratos, do composto de origem dos seus metabólitos de 5% a 25% é excretado na urina e de 45% a 75% foi excretado nas fezes (HOVDA; HOOSER, 2002).

O uso do fipronil provoca um baixo nível de toxicidade por via cutânea, oral ou inalação; podendo causar uma leve irritação nos olhos ou na pele. E não possui efeito sensibilizante da pele (HOVDA; HOOSER, 2002).

O fipronil possui um efeito “knock down”, que ocorre antes das pulgas terem tempo para se alimentarem e, portanto, pode ser especialmente útil nos casos de dermatite alérgica a picada de pulga (TAYLOR, 2001).

A variação da eficácia ocorre, provavelmente, devido ao fato de que o fipronil mata as pulgas rapidamente, antes que façam a oviposição, afetando o ciclo do parasito (POSTAL; JEANNIN; CONSAVI, 1995).

Hosking et al. (2009) avaliaram a eficácia do piriprol 12,5% e do fipronil 10% em associação com metoprene 9%, em cães naturalmente infestados e tratados mensalmente. A eficácia do piriprol “spot-on” oscilou entre 100% e 93,8%, já o fipronil em associação como metropeno apresentou oscilação de 98,8% e 44,7%, durante os 90 dias de estudo.

A população de pulgas foi reduzida em até 96,15%, em 54-60 dias, em cães e gatos domiciliados tratados com associação de fipronil e metoprene (DRYDEN, 2011).

Estudos em condições laboratoriais, utilizando infestações experimentais com pulgas demonstraram excelentes resultados de atividade residual. A duração da proteção contra reinfestações com pulgas variou entre 42 e 112 dias em cães e entre 35 e 49 dias em gatos (POSTAL; JEANNIN; CONSAVI, 1995).

Em um estudo realizado por Dryden, Denenberg e Bunch (2000) em cães e gatos domiciliados, infestados naturalmente por *C. felis felis* e tratados com fipronil, os autores recomendam o tratamento uma vez a cada 28-30 dias para que se obtenha resultados satisfatórios no controle de pulgas.

Cruthers et al. (2001) recomendam o uso do fipronil no controle de pulgas em cães por até oito semanas e indicam o uso mensal do produto com a finalidade de proporcionar um controle altamente eficaz contra pulgas.

Young, Jeannin e Boeckh (2004) avaliaram a eficácia aduicida do fipronil e da associação do fipronil com metoprene, no controle de *C. felis felis*. Ambos os tratamentos apresentaram eficácias próximas a 100% até 35 dias.

Tancredi (2009) avaliou a eficácia de uma formulação tópica de fipronil 10%, a eficácia residual de uma formulação em teste de fipronil e a influencia do banho no período residual, em cães infestados artificialmente com *C. felis felis*. A eficácia pulguicida em cães foi satisfatória até o dia +35. 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 pulguicida, o banho único demonstrou não provocar queda da eficácia do produto. Banhos semanais, apesar de demonstrarem eficácias satisfatórias, demonstraram menor período residual.

Bonneau et al. (2010) realizaram um estudo em que foi comparada a eficácia do Effipro® “spot-on” e do Frontline® “topspot” em cães infestados artificialmente e em ambos os tratamentos observou-se longa proteção residual contra reinfestações por pulgas obtendo eficácia superior a 95% para o Frontline® por até 79 dias.

Melo et al. (2012) avaliou a eficácia, em cães infestados artificialmente, de três formulações orais de fipronil: 2 mg.kg⁻¹, 4 mg.kg⁻¹ e 6 mg.kg⁻¹ de peso corporal. Os grupos tratados com 2 e 4 mg.kg⁻¹ de fipronil foram retirados do estudo no dia +7 e o grupo tratado com 6 mg.kg⁻¹ no dia +21 por apresentarem eficácia inferior a 80%.

Kužner et al. (2013) realizaram um estudo de eficácia utilizando o fipronil comercial no controle de pulgas e obtiveram redução significativa na contagem de pulgas nos cães que obtiveram tratamento, em relação aos cães que não foram tratados. A eficácia do produto perdurou por até 58 dias, após o tratamento.

Em estudos de campo a variabilidade é muito grande e algumas vezes os dados fornecidos pelos proprietários são inconsistentes, a fim de maximizar a qualidade dos dados é importante avaliar o animal, o domicílio e os fatores que podem influenciar na população de pulgas (MARCHIONDO et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização da Experimentação

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, a latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27, oeste e altitude de 26 metros.

A metodologia empregada no estudo foi à preconizada pela Associação Mundial para Avanço da Parasitologia Veterinária (MARCHIONDO et al., 2013).

A utilização de animais no presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ (FAPUR), em reunião realizada em 04 de janeiro de 2013 (Anexo).

3.2 Obtenção de adultos de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas utilizadas foram oriundas da colônia mantida há mais de dez anos, nas mesmas dependências onde foram realizados os desafios. As pulgas adultas não alimentadas foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD, em temperatura de 28±1°C e umidade relativa de 75±10%.

3.3 Delineamento Experimental

3.3.1 Seleção e Manejo dos Animais

Foram selecionados 24 cães da raça Beagle, distribuídos na mesma proporção (machos e fêmeas) por grupo experimental, compondo seis animais por grupo, com idade variando entre um ano e meio e seis anos e peso variando entre oito e 13 Kg. Todos os cães do experimento estavam identificados com “transponder” implantado no tecido subcutâneo, na região entre as escápulas.

Os animais foram mantidos durante o período experimental em baias individuais, onde receberam ração comercial fornecida duas vezes ao dia e água *ad libitum*.

Antes de dar início à fase experimental, os cães passaram por um período de adaptação e climatização por 14 dias em baias individuais de alvenaria com piso cimentado, com 1,5 m² e com limpeza das instalações sendo realizada diariamente.

Os animais dos grupos controles I e II não receberam tratamento, enquanto que os animais dos grupos tratados I e II receberam a formulação de Fipronil 10% “topspot”¹, conforme as instruções e dosagens fornecidas pelo fabricante para uso em cães.

A infestação dos grupos controles I e II foi realizada com 100 e 300 exemplares de pulgas adultas não alimentadas respectivamente.

A infestação dos grupos tratados I e II foi realizada com 100 e 300 exemplares de pulgas adultas não alimentadas respectivamente. Os exemplares foram colocados em tubos de ensaio individuais, respectivamente para cada cão.

¹ Frontline® “topspot” (Merial Saúde Animal).

Na Tabela 1, estão indicados os grupos de tratamentos, o número de identificação, o sexo, o peso dos animais, a dose correspondente do produto empregado e a dose recebida por animal dos grupos experimentais.

Tabela 1. Grupos de tratamentos, número de identificação, sexo, peso dos animais, dose correspondente do produto empregado e dose recebida por animal dos grupos experimentais.

Grupo/Animal	Sexo	Peso corporal (Kg)	Volume empregado de Fipronil 10% “topspot”⁵	Dose recebida (mg/Kg)
Controle I				
250590	M ¹	9,400	-	-
405662	M	10,900	-	-
236368	M	12,850	-	-
35740	F ²	9,500	-	-
235166	F	11,950	-	-
236316	F	9,000	-	-
Média³ ± DP⁴		10,60 ± 1,43		
Tratado I				
236371	M	9,250	0,67 mL	7,2
235520	M	9,700	0,67 mL	6,9
235920	M	9,800	0,67 mL	6,8
421754	F	12,200	1,34 mL	10,9
300020	F	10,800	1,34 mL	12,4
103476	F	12,750	1,34 mL	10,5
Média ± DP		10,75 ± 1,31		9,11
Controle II				
238400	M	10,700	-	-
44103	M	13,850	-	-
257913	M	11,300	-	-
257418	F ²	11,150	-	-
258216	F	8,300	-	-
44364	F	8,400	-	-
Média³ ± DP⁴		10,62 ± 1,89		
Tratado II				
44118	M	10,100	1,34 mL	13,2
236152	M	12,200	1,34 mL	10,9
239774	M	10,100	1,34 mL	13,2
238326	F	8,850	0,67 mL	7,5
44396	F	9,300	0,67 mL	7,2
16873	F	11,150	1,34 mL	12,01
Média ± DP		10,28 ± 1,12		10,66

¹Macho; ²Fêmea; ³Média aritmética; ⁴Desvio padrão; ⁵Frontline® “topspot” (Merial Saúde Animal).

3.3.2 Avaliação da Eficácia do Fipronil no Controle de *Ctenocephalides felis felis* em Cães

No dia -7, antes da infestação, os cães foram desinfestados para assegurar que não houvesse infestação prévia. No dia -5, os animais foram avaliados para efeito de ranqueamento e divisão dos grupos experimentais. No ranqueamento foram utilizados 100 exemplares de *C. felis felis* para todos os grupos experimentais. Após o ranqueamento, procedeu-se o sorteio dos grupos experimentais (controles e tratados) e os animais foram distribuídos em quatro grupos de seis animais cada.

Os grupos foram divididos em:

- **Grupo Controle I:** seis cães (três fêmeas e três machos) mantidos sem tratamento, sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas;
- **Grupo Controle II:** seis cães (três fêmeas e três machos) mantidos sem tratamento, sendo infestados com 300 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas;
- **Grupo Tratado I:** seis cães (três fêmeas e três machos) tratados com a formulação teste e sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas;
- **Grupo Tratado II:** seis cães (três fêmeas e três machos) tratados com a formulação teste e sendo infestados com 300 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas.

No dia 0, os cães dos grupos tratados receberam a formulação de Fipronil 10% “topspot”, nas apresentações de 0,67 mL para cães pesando entre dois e 10 kg e 1,34 mL para cães pesando entre 10,1 a 20 kg. A aplicação foi diretamente sobre a pele do animal, ao longo do pescoço no sentido contrário ao pelo.

Nos dias -2, +5, +12, +19, +26, +33 e +40 foi realizada a infestação conforme descrito anteriormente. Nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35 e +42 foi realizada a retirada mecânica, através da utilização de pentes próprios (“comb test”), para a contagem de pulgas vivas.

Na Tabela 2, está representado um resumo das atividades e das etapas da avaliação da eficácia do fipronil 10% “topspot” utilizado nos cães.

A contagem de *C. felis felis* foi realizada através da utilização de pentes finos contendo de 11-13 dentes por centímetro e a penteação foi realizada ao longo do corpo do animal com duração média de 5-20 minutos ou até que não houvesse mais recuperação de pulgas. Diariamente todos os cães foram observados quanto a qualquer tipo de alteração clínica. O desafio com pulgas e a contagem continuaram até que não houvesse mais eficácia do tratamento com a formulação de fipronil utilizada.

Tabela 2. Cronograma de execução das atividades e o resumo das etapas de avaliação da eficácia do fipronil 10% “topspot” utilizado nos cães.

Dia Experimental	Atividades
-14	Aclimação dos animais
-7	Infestação dos animais para efeito de ranqueamento
-5	Avaliação das infestações através da retirada mecânica dos parasitos. Ranqueamento dos animais
-2	Infestação dos animais
0	Tratamento
+2	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+5	Infestação dos animais
+7	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+12	Infestação dos animais
+14	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+19	Infestação dos animais
+21	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+26	Infestação dos animais
+28	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+33	Infestação dos animais
+35	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos
+40	Infestação dos animais
+42	Avaliação das cargas parasitárias dos animais através da retirada mecânica dos parasitos

3.4 Análise Estatística

A eficácia pulguicida foi calculada através da seguinte fórmula:

Eficácia = [(número médio de pulgas vivas no grupo controle - número médio de pulgas vivas no grupo tratado) / número médio de pulgas vivas no grupo controle] x 100 (MARCHIONDO et al., 2013).

O número de pulgas adultas vivas recuperadas dos grupos controle I e tratado I, assim como, os grupos controle II e tratado II foram submetidos ao teste de comparação entre proporções devido a diferença de carga parasitária entre os grupos experimentais. O nível de significância considerado foi de 95% ($p < 0,05$).

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico R versão 2.4.1 (R Foundation 2006).

4 RESULTADOS

Os resultados do número de pulgas vivas recuperadas nos animais dos grupos, controle I e II e tratado I e II, durante todo período experimental, encontram-se nas Tabelas 3 e 4 e Figuras 2 e 3.

A análise estatística comparativa entre as médias de pulgas vivas entre os grupos controle I e tratado I demonstrou que ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabela 3).

A média de pulgas recuperadas entre os grupos controles I e II foi superior a 50% em todos os dias experimentais.

A média de pulgas recuperadas entre os grupos controle I e tratado I foi inferior à zero até o dia +28, atingindo média superior a 20 pulgas, no dia +42.

Nos dias + 7, + 21 e + 28 somente uma pulga viva foi encontrada no grupo tratado I. Nos dias experimentais + 2 e + 14 foram recuperadas apenas duas pulgas no grupo tratado I.

Os grupos controle II e tratado II, também apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabela 4).

A média de pulgas recuperadas entre os grupos controle II e tratado II foi de zero até o dia +21, atingindo média superior a 50 pulgas no dia +42.

O grupo tratado II apresentou uma pulga recuperada no dia + 28. Os dias experimentais + 2, +7, +14, +21 não apresentaram pulgas vivas recuperadas.

No desafio do dia + 35 o número médio de pulgas recuperadas foi inferior a quatro no grupo tratado I. No grupo tratado foram recuperadas oito pulgas.

A análise estatística demonstrou que não ocorreu diferença significativa ($p \geq 0,05$) para os desafios em todos os dias experimentais entre os grupos tratados I e II (Tabela 5 e Figura 4).

O produto em teste apresentou resultados de eficácia pulguicida de 99,36%; 99,73%; 99,48%; 99,74%; 99,75%; 95,06% e 67,62% respectivamente para os dias experimentais de +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42 para o grupo tratado I (Figura 5).

O grupo tratado II apresentou resultados de eficácia pulguicida de 100% nos dias + 2, +7, +14 e +21. Nos dias subsequentes, os resultados de eficácias foram de 99,91%; 95,60%; 68,55%, respectivamente (Figura 6).

Com base nestes resultados, pode-se afirmar que o produto em teste mostrou-se eficaz na eliminação das pulgas em cães até o dia + 35, não apresentando mais efeito residual de proteção quando os animais foram reinfestados.

O desafio foi encerrado no dia +42 já que a avaliação da eficácia dos grupos tratados I e II foram inferiores 70%.

Tabela 3. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos controle I e tratado I, infestados com 100 exemplares adultos de *Ctenocephalides felis felis*, assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.

Grupo/ Animal	Número de pulgas vivas recuperadas/Dia Experimental							
	Dia -5 ³	Dia +2 ⁴	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42
Controle I								
250590	72	59	53	61	56	63	58	51
405662	53	69	64	59	65	85	79	61
236368	62	57	51	63	76	69	64	72
35740	61	58	71	70	68	65	73	66
235166	58	11	60	67	59	62	60	75
236316	53	58	77	66	62	60	71	58
Média¹	59,83 ^a	52,00 ^a	62,67 ^a	64,33 ^a	64,33 ^a	67,33 ^a	67,50 ^a	63,83 ^a
DP²	6,47	18,78	9,25	3,73	6,50	8,38	7,46	8,19
Tratado I								
236371	70	0	0	0	0	0	19	45
235520	59	0	0	0	0	0	0	21
235920	63	0	0	2	0	0	0	35
421754	59	0	0	0	1	0	0	12
300020	50	1	0	0	0	1	0	8
103476	49	1	1	0	0	0	1	3
Média	58,33 ^a	0,33 ^b	0,17 ^b	0,33 ^b	0,17 ^b	0,17 ^b	3,33 ^b	20,67 ^b
DP	7,94	0,52	0,41	0,82	0,41	0,41	7,69	16,40
Eficácia (%)	-	99,36	99,73	99,48	99,74	99,75	95,06	67,62

¹Média aritmética; ²Desvio Padrão; ³Sinal negativo data anterior ao tratamento; ⁴Sinal positivo data posterior ao tratamento; ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).

Tabela 4. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos controle II e tratado II, infestados com 300 exemplares adultos de *Ctenocephalides felis felis*, assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.

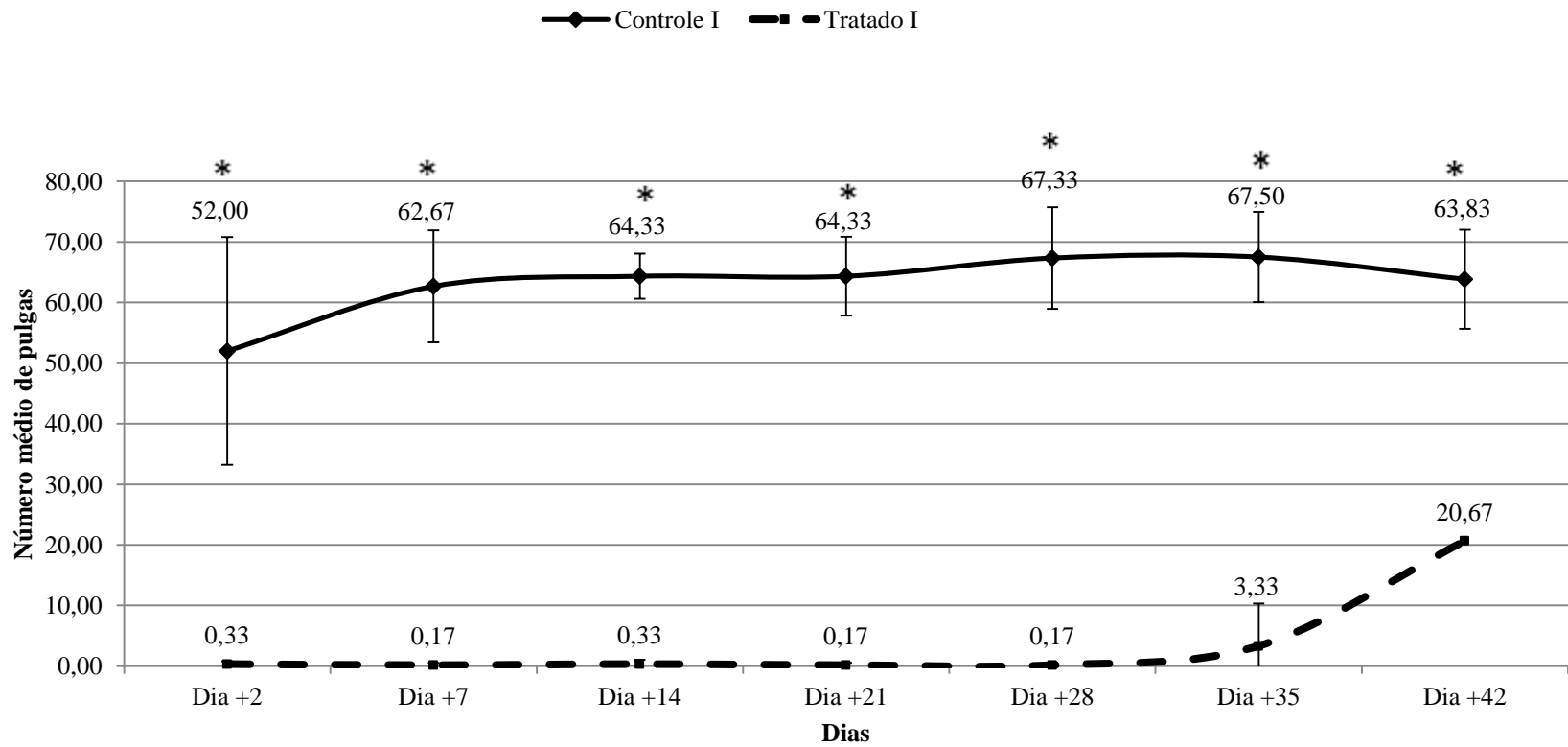
Grupo/ Animal	Número de pulgas vivas recuperadas/Dia Experimental							
	Dia -5 ³	Dia +2 ⁴	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42
Controle II								
238400	72	202	182	198	166	172	187	165
44103	63	183	147	162	148	154	165	151
257913	61	138	201	206	179	181	201	192
257418	59	231	217	204	173	169	198	166
258216	52	120	193	170	134	186	165	177
44364	48	210	203	199	186	193	175	192
Média¹	59,17 ^a	180,67 ^a	190,50 ^a	189,83 ^a	164,33 ^a	175,83 ^a	181,83 ^a	173,83 ^a
DP²	7,73	39,49	22,13	17,23	18,02	12,67	14,54	14,89
Tratado II								
44118	78	0	0	0	0	0	23	87
236152	61	0	0	0	0	0	0	31
239774	57	0	0	0	0	0	0	46
238326	54	0	0	0	0	1	25	92
44396	62	0	0	0	0	0	0	52
16873	38	0	0	0	0	0	0	20
Média	58,33 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,17 ^b	8,00 ^b	54,67 ^b
DP	11,84	0	0	0	0	0,37	11,33	26,72
Eficácia (%)	-	100	100	100	100	99,91	95,6	68,55

¹Média aritmética; ²Desvio Padrão; ³Sinal negativo data anterior ao tratamento; ⁴Sinal positivo data posterior ao tratamento; ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p ≤ 0,05).

Tabela 5. Contagens individuais de pulgas vivas e recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais dos grupos tratado I e tratado II, infestados com 100 e 300 exemplares adultos de *Ctenocephalides felis felis*, assim como a eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães.

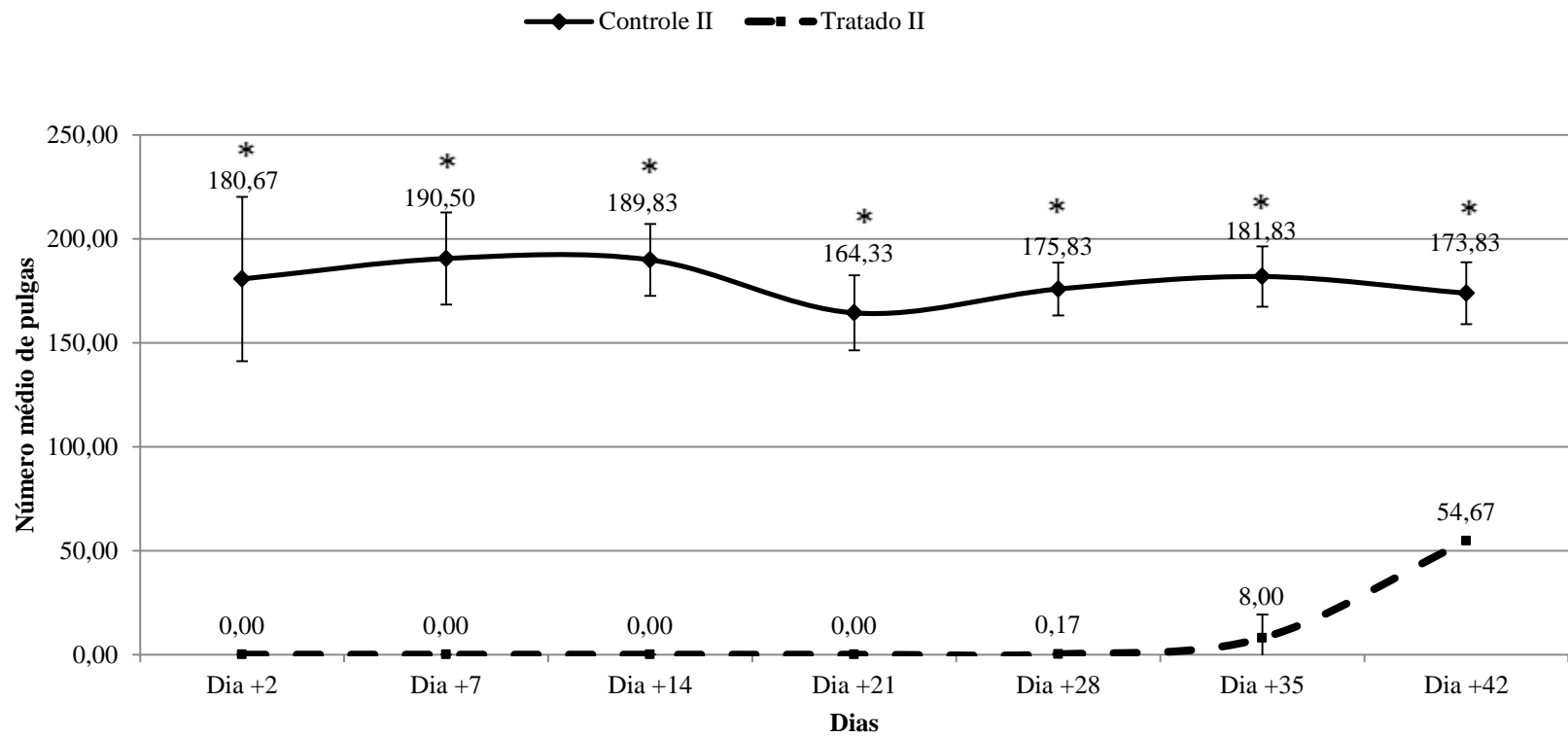
Grupo/ Animal	Número de pulgas vivas recuperadas/Dia Experimental							
	Dia -5 ³	Dia +2 ⁴	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42
Tratado I								
236371	70	0	0	0	0	0	19	45
235520	59	0	0	0	0	0	0	21
235920	63	0	0	2	0	0	0	35
421754	59	0	0	0	1	0	0	12
300020	50	1	0	0	0	1	0	8
103476	49	1	1	0	0	0	1	3
Média¹	58,33 ^a	0,33 ^a	0,17 ^a	0,33 ^a	0,17 ^a	0,17 ^a	3,33 ^a	20,67 ^a
DP²	7,94	0,52	0,41	0,82	0,41	0,41	7,69	16,40
Eficácia (%)	-	99,36	99,73	99,48	99,74	99,75	95,06	67,62
Tratado II								
44118	78	0	0	0	0	0	23	87
236152	61	0	0	0	0	0	0	31
239774	57	0	0	0	0	0	0	46
238326	54	0	0	0	0	1	25	92
44396	62	0	0	0	0	0	0	52
16873	38	0	0	0	0	0	0	20
Média	58,33 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,17 ^a	8,00 ^a	54,67 ^a
DP	11,84	0	0	0	0	0,37	11,33	26,72
Eficácia (%)	-	100	100	100	100	99,91	95,60	68,55

¹Média aritmética; ²Desvio Padrão; ³Sinal negativo data anterior ao tratamento; ⁴Sinal positivo data posterior ao tratamento; ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).



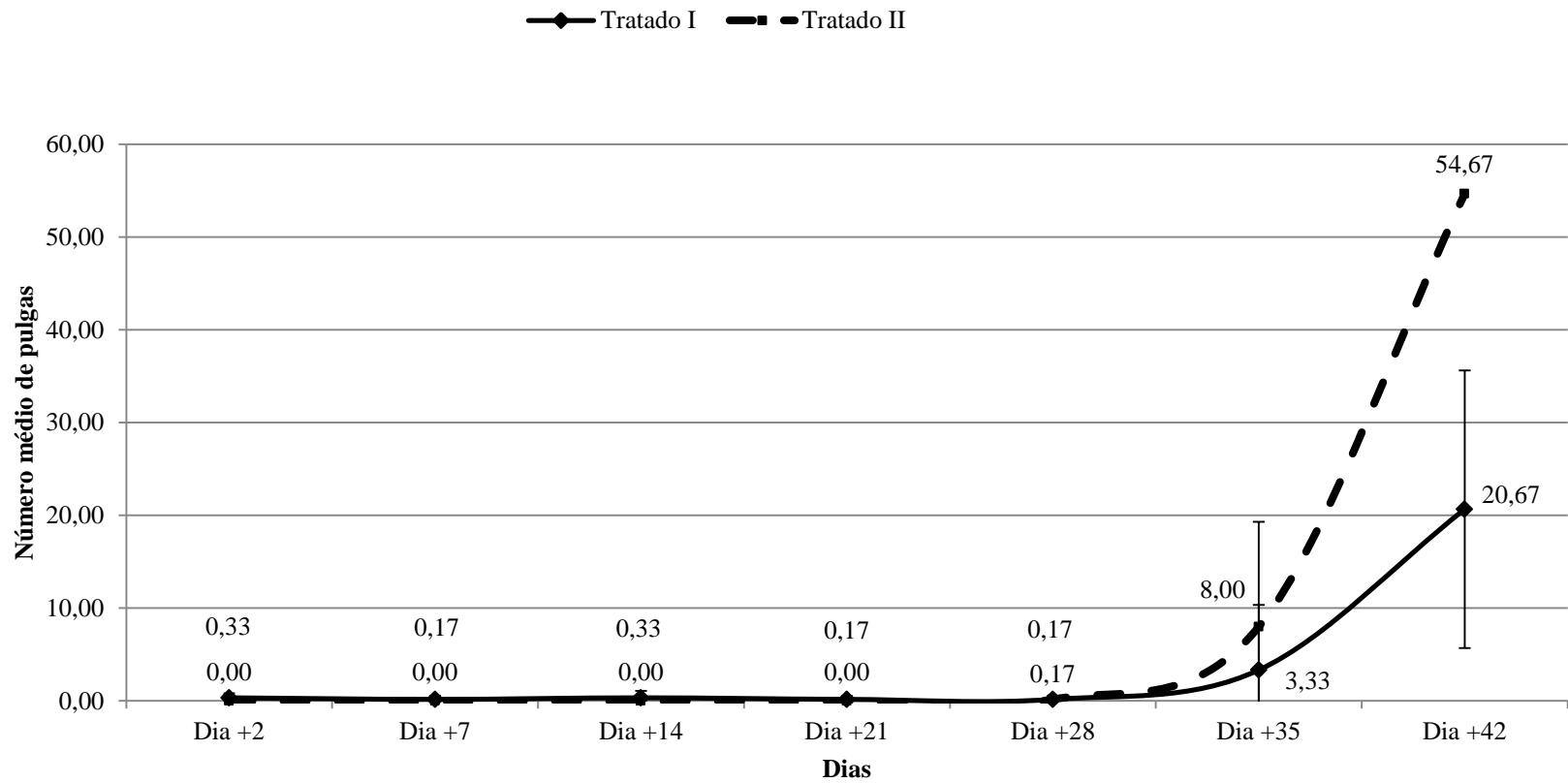
* diferença significativa $p \leq 0,05$ entre média do mesmo período

Figura 2. Número médio de adultos de *Ctenocephalides felis felis* recuperadas nos animais dos grupos controle I e tratado I, infestados com 100 exemplares.



* diferença significativa $p \leq 0,05$ entre média do mesmo período

Figura 3. Número médio de adultos de *Ctenocephalides felis felis* recuperadas nos animais dos grupos controle II e tratado II, infestados com 300 exemplares.



* diferença significativa $p \leq 0,05$ entre média do mesmo período

Figura 4. Número médio de adultos de *Ctenocephalides felis felis* recuperadas nos animais dos grupos tratado I e tratado II, infestados com 100 e 300 exemplares.

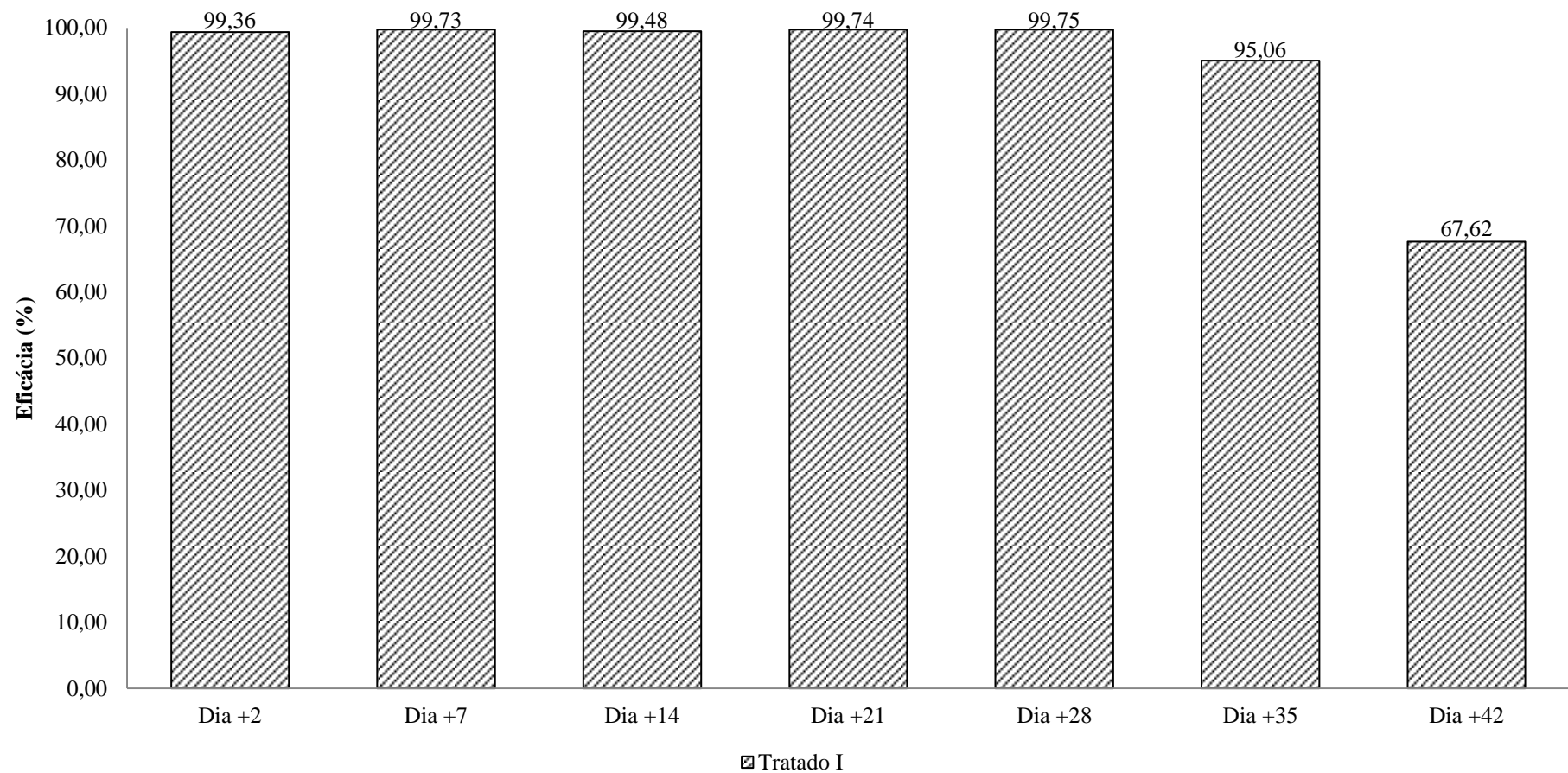


Figura 5. Eficácia pulguicida do fipronil 10% “topspot” nos cães infestados com 100 exemplares adultos de *Ctenocephalides felis felis* dos animais do grupo tratado I.

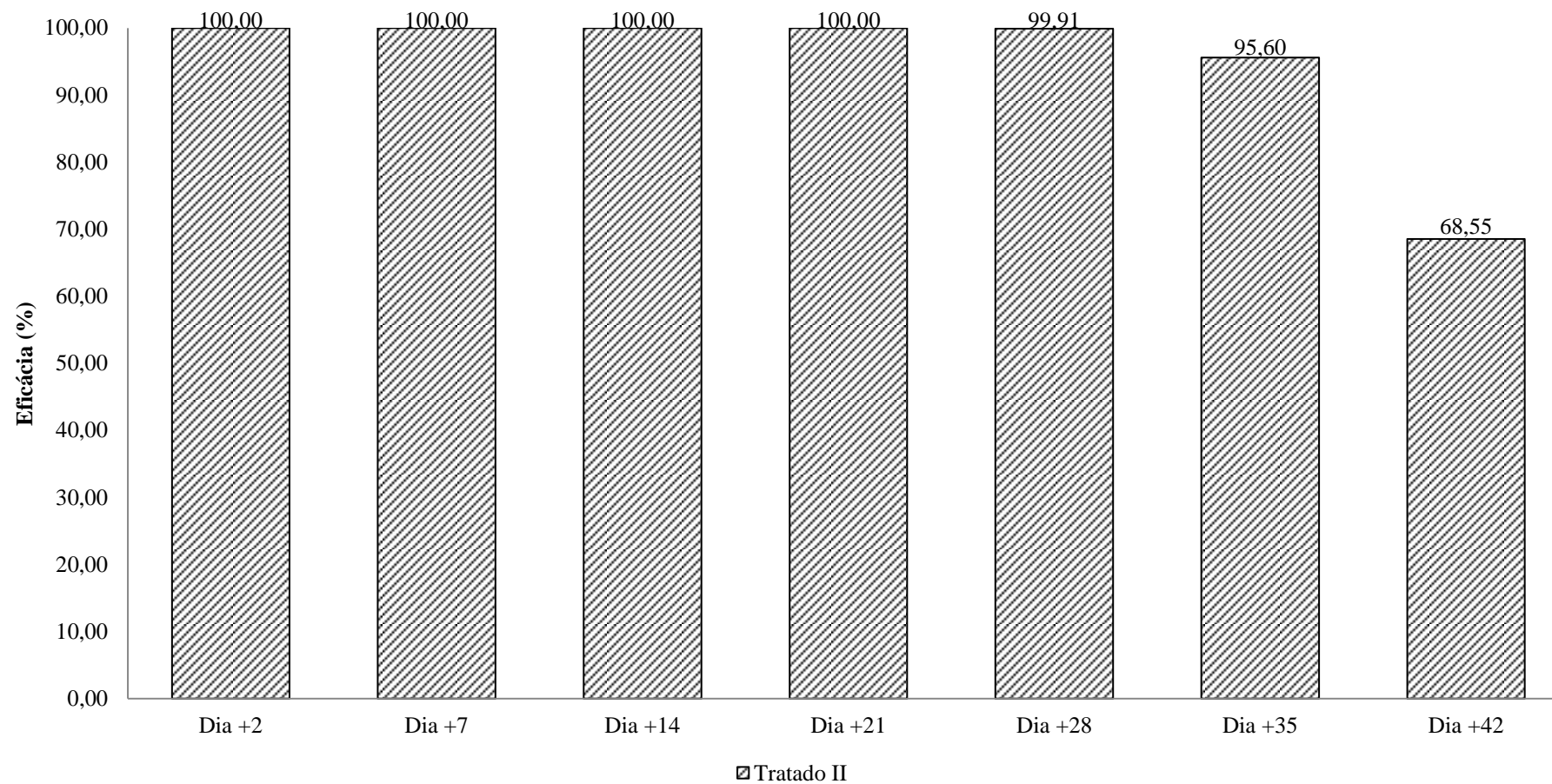


Figura 6. Eficácia pulgicida do fipronil 10% "topspot" nos cães infestados com 300 exemplares adultos de *Ctenocephalides felis felis* dos animais do grupo tratado II.

5 DISCUSSÃO

Dryden, Denenberg e Bunch (2000) realizaram um estudo em cães e gatos domiciliados, infestados naturalmente por pulgas, tratados com fipronil 10% “topspot” ou imidaclopid, uma vez a cada 28-30 dias, para um total de três tratamentos. A eficácia foi de 97,5% para o fipronil no dia +7 e 97% para o dia +28. E no ambiente domiciliar, constatou-se uma redução de 98,6% no número de pulgas. No presente estudo, as eficácias foram superiores a encontrada pelo autor. O grupo tratado I apresentou eficácia de 99,73%, no dia +7 e de 100%, no dia +28; o grupo tratado II apresentou eficácia de 99,75%, no dia +7 e de 99,91%, no dia +28. Essa eficácia superior observada no presente estudo deve-se ao fato de que em estudos com cães e gatos domiciliados, o ambiente não é controlado, comprovando a importância de uma estratégia integrada de controle, pois, somente 5% das pulgas estão sobre o hospedeiro e 95% encontram-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Cruthers et al. (2001) avaliaram a eficácia do fipronil 10% “topspot” em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis* e obtiveram eficácia de 100%, no dia +2. O presente estudo apresentou resultados semelhantes ao do autor corroborando com o presente estudo. O grupo tratado I apresentou eficácia de 99,36% e o grupo tratado II apresentou resultado de eficácia de 100% para o mesmo dia experimental.

Young, Jeannin e Boeckh (2004) avaliaram a eficácia do fipronil 10% “spot-on”, metoprene 9% e fipronil 10% em associação com metoprene 9% em cães infestados artificialmente com 200 exemplares de *C. felis felis*. A eficácia obtida do fipronil 10% foi superior a 95% por cinco semanas corroborando com o presente estudo que também realizou infestações artificiais com um número maior de pulgas nos grupos experimentais e apresentou resultados de eficácias semelhantes. O grupo tratado I apresentou eficácia de 95,06%, no dia +35, o grupo tratado II apresentou 95,60% de eficácia para o mesmo dia experimental, confirmando que não houve influência do nível de desafio populacional de *C. felis felis* sobre a eficácia do fipronil.

Tancredi (2009) avaliou a eficácia de uma formulação tópica de fipronil 10%, a eficácia residual de uma formulação em teste de fipronil e a influência do banho sobre *C. felis felis*, em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis*. O grupo que foi tratado com fipronil 10% apresentou eficácia superior a 95% até o dia +28 e no dia +35 a eficácia foi de 72,5%, encerrando o desafio. A eficácia não foi influenciada com banhos únicos ou realizados semanalmente, até o dia +21. Após o dia +28, as eficácias do grupo sem banho e com banhos semanais descaíram para 96,4% e 86,9%, prosseguindo em 100% no grupo com banho único. O presente estudo apresentou resultados de eficácia superiores ao da autora e o período residual foi também superior, pois, o desafio só foi encerrado no dia +42, quando as eficácias dos grupos tratados I e II foram inferiores a 70%.

Bonneau et al. (2010) realizaram um estudo em que foi comparada a eficácia do Effipro® “spot-on” e do Frontline® “topspot” em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis*, diferindo deste somente no tipo de veículo, no controle de pulgas. A eficácia obtida no dia +2 foi de 99,7% para o Effipro® e de 100% para o Frontline®, mantendo a eficácia superior a 95% por 93 dias para o Effipro® “spot-on” e de 79 dias para o Frontline® “topspot”. No presente trabalho, a eficácia foi semelhante ao encontrado por Bonneau et al. (2010) para o dia +2, para ambos os grupos. O grupo tratado I apresentou eficácia de 99,36% e o grupo tratado II apresentou 100%, porém, o período residual foi inferior ao encontrado pelo autor. Esse período residual diminuído pode estar relacionado aos cães sem raça definida utilizados no estudo de Bonneau et al. (2010), pois os cães não possuem um padrão genético sólido como o dos Beagles e pode haver uma resistência maior do hospedeiro a molécula de fipronil e também uma maior resistência da cepa de *C. felis felis*.

Outro fator que também pode ter contribuído é que o autor não menciona se realizou a separação de pulgas pelo sexo, lembrando que o macho é menos resistente, por isso, a importância de realizar a infestação com a separação do sexo uniforme.

Melo et al. (2012) avaliou a eficácia, em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis*, de três formulações orais de fipronil nas doses de 2 mg.kg⁻¹, 4 mg.kg⁻¹ e 6 mg.kg⁻¹ de peso corporal. O grupo tratado com 2 mg.kg⁻¹ apresentou eficácia de 100% para o dia +2 e de 83,79%, para o dia +7; o grupo tratado com 4 mg.kg⁻¹ apresentou eficácia de 88,34%, para o dia +2 e de 67,98%, para o dia +7. Ambos os grupos foram retirados do estudo por apresentarem eficácia inferior a 80%. O grupo que recebeu 6 mg.kg⁻¹ de fipronil por via oral apresentou eficácias de 97,88, 95,27, 88,75 e 71,43% para os dias +2, +7, +14 e +21 respectivamente. O presente estudo apresentou resultados de eficácias superiores ao obtido por Melo et al. (2012), pois o fenilpirazol quando administrado topicamente, no controle de *C. felis felis* mostra resultados superiores aos percentuais de eficácia do que quando administrado por via oral. O fipronil quando administrado por via oral, apresenta pronta disponibilização e eliminação, diminuindo o período residual. Defra (1999) afirmou que o fipronil quando administrado por via oral em baixas concentrações possui uma meia vida mais longa, bem como, um percentual elevado do produto fica armazenado nos tecidos dos animais, sendo liberado mais lentamente.

Kužner et al. (2013) avaliaram a eficácia do fipronil 10% “spot-on” em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis* e obtiveram eficácia superior a 95% durante 56 dias. O presente estudo apresentou resultados de eficácia inferior ao do autor provavelmente devido à metodologia empregada que apresentou diferentes dias de infestação e avaliação da eficácia do produto. O presente estudo realizou a metodologia preconizada por Marchiondo et al. (2013).

Segundo Marchiondo et al. (2013), o grau ou a duração da eficácia de um determinado produto pode ser influenciada pela pressão das infestações, pela suscetibilidade específica natural da população de parasitos utilizados na infestação, pela raça do hospedeiro, tipo de pelagem, comportamento e manejo dos animais tratados, pela exposição à luz solar, chuva, hábito do animal de nadar, tomar banho, ou até mesmo o pH da água, bem como, por outras considerações climáticas e geográficas. O presente estudo demonstrou que a via de administração do produto e a metodologia empregada pode influenciar na eficácia e no período residual do produto.

6 CONCLUSÃO

Diferentes níveis de exposição de populações de *C. felis felis*, 100 e 300 exemplares, através de infestações semanais, não foram capazes de determinar diferentes respostas de eficácia do fipronil 10% “topspot” quando empregados em cães.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- BITAM, I.; DITTMAR, K.; PAROLA, P.; WHITING, M. F.; RAOULT, D. Fleas and flea-borne diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p. 667-676, 2010.
- BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment and control of flea and tick infestations. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 06, p. 1173-1200, 2009.
- BONNEAU, S.; FOURIER, J. J.; ROUSSEAU, C.; CADIERGUES, M. C. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental flea infestations (*Ctenocephalides felis*) in dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 16-20, 2010.
- CARLOTTI, D.N.; JACOBS, D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 11, n. 2, p. 83-98, 2000.
- COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47-54, 1993.
- COOP, R. L.; TAYLOR, M. A.; JACOBS, D. E.; JACKSON, F. Ectoparasites: recent advances in control. **Trens in Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 55-56, 2002.
- COOPER, P. R.; PENALIGGON, E. J. Use of fipronil to eliminate recurrent infestation by *Trichodectes canis* in a pack of bloodhounds. **Veterinary Record**, v. 139, n. 4, p. 95-95, 1996.
- COUTINHO, C. F. B.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAAMA, M.; TANIMOTO, S. T.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas (UFPR)**, v. 15, n. 1, p. 65-72, 2005.
- CORREIA, T. R.; MELO, R. M. P. S.; FERNANDES, J. I.; FREITAS, I. F.; VIEIRA, V. P. C.; RIBEIRO, F. A. R.; VEROCAI, G. G.; SCOTT, F. B. Eficácia de uma formulação para aplicação ambiental contendo o piretróide ciflutrina e o regulador de crescimento de insetos piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32 (Supl. 1), p. 17-20, 2010.
- CRUTHERS, L., SLONE, R.L., GUERRERO, J., ROBERTSON-PLOUGH, 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 Imidacloriprid (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, p. 43-44, 1996.

DEFRA. **Evaluation on: fipronil use as a public hygiene insecticide.** Department for Environment, Food and Rural Affairs, 116 p., 1999.

DRYDEN, M. W.; NEAL, J. J.; BENNETT, G. W. Concepts of Flea Control. **Companion Animal Practice**, v. 19, n. 4, p. 11-20, 1989.

DRYDEN, M. W.; RUST, M. K. The cat flea: biology, ecology and control. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 1, p. 1-19, 1994.

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.; BROCE, A. B. El Control Integral de las Pulgas en el Siglo 21. **Suplemento del Compendio Sobre Educación Continua para el Veterinario em Prática**, v. 24, n. 1, p. 1-7, 2003.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A.; VICKI, S.; RIGGS, B.; DAVENPORT, J.; KOBUSZEWSKI, D. Efficacy of dinotefuran–pyriproxyfen, dinotefuran–pyriproxyfen–permethrin and fipronil–(S)-methoprenetopical spot-on formulations to control flea populations in naturally infested pets and private residences in Tampa, FL. **Veterinary Parasitology**, v. 182, n. 2, p. 281-286, 2011.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A.; SMITH, V.; BERG, T. C.; LANE, M. Efficacy of selamectin, spinosad, and spinosad/milbemycin oxime against the KS1 *Ctenocephalides felis* flea strain infesting dogs. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 80, 2013.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A.; SMITH, V.; HEANEY, K.; S., FANGSHI. Efficacy of indoxacarb applied to cats against the adult cat flea, *Ctenocephalides felis*, flea eggs and adult flea emergence. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 126, p. 1-6, 2013.

FOURIE, L. J.; KOK, D. J.; PETER, R. J. Control of immature stages of the flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in carpets exposed to cats treated with imidacloprid. **Journal of South African Veterinary Association**, v. 71, n. 4, p. 219-221, 2000.

HAINZL, D.; CASIDA, J. E. Fipronil insecticide: Novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 23, p. 12764-12767, 1996.

HOGSETTE, J. A. Management of ectoparasites with biological control. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 147-151, 1999.

HOSKING, B.; SMITH, B. K.; SCHUELE, G.; STREHLAU, G.; JUNQUERA, P. Efficacy of a 12.5% pyriprole spot-on solution against natural flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 7, n. 1, p. 32-35, 2009.

HOVDA, L. R.; HOOSER, S. B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 455-467, 2002.

KRASNOV, B. R. **Functional and Evolutionary Ecology of Fleas: a model for ecological parasitology**. Cambridge University Press, 593 p., 2008.

KUŽNER, J.; TURK, S.; GRACE, S.; SONI-GUPTA, J.; FOURIE, J. J.; MARCHIONDO, A. A.; RUGG, D. Confirmation of the efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 1, p. 365-372, 2013.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: Editora MZUSP/FAPESP, 1ª edição, São Paulo, 291 p., 2000.

LINARDI, P. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 11, 2011.

LINARDI, P. M.; SANTOS, J. L. C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 345-354, 2012.

MARCHIONDO, A. A.; HOLDSWORTH, P. A.; FOURIE, L. J.; RUGG, D.; HELLMANN, K.; SNYDER, D. E.; DRYDEN, M. W. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition: Guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 194, n. 1, p. 84-97, 2013.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, 1998. v. 1: 262 p.

MELO, D. R. **Ação de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *C. felis felis* (Bouché, 1806) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2006. 38 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2006.

MELO, D. R., CRUZ, G. B.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 166-170, 2007.

MELO, R. M. P. S.; VIEIRA, V. P. C.; TAVARES, P. V.; BATISTA, L. C. S. O.; CARNEIRO, M. B.; CORREIA, T. R.; CID, Y. P.; COUMENDOUROS, K.; SCOTT, F. B. Eficácia do fipronil oral no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, Supl. 1, p. 15-20, 2012.

MOFFAT, A. S. New chemicals seek to outwit insect pests. **Science**, v. 26, n. 5121, p. 550-551, 1993.

NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; IKEDA, T.; SALGADO, V. L.; YEH, J. Z. Glutamate-activated chloride channels: unique fipronil targets present in insects but not in mammals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, n. 2, p. 149-152, 2010.

PAYNE, P. A.; DRYDEN, W. 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.

POSTAL, J. M.; JEANNIN, P. C.; CONSAVI, P. J. Field efficacy of a mechanical pump spray formulation containing 0,25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermalogical signs in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 153-158, 1995.

R Foundation for Statistical Computing (The R Foundation). R version 2.4.1 (2006-12-18). Copyright ©.ISBN 3-900051-07-0, 2006. Disponível em:<<http://www.http://rstudio.org/>>.Acesso em: 10/03/2012.

RUGG, D.; HAIR, J. A. Dose determination of a novel formulation of metaflumizone plus amitraz for control of cat fleas (*Ctenocephalides felis felis*) and brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 3, p. 203-208, 2007.

RUST, M. K.; DRYDEN, M. W. The Biology, Ecology, and Management of the Cat Flea. **Annual Review of Entomology**, v. 42, n. 1, p. 451-473, 1997.

RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis felis* (cat flea) on cats and dogs. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 5, p. 232-236, 2005.

SABNIS, S.; ZUPAN, J.; GLIDDON, M. Topical formulations of metaflumizone plus amitraz to treat flea and tick infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 3, p. 196-202, 2007.

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*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 300-311, 2008.

SCOTT, F. B.; MARTINS, I. V. F.; SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R. Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 13-18, 2002.

SHANKS, D. J.; ROWAN, T. G.; JONES, R. L.; WATSON, P.; MURPHY, M. G.; SMITH, D. G.; JERNIGAN, A. D. Efficacy of selamectin in the treatment and prevention of flea (*Ctenocephalides felis felis*) infestations on dogs and cats housed in simulated home environments. **Veterinary Parasitology**, v. 91, n. 3, p. 213-222, 2000.

SIKAK, M.; BURROWS, M. Flea control in cats: new concepts and the current armoury. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 1, p. 31-40, 2013.

SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended longevity of preemerged adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 6, p. 763-768, 1985.

TANCREDI, M. G. F. **Eficácia e segurança clínica comparativa de duas formulações de aplicação tópica contendo 10 % de fipronil no controle de ectoparasitos em cães e gatos.** 2009. 65 f. (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 253-268. 2001.

THE PESTICIDE MANUAL, 12ª Edição, Editora C. D. S. Tomlin, **The British Crop Protection Council**. Surrey, U. K. p. 413-415, 2000. Disponível em: <<http://bcpcdata.com/pesticide-manual.html>>. Acesso em 21/04/2013.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. **Health and environmental effects of fipronil**, 2000. Disponível em:<<http://www.pan-uk.org/archive/Publications/Briefing/fipronil.pdf>>. Acesso em: 04/04/2013.

USEPA. **New pesticide fact sheet - fipronil** (Washington, DC, US Environmental Protection Agency Office of Prevention, Pesticide and Toxic Substances), 1996. Disponível em: <<http://nepis.epa.gov/Exe>>. Acesso em: 04/04/2013.

USEPA. Environmental fate of fipronil. **California Environmental Protection Agency**, California, 2001. Disponível em: <<http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/fipronilrev.pdf>>. Acesso em: 13/04/2013.

VALADARES-INGLIS, M. C. C.; SHILER, W.; SOUZA, M. T. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. v. 1, p. 201-230.

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WARE, G. W. **The Pesticide Book**. 5ª ed. Thomson Publications. Fresno, C.A. 2000, 69 p.

YOUNG, D. R.; JEANNIN, P. C.; BOECKH, A. Efficacy of fipronil/(s)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*, Bouché). **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3, p. 397-407, 2004.

ANEXO

Anexo A:



Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ

Seropédica 04 de janeiro de 2013

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo intitulado “**Eficácia In Vivo do Fipronil sobre Diferentes Cargas Parasitárias de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) em Cães** “ encaminhado pelo Aluno (a) de Mestrado do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Cristiane Nunes Coelho da Rocha. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-FAPUR realizada no dia 04 de janeiro de 2013, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Coordenador da CEUA-FAPUR

Fabio Barbour Scott

Coordenador CEUA-FAPUR