

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

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E EFICÁCIA DE UMA COLEIRA
CONTENDO FLUMETRINA E PROPOXUR NO CONTROLE
DE *Ctenocephalides felis felis* E *Rhipicephalus sanguineus* EM
CÃES**

Pedro Ivan Fazio Junior

2012



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

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E EFICÁCIA DE UMA COLEIRA
CONTENDO FLUMETRINA E PROPOXUR NO CONTROLE
DE *Ctenocephalides felis felis* E *Rhipicephalus sanguineus* EM
CÃES**

PEDRO IVAN FAZIO JUNIOR

Sob a Orientação da Professora
Katherina Coumendouros

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2012

636.7089696

F287a

T

Fazio Junior, Pedro Ivan, 1984-
Avaliação clínica e eficácia de
uma coleira contendo flumetrina e
propoxur no controle de
Ctenocephalides felis felis e
Rhipicephalus sanguineus em cães /
Pedro Ivan Fazio Junior - 2012.
60 f.: il.

Orientador: Katherina
Coumendouros.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 42-49.

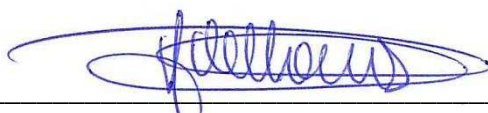
1. Cão - Parasito - Controle -
Teses. 2. Beagle (Cão) - Parasito
- Controle - Teses. 3. Carrapato -
Controle - Teses. 4. Pulga -
Controle - Teses. 5. Medicamentos
veterinários - Teses. I.
Coumendouros, Katherina, 1968-. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias. III.
Título.

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

PEDRO IVAN FAZIO JUNIOR

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 23/02/2012



Katherina Coumendouros, Dr^a., UFRRJ
(Orientadora)



Julio Israel Fernandes, Dr., UFPA



Clarissa Pimentel de Souza, Dr^a., UNESA



Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Dr^a., FAA/CESVA

*Este trabalho é dedicado a todas as
pessoas que estiveram ligadas a minha
vida e que no período deste trabalho
me ajudaram demonstrando que a
superação nos momentos difíceis vale
a pena, por estarmos ao lado de quem
realmente se importa com a minha
vitória.*

*“O que fizemos apenas por nós
mesmos morre conosco; o que fizemos
pelos outros e pelo mundo permanece
e é imortal.”*

Albert Pike

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua presença constante, pelo auxílio nas minhas escolhas e me confortar nas horas difíceis.

À Professora Katherina Coumendouros, pelo incentivo, pela oportunidade, pela participação e pela honra de ser seu primeiro orientado de mestrado.

Aos Professores Fabio Barbour Scott, Thaís Ribeiro Correia Azevedo e Isabella Vilhena Freire Martins pelo grande auxílio desde a graduação.

Aos meus pais, Geni Martins Fazio e Pedro Ivan Fazio, aos meus irmãos, Melissa Martins Fazio, Bruno Martins Fazio e Francini Martins Fazio e aos demais familiares pelo apoio e incentivo.

Às amigas Raquel Moreira Pires dos Santos Melo e Vanessa Paulino da Cruz Vieira pela revisão do trabalho.

Às amigas Cristiane Nunes Coelho da Rocha, Juliana Almeida Braga e Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista na ajuda fundamental em parte prática experimental deste trabalho. Aos amigos e colegas de laboratório Milena Carneiro, Cássio Florencio, Viviane Magalhães, Maria Clara, Fabricio Gaudêncio, Aline Pereira, Monique Lambert, Diego Dias, Juliana Puig, Ana Luiza, Pedro Vianna, Vinicius Carvalho, Yara Cid, Alessandro Santos, Elisabeth Santos, Caroline Belchior, Fernando Sayeg e aos demais estagiários que auxiliaram também em parte prática deste trabalho.

Aos amigos Michel Alves, Gideão Galvão, Janaína da Soledad, Rafaella Câmara, Thiago Marques, Leonardo Burlini, Luciana Bezerra, Guilherme Verocai, Vivian Suane, Aline Falqueto, Ulisses Stelmann e Aldenice Pereira pela amizade e apoio durante o período do mestrado.

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

Aos tratadores dos animais que auxiliaram na manutenção dos canis.

À Bayer Saúde Animal por ter cedido o material para realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Apoio a Pesquisa da Universidade Rural (FAPUR) pelo apoio financeiro.

Aos animais que sem eles não seria possível a realização deste trabalho.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

Pedro Ivan Fazio Junior, filho de Pedro Ivan Fazio e Geni Martins Fazio, nasceu no dia 06 de novembro de 1984, no município de Vitória, Estado do Espírito Santo. cursou parte do início fundamental no Colégio Americano Batista e na Escola Arthur da Costa e Silva ambas em Vitória - ES. cursou o ensino médio no Centro Educacional Federal do Espírito Santo e Colégio Nacional localizados no município de Vitória – ES. Em 2003 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) em Alegre – ES. Durante a graduação atuou como estagiário do laboratório de Parasitologia Veterinária sob orientação da Professora Isabella Vilhena Freire Martins e nos anos de 2006 e 2007 atuou como monitor das disciplinas Parasitologia Veterinária e Doenças Parasitárias. Ainda em 2005 estagiou, durante as férias, no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) sob orientação dos Professores Katherina Coumendouros e Fabio Barbour Scott, tendo dado continuidade ao estágio durante as férias nos anos subsequentes. No ano de 2008, mesmo ano de colação do grau de Médico Veterinário, foi estagiário residente do LQEPV até o ano de 2010 sendo responsável pelo setor de Parasitologia Veterinária e Análises Clínicas. Em 2010 ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – área de concentração: Parasitologia Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em nível de Mestrado. Foi bolsista CNPq, de março de 2010 a fevereiro de 2012, sob a orientação da professora Katherina Coumendouros do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da UFRRJ.

RESUMO

FAZIO-JUNIOR, Pedro Ivan. **Avaliação clínica e eficácia de uma coleira contendo flumetrina e propoxur no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães.** 2012. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de uma coleira impregnada com Flumetrina (2,5%) e Propoxur (10%) sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães Beagle com avaliação de possíveis alterações da colinesterase sérica (butirilcolinesterase) após o uso da coleira. Para isso foram utilizados 20 cães da raça Beagle, divididos em dois grupos, onde em 10 animais foram colocadas as coleiras impregnadas e os outros 10 sem nenhum tratamento (controle). Cada cão foi infestado com 50 casais de *C. felis felis* e 25 casais de *R. sanguineus* semanalmente no primeiro mês e a partir do segundo mês quinzenalmente até o dia +210. Quarenta e oito horas após as infestações foram realizadas avaliações com contagem de pulgas e carrapatos vivos recuperados nos animais. Para dosagem da colinesterase sérica foram coletadas amostras de sangue dos animais nos dias -14, -7, +1, +5, +10, +30, +45, +60, +75, +90, +105, +120, +135, +150, +165, +180, +195 e +210. Todos os animais foram avaliados semanalmente em relação a sinais clínicos compatíveis com intoxicação. Posteriormente ao término do experimento de eficácia as coleiras foram removidas e após sete dias foi realizada nova dosagem da colinesterase. A eficácia para *C. felis felis* foi superior a 80% até o dia +168 após tratamento. A eficácia para *R. sanguineus* foi superior a 80% até o dia +182. Foi verificado que a coleira não diminuiu significativamente ($p \leq 0,05$) os níveis séricos de butirilcolinesterase nos cães comparando-se as médias antes e após o tratamento, no entanto, a atividade sérica da colinesterase aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) após a retirada da coleira. Evidenciou-se que a coleira a base de propoxur e flumetrina apresenta eficácia superior a cinco meses sobre *C. felis felis* e *R. sanguineus*. A alteração da colinesterase sérica dos animais pelo propoxur não foi relevante e nenhum sinal de toxicidade foi observado durante o período experimental.

Palavras-chave: Pulgas. Carrapatos. Butirilcolinesterase.

ABSTRACT

FAZIO-JUNIOR, Pedro Ivan. **Clinical evaluation and efficacy of a collar containing flumethrin and propoxur in the control of *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs.** 2012. 60p. (Dissertation, Master in Veterinary Science, Veterinary, Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

The objective of this study was to evaluate the efficacy of a collar impregnated with flumethrin (2.5%) and propoxur (10%) against adults of *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus* on Beagle dogs, and to evaluate possible changes in serum cholinesterase (butyrylcholinesterase) after the use of the collar. Twenty Beagle dogs were divided into two groups, on 10 animals impregnated collars were placed and the other 10 remained untreated (control group). Each dog was infested with 50 pairs of *C. felis felis* and 25 pairs of *R. sanguineus* weekly during the first month, and after the second month every two weeks until day +210. Forty-eight hours after infestation, live fleas and ticks were recovered and counted from the animals. For determination of serum cholinesterase, blood samples were collected on days -14, -7, +1, +5, +10, +30, +45, +60, +75, +90, +105, +120, +135, +150, +165, +180, +195 and +210. All animals were evaluated weekly for signs consistent with clinical intoxication. At the end of the trial, the collars were removed, and after seven days, new measurement of cholinesterase was done. . The efficacy for *C. felis felis* was over 80% for up to day +168 after treatment. The efficacy for *R. sanguineus* was over 80% up to day +182. It was found that the collar has not decreased significantly ($p \leq 0.05$) serum butyrylcholinesterase in dogs by comparing the means before and after treatment, however, the serum cholinesterase activity was significantly increased ($p \leq 0.05$) after removal of the collars. It was evident that the impregnated with propoxur and flumethrin has an efficacy superior to five months in the control of *C. felis felis* and *R. sanguineus*. The alteration in serum cholinesterase levels by propoxur was not relevant and no signs of toxicity were observed during the experimental period.

Key words: Fleas. Ticks. Butyrylcholinesterase.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Lista alfabética dos patógenos que podem ser transmitidos por *Rhipicephalus sanguineus*. 5
- Tabela 2.** Cronograma de infestações e avaliações de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*..... 19
- Tabela 3.** Cronograma de exame clínico geral e análise da butirilcolinesterase para avaliação da eficácia da coleira contendo propoxur (10%) e flumetrina (2,5%) sobre *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*..... 20
- Tabela 4.** Contagens individuais de pulgas, adultas e vivas, recuperadas através do método “Comb-Test”, dos animais dos grupos controles e medicadas, com o produto em teste ao longo do período experimental..... 23
- Tabela 5.** Valores de média e desvio padrão de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) adultas vivas e recuperadas dos animais controle e medicado com o produto em testes, assim como a eficácia pulguicida e o valor de P relativo a comparação das médias dos distintos grupos. 24
- Tabela 6.** Contagens individuais de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*), adultos vivos e fixados, recuperados através do método “Comb-Test” e pela coleta manual, dos animais dos grupos controle e medicado com o produto em teste ao longo do período experimental..... 28
- Tabela 7.** Valores de média e desvio padrão de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) adultos vivos e fixados recuperadas dos animais controle e medicado com o produto em testes, assim como a eficácia carrapaticida e o valor de P relativo a comparação das médias dos distintos grupos. 29
- Tabela 8.** Desvio padrão, valores individuais e médios encontrados de butirilcolinesterase, em U/L, em cães da raça Beagle dos grupos controle e medicado durante todo período experimental. 33

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Número médio de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas recuperados dos animais controles e medicados com o produto em teste ao longo do período experimental. 25
- Figura 2.** Eficácia pulguicida para a espécie *Ctenocephalides felis felis* do produto em teste. 26
- Figura 3.** Número médio de carrapatos adultos vivos e fixados (ingurgitados ou não) recuperados dos animais controle e medicados com o produto em teste ao longo do período experimental. 30
- Figura 4.** Eficácia carrapaticida para a espécie *Rhipicephalus sanguineus* do produto em teste. 31
- Figura 5.** Valores médios encontrados de butirilcolinesterase sérica em cães beagle dos grupos tratado com propoxur (10%) e flumetrina (2,5%) e controle durante todo período experimental. 35

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
BChE	Butirilcolinesterase
DL50	Dose Letal 50
LQEPV	Laboratório Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
Max	Máximo
Min	Mínimo
q.s.p.	quantidade suficiente para
U/L	Unidades por Litro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

UFRRJ / Biblioteca Central / Divisão de Processamentos Técnicos	iii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Biologia e Importância de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	3
2.2 Biologia e Importância de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	4
2.3 Controle Químico de Ectoparasitas	6
2.4 Piretróides	7
2.4.1 Flumetrina	9
2.5 Carbamatos e Organofosforados	10
2.5.1 Propoxur	11
2.5.2 Intoxicação por Agentes Anticolinesterásicos.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Localização do Estudo e Seleção dos Animais	16
3.2 Manejo dos Animais	16
3.3 Manutenção das Colônias de Pulga e de Carrapato.....	17
3.4 Delineamento para Teste de Eficácia Carrapaticida e Pulcida.....	17
3.5 Avaliação da Segurança Clínica e Quantificação da Colinesterase.....	19
3.6 Análise Estatística.....	21
4 RESULTADOS.....	22
4.1 Eficácia da Coleira sobre <i>Ctenocephalides felis felis</i>	22
4.2 Eficácia da Coleira sobre <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	27
4.3 Quantificação da Colinesterase e Avaliação Clínica.....	32
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÕES.....	40
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos da criação de animais de companhia pelo homem ocorreram há milhares de anos, no entanto, somente nas últimas décadas houve considerável aumento na aquisição destes animais. Isso levou a diversas consequências como a ampliação de pesquisas relacionadas a doenças que acometem estes animais, desenvolvimento na área nutricional, aumento da produção de medicamentos, entre outros.

A ampliação da proximidade do homem com o animal também acarretou no aumento de zoonoses e uma considerável preocupação nos cuidados em relação a suas doenças assim como no controle de pulgas e carrapatos. Estes ectoparasitas exercem ação irritativa e inflamatória em seus hospedeiros, além de transmitir patógenos, atuando como vetor biológico ou hospedeiro intermediário.

As perdas econômicas causadas por estes ectoparasitas ultrapassam o valor de milhões de dólares anuais. Estes prejuízos estão relacionados principalmente ao surgimento da resistência destes ectoparasitas aos diversos compostos químicos encontrados no mercado. Em contrapartida houve uma aceleração, em relação a pesquisas, em busca de novos compostos que possam controlar pulgas e carrapatos de uma forma eficaz e duradoura.

Nos últimos anos a indústria farmacêutica, além de buscar o desenvolvimento de diversos tipos de compostos químicos com a finalidade de combater a infestação por pulgas e carrapatos, tem se preocupado também com a forma de aplicação destes compostos. Comercialmente é possível encontrar diferentes formas de aplicação de produtos, dentre as mais utilizadas estão produtos “*spot-on*”, sabonetes, xampus, aerossóis, talcos e coleiras, esta última sendo muito utilizada devido a sua eficácia e principalmente ao longo período de ação.

Além da forma de aplicação, o surgimento de resistência frente a diversos compostos químicos levou ao desenvolvimento de pesquisas de alguns grupamentos dentre eles os organofosforados, neonicotinóides, reguladores de crescimento, carbamatos, piretróides, dentre outros para o controle dos ectoparasitas de animais de companhia.

A ampla utilização destes produtos, de forma inadequada, pode acarretar, além da resistência parasitária, sinais clínicos característicos de intoxicações como sialorréia, diarreia, êmese, letargia, tremores, convulsões e algumas vezes a morte do animal. Com isso pesquisas relacionadas ao estudo de eficácia ectoparasiticida e segurança clínica têm sido realizadas para oferecer uma melhor confiabilidade ao proprietário e segurança para os animais.

O diagnóstico das intoxicações por ectoparasiticidas, frequentemente na Medicina Veterinária, está relacionado ao histórico do animal, sinais clínicos e resposta ao tratamento com fármacos antagonistas à intoxicação. Algumas ferramentas de diagnóstico podem auxiliar na detecção dessas intoxicações.

Alguns compostos utilizados no controle de pulga e carrapatos, como carbamatos e organofosforados, são responsáveis pela inibição da atividade da colinesterase, que possui importância na transmissão de impulsos nervosos nos animais. A quantificação desta enzima através do soro dos animais pode ser um mecanismo de grande importância no diagnóstico da intoxicação por agentes anticolinesterásicos.

Com essa percepção, este trabalho objetivou avaliar a eficácia de uma coleira a base de flumetrina associado ao propoxur no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães e sua segurança clínica de uso através da quantificação da colinesterase sérica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia e Importância de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas são insetos ápteros, pertencentes ao Filo Arthropoda, à Classe Insecta e da Ordem Siphonaptera (OLIVEIRA et al., 2008). São hematófagos e o repasto sanguíneo se prolonga após a repleção para que o sangue excedente sirva de alimento às larvas. A alternância entre vida livre e parasitária nos estágios larvários e adultos faz com que as pulgas participem de diferentes elos na cadeia epidemiológica atuando como parasitos propriamente ditos, vetores biológicos e hospedeiros invertebrados (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

São insetos cosmopolitas, com 3000 espécies e/ou subespécies aproximadamente catalogadas (LEWIS, 1998). No Brasil se destacam *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903), *Pulex irritans* (Linnaeus, 1758), *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) e *C. felis felis* (Bouché, 1835) além de algumas espécies da família Rhopalopsyllidae (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Entre as duas espécies supracitadas de *Ctenocephalides* destaca-se a subespécie *C. felis felis*, sendo esta considerada um dos ectoparasitas de grande importância no mundo (RUST; DRYDEN, 1997; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

A subespécie *C. felis felis* é holometabólica possuindo três estágios larvários. O ciclo de ovo, larva, pupa e adulto é completado em aproximadamente 30 dias, com fêmeas emergindo antecipadamente ao macho, podendo variar de acordo com a temperatura, umidade e alimentação obtida pela larva (LINARDI; NAGEM, 1972; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

São importantes não só pela transmissão de patógenos, mas também por determinar diversas reações no seu hospedeiro como: irritação provocada pela inoculação de sua saliva no momento da picada podendo resultar numa hipersensibilidade do tipo 1 (tipo imediata) conhecida como DAPP (Dermatite alérgica a picada de pulga) (SCHEIDT, 1988) e a ação espoliadora onde em grandes infestações podem levar o hospedeiro a anemia devido à hematofagia (DRYDEN, 1993).

Dentre as enfermidades transmitidas por *C. felis felis* destaca-se o cestóide zoonótico *Dipylidium caninum*, parasito de cães e gatos (PUGH, 1987). Também é responsável pela transmissão das riquetsias *Rickettsia typhi* (tifo murino) e *Rickettsia felis*, além de *Bartonella*

henselae (STAGGEMEIER et al., 2010) e também *Yersinia pestis* (RAIL et al., 1980; ERICKSON et al., 2006).

2.2 Biologia e Importância de *Rhipicephalus sanguineus*

Os carrapatos são pertencentes ao Filo Arthropoda, Classe Arachnida, com grande importância na Saúde Pública e Veterinária. Devido ao seu hábito hematófago, pode causar danos diretos ou atuar como vetores de diversos patógenos afetando tanto animais de produção, animais de companhia e até o homem (OLIVER, 1989; RAOULT; ROUX, 1997; AZAD; BEARD, 1998; PAROLA; RAOULT, 2001). Das quase 900 espécies catalogadas de carrapatos (BARKER; MURRELL, 2004) apenas 10% são responsáveis pela transmissão de patógenos como vírus, bactérias, protozoários e filarídeos (OLIVER, 1989; JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Os carrapatos pertencentes a Família Ixodidae, conhecida como carrapatos duros devido a sua placa quitinizada dorsal. São de grande importância econômica e sanitária, onde se destacam os gêneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* e *Rhipicephalus* (PAROLA; RAOULT, 2001). O gênero *Rhipicephalus* compreende aproximadamente 80 espécies (DANTAS-TORRES, 2008), geralmente são pequenos, sem ornamentação e com ligeiro dimorfismo sexual. A espécie *Rhipicephalus sanguineus* conhecida, no Brasil, como o carrapato vermelho do cão está presente em todo o mundo podendo parasitar não só os cães, como outros animais domésticos, diversas espécies de animais selvagens e o homem (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; DANTAS-TORRES et al., 2006; DANTAS-TORRES, 2008).

Como outros ixodídeos, *R. sanguineus*, possui quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, ninfa e adulto. Sendo que estes três últimos estágios ocorrem em um hospedeiro diferente ou no mesmo hospedeiro dependendo das condições, uma vez que a ecdise entre cada fase é realizada no ambiente (DANTAS-TORRES, 2008).

Em condições favoráveis o ciclo de vida desta espécie pode ser completado de 63 a 91 dias (GODDARD, 1987; BECHARA et al., 1995; LOULY et al., 2007). Estudos realizados por Goddard (1987) demonstraram que as larvas, ninfas e adultos podem sobreviver em jejum por até nove, seis e 19 meses, respectivamente.

O carrapato vermelho do cão é conhecido por ser o principal vetor dos patógenos *Babesia canis*, agente etiológico da babesiose canina, e *Ehrlichia canis*, da erliquiose

monocítica canina. Além destes se tem conhecimento de um vasto número de agentes patogênicos que *R. sanguineus* é ou pode ser responsável pela transmissão (Tabela 1) (DANTAS-TORRES, 2008).

Tabela 1. Lista alfabética dos patógenos que podem ser transmitidos por *Rhipicephalus sanguineus**.

Agente Etiológico	Enfermidade
<i>Anaplasma marginale</i> ^b	Anaplasmose bovina
<i>Anaplasma platys</i> ^a	Trombocitopenia cíclica canina
<i>Babesia caballi</i> ^b	Babesiose equina
<i>Babesia canis</i>	Babesiose canina
<i>Babesia gibsoni</i>	Babesiose canina
<i>Cercopithifilaria grassi</i>	Filariose canina
<i>Coxiella burnetii</i>	Febre Q
<i>Dipetalonema dracunculoides</i>	Filariose canina
<i>Ehrlichia canis</i>	Erliquiose monocítica canina
<i>Hepatozoon canis</i>	Hepatozoonoses canina
<i>Leishmania infantum</i> ^a	Leishmaniose visceral canina
<i>Mycoplasma haemocanis</i>	Haemobartonelose canina
<i>Rangelia vitalli</i> ^a	Peste de Sangue ou Nambiuvu
<i>Rickettsia conorii</i>	Febre Maculosa Mediterrânea
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Febre Maculosa das Montanhas Rochosas
<i>Theileria equi</i> ^b	Theileriose

*Adaptado Dantas-Torres (2008)

^a Apesar das evidências indicando que *R. sanguineus* pode ser vetor desses patógenos novas pesquisas devem ser realizadas para provar isto.

^b *R. sanguineus* raramente se alimentam de outros hospedeiros que não o cão, por isto o risco de transmissão na natureza é menor.

A incriminação dos carrapatos como vetores de um dado patógeno é baseado em estudos de laboratório, evidência ecológica, ou ambos (DANTAS-TORRES, 2008). A ecologia dos carrapatos e as interações com seu ambiente natural é fundamental para o espaço e variação temporal no risco de infecção por agentes patogênicos transmitidos (BOWMANN; NUTTAL, 2008).

A característica do ciclo heteroxeno visto, por exemplo, em *R. sanguineos*, é um fator que propicia a transmissão de patógenos por carrapatos entre seus hospedeiros, além desta característica dificultar as principais medidas empregadas no controle do carrapato do cão (TAYLOR, 2001).

2.3 Controle Químico de Ectoparasitas

O controle de artrópodes parasitas de animais domésticos constituem o maior mercado global de saúde animal. Os animais são infestados por diversos ectoparasitas causando grandes perdas econômicas na pecuária, intensa irritação e doenças de pele em animais de companhia, ou problemas de saúde pública, incluindo picadas aos seres humanos ou transmissão de doenças zoonóticas. O controle de ectoparasitas é, portanto, de grande importância devido aos seus efeitos sobre o estado de saúde dos animais (TAYLOR, 2001)

Inseticidas de vários grupamentos químicos, como organofosforados, carbamatos, formamidas, piretrinas, piretróides, lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas), nitroguanidinas e fenilpirazoles, em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, aerossóis, colares impregnados, *spot-on*, *strip-on*, *pour-on*, são empregados no controle dos principais ectoparasitos de cães e gatos (SCOTT et al., 2002). A escolha e o forma de aplicação de ectoparasiticidas dependem, em grande parte, do tipo criação de animais e práticas de gestão, bem como da espécie de ectoparasita causador da infestação (TAYLOR, 2001).

Em relação a forma de aplicação os produtos em pó possuem como vantagens a fácil aplicação e imediata eficácia, no entanto, apresentam curto período de eficácia. Os produtos na forma de xampus e imersão distribuem-se bem no pelo do animal porém possuem um curto período (até sete dias) de eficácia. Já os produtos *spot-on* são de fácil aplicação mas atuam apenas por um mês sendo necessário aplicações mensais (ROSS et al. 1998; HOPKINS et al., 1996; ARTHUR et al., 1997; WITCHEY-LAKSHMANAN, 1999; TANCREDI et al., 2009). As coleiras possuem como vantagens a fácil aplicação e longo período de eficácia dependendo do ativo utilizado e oferecem como principal desvantagem a necessidade de dias para obter-se uma alta eficácia (ESTRADA-PEÑA; ASHER, 1999; WICHEY-LAKSHMANAN, 1999; ESTRADA-PEÑA; RÉME, 2005).

Há diversos compostos químicos comerciais, os piretróides se destacam por sua alta eficiência no controle de ectoparasitas e seu baixo poder tóxico em mamíferos, além dos piretróides. carbamatos e organofosforados são amplamente utilizados na Medicina Veterinária.

2.4 Piretróides

Os piretróides são compostos que apresentam uma grande capacidade letal, podem ser alterados estruturalmente para retenção ou aumento de eficácia. Sua qualidade está relacionada ao excelente efeito *knockdown* em insetos voadores combinado com baixa toxicidade para mamíferos (ELLIOTT et al., 1978; SHAFER et al., 2005). São moléculas derivadas das piretrinas, produzidas a partir das flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Em relação às piretrinas, os piretróides são moléculas mais estáveis e com maior atividade inseticida (MARSELLA, 1999).

São caracterizados pela sua evolução em quatro gerações. A primeira, lançada no mercado em 1949, representada pela aletrina cuja produção era complexa, envolvia mais de 20 reações químicas até a obtenção do produto final. A segunda geração foi representada pela tetrametrina (1965), resmetrina (1967), bioresmetrina (1967), bioaletrina (1969) e fonotrina (1973). A terceira geração, com maior atividade inseticida e fotoestabilidade que as gerações anteriores, era representada pelo fenvalerato e permetrina. A quarta é a atual geração onde é altamente efetiva em baixas doses representada pela bifentrina, cipermetrina, ciflutrina, deltametrina, esfenvalerato, fenpropatrina, flucitrinato, fluvalinato, praletrina, teflutrina, tralometrina, zeta-cipermetrina e flumetrina (WARE; WHITACRE, 2009).

Os piretróides são classificados, em relação ao seu modo de ação, em dois tipos. O tipo I atua com descargas repetitivas nos canais de sódio além de ter um coeficiente de temperatura negativo, ou seja, com a diminuição da temperatura aumenta seu poder inseticida. Já os piretróides tipo II atuam na despolarização da membrana e nos receptores do ácido gamaaminobutírico (GABA) e possuem coeficiente de temperatura positiva (VALENTINE, 1990; WARE; WHITACRE, 2009). A sensibilidade à luz varia entre os vários tipos de piretróides (SANTOS et al., 2007).

Apesar de possuírem baixa toxicidade para mamíferos, os piretróides, em alguns casos, têm aumentado os riscos aos pássaros e/ou mamíferos (NARAHASHI, 1996; QUEIROZ et al., 2001). Ensaio laboratoriais demonstraram que os piretróides são muito tóxicos para peixes, abelhas e artrópodes aquáticos, tais como lagostas e camarões (GRISOLIA, 2005; VIRAN et al., 2003). Podem intoxicar outras espécies expostas acidentalmente durante a aplicação do produto ou ingestão de alimentos contaminados (SANTOS et al., 2007).

Os efeitos da intoxicação por piretróides estão relacionados à sua estrutura química. Podem ser estruturalmente divididos em dois grupos segundo a ausência (tipo I) ou presença (tipo II) de um grupo ciano (CN) na porção fenoxibenzil (VERSCOYLE; ALDRIDGE, 1980; NASUTI et al., 2003; LATUSZYNSKA, 2003). Os piretróides do tipo I parecem agir principalmente nos nervos periféricos causando a Síndrome do Envenenamento tipo I ou “Síndrome T”, caracterizada por induzir, em ratos, tremores por todo corpo, comportamento agressivo, aumento da sensibilidade aos estímulos externos, hiperexcitabilidade, ataxia e convulsões. Em mamíferos não roedores causa paralisia progressiva. Os piretróides tipo II agem preferencialmente no sistema nervoso central induzindo a Síndrome da Coreoatetose tipo II ou “Síndrome CS” cujos sintomas de intoxicação em ratos são hipersensibilidade, salivação abundante, agitação das mãos ou patas anteriores, movimentos de escavar e tremores periódicos que podem evoluir à desordem nervosa caracterizada pelos movimentos involuntários e incontroláveis coréicos e atetósicos e, em alguns casos, à movimentos clônicos repetitivos (NARAHASHI, 1996; CANTALAMESSA, 1993; SPENCER et al., 2001).

Enquanto a toxicidade dos inseticidas piretróides tem sido extensivamente caracterizada, dados de toxicocinética ainda são escassos e incompletos (ANADON et al., 1996). Em geral são rapidamente e extensivamente absorvidos pelo trato gastrointestinal após a administração oral e pelo trato respiratório através da inalação de pó ou spray, entretanto, são pouco absorvidos através da pele intacta (SODERLUND et al., 2002).

Para aumentar a sua atividade inseticida muitas piretrinas e piretróides são associados com um agente sinérgico, como por exemplo, butóxido de piperonila, N-octilbicyclohepteno dicarboximida, sulfóxido, sesamina, óleo de gergelim, sesamolin e isosafrol. Algumas formulações podem ainda incluir inseticidas adicionais, repelentes de insetos, ou ambos, e esses geralmente contém muitos solventes hidrocarboneto (VALENTINE, 1990). Alguns piretróides aerossóis podem ainda ter base aquosa ou, alternativamente, com base em álcool ou petróleo (aumentando a toxicidade). A co-administração de piretróides com butóxido de piperonila ou inseticidas organofosforados, ou de ambos, aumenta a eficácia inseticida, mas também a toxicidade, diminuindo aos valores da DL50 (ANADON et al., 2009).

Os piretróides possuem alta eficácia comprovada em diversos insetos e ácaros, inclusive alguns estudos demonstram tal eficácia sobre *C. felis felis* e *R. sanguineus* (FRANC; CARDIEGUES, 1999; VAN DEN BOS; CURTIS, 2002; ENDRIS et al. 2003; FRANC; BOUHSIRA, 2009).

2.4.1 Flumetrina

A flumetrina é um piretróide do tipo II de quarta geração (ANADÓN et al., 2009) muito empregado na Medicina Veterinária no controle de carrapatos, piolhos, moscas e ácaros. Através de formulações spray, *pour-on* e banhos convencionais, a utilização, de acaricidas foi relatada com eficácia no controle de carrapatos monoxenos e heteroxenos de bovinos em vários países (GARG et al., 1998).

Mehlhorn et al. (2011) avaliaram a atividade da flumetrina em uma formulação comercial *pour-on* sobre carrapatos europeus verificando a atividade do ativo sobre os pêlos do dorso e dos pés tratados de bovinos e ovinos. Neste estudo comprovaram a eficácia do produto de quatro a cinco semanas após tratamento no caso das espécies *Ixodes ricinus* e *Dermacentor reticulatus* e no caso de *R. sanguineus* obteve-se uma proteção integral por duas semanas após o tratamento. O efeito acaricida entre os pêlos do dorso e dos pés foi relativamente idêntico. Ainda neste trabalho avaliaram que os carrapatos apresentaram repelência aos pêlos tratados com flumetrina em relação aos não tratados, demonstrando que este piretróide além de possuir a ação acaricida possui o efeito repelente aos carrapatos estudados.

Estudo realizado por Fourie et al. (2001) demonstrou que a flumetrina teve eficácia acima de 80% durante quatro semanas sobre os carrapatos *Hyalomma* spp e *Rhipicephalus evertsi evertsi* em duas diferentes raças de ovelhas. Também se evidenciou que a região de aplicação da flumetrina sob o animal pode influenciar na eficácia do produto em ovelhas. Sobre *Hyalomma dromedarii*, além de alta eficácia (EL-AZAZY, 1996), a flumetrina, em relação à coumafós, causou redução significativa na postura e eclodibilidade em carrapatos fêmeas que sobreviveram a concentrações subletais, enquanto doses subletais de coumafós não tiveram efeito sobre o potencial reprodutivo do carrapato. Os resultados mostraram que a flumetrina foi oito vezes mais tóxica do que o coumafós (ALAHMED et al., 2001).

Alguns estudos comprovaram uma considerável eficácia da flumetrina para piolhos de animais de produção como *Bovicola ovis* e *Melophagus ovinus* (LIEBISCH; BEDER, 1988) em ovinos, *Bovicola bovis* (LIEBISCH et al., 1994) em bovinos, *Haematopinus tuberculatus* (GARG et al., 1997) em búfalos e *Damalinia caprae* (GARG et al., 1998) em caprinos.

A flumetrina também apresentou uma efetiva atividade sobre o ácaro *Psoroptes ovis* em bovinos (LOSSON; LONNEUX, 1992). Em animais naturalmente infestados foi

verificada ausência do ácaro no dia +7 após o tratamento, sendo que no dia +28 os animais infestados apresentaram melhora clínica total além de ganho de peso.

Foi possível constatar, em regiões que utilizavam a flumetrina para o controle da mosca tsé tsé, a ocorrência de redução da prevalência de Tripanossomíase Animal Africana, demonstrando também a eficiência deste ativo sobre *Glossina palpalis* (LÖHR et al., 1991; BAUER et al., 1992).

2.5 Carbamatos e Organofosforados

Os carbamatos e organofosforados são agentes anticolinesterásicos. Estes agentes inibem a ação da enzima AChE responsável pela quebra da ACh na fenda sináptica. Esta inibição leva ao acúmulo de ACh nos receptores colinesterásicos causando uma constante estimulação nervosa levando a morte do inseto por paralisia (MASON et al., 1984).

A transmissão nervosa dos artrópodes ocorre através de sinapses nervosas, onde podem ocorrer dois tipos de estímulos, um excitatório e outro inibitório dependendo do neurotransmissor liberado. O estímulo excitatório é evidenciado pela acetilcolinesterase (AChE) enquanto o estímulo inibitório é comandado pelo ácido gama aminobutírico (GABA). Numerosos estudos têm indicado os componentes necessários no sistema colinérgico do sistema nervoso dos insetos, dentre eles a acetilcolina (ACh), a colina acetiltransferase (responsável pela síntese da ACh), a acetilcolinesterase que tem como função a quebra da ACh na fenda sináptica e receptores da colinesterase encontrados no neurônios pós-ganglionares (NATION, 2001).

A chegada do potencial de ação na terminação nervosa faz com que a acetilcolina seja liberada, a partir das vesículas intracelulares onde se encontra armazenada no interior das células pré-ganglionares, por meio de exocitose, em um processo dependente de cálcio. Em seguida, a acetilcolina difunde-se pela fenda sináptica e interage com os receptores do corpo celular dos neurônios pós-ganglionares (FANTONI; CORTOPASSI, 2002).

Os inseticidas carbamatos são intimamente relacionados aos organofosforados, mas ao contrário dos organofosforados, causam um bloqueio reversível da enzima AChE, já que o complexo é menos estável, sem modificá-la. No caso da ligação de compostos do tipo carbamato nas esterases (enzima carbamilada), a afinidade dentre eles é menos intensa e a medida que o organismo sintetiza e disponibiliza mais enzima, a tendência é o desligamento das ligações carbamato-esterase e ocorrência cada vez menos frequente desse tipo de ligação,

devido a competição por substrato (CASIDA et al., 1983; VIOQUE-FERNANDEZ et al., 2007).

Os primeiros inseticidas carbamatos derivaram do ácido ditiocarbâmico. O desenvolvimento contínuo levou à síntese dos monometilcarbamatos substituídos por fenil, vários dos quais possuíam excelente potencial inseticida. O marco principal na química inseticida foi alcançado quando os metilcarbamatos foram sintetizados com sucesso (KUHR; DOROUGH, 1976). Milhares de inseticidas metilcarbamatos foram sintetizados, apesar de apenas uma dúzia deles ter sido desenvolvida, com sucesso, como agentes comerciais (IVIE; ROWE, 1986).

Atualmente os carbamatos que tem ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários é o Carbaril, (Sevin[®], Dicarban[®]), Carbofuran, (Furadan[®]), Metomil, (Lannate[®]), Propoxur, (Aprocarb[®], Uden[®], Baygon[®]) (BRASIL, 1985).

2.5.1 Propoxur

O propoxur é um carbamato que na década de 1970 foi amplamente usado com a comercialização do produto Baygon[®] para controle de baratas e outras pragas domésticas (U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2000). Na década de 1960 o propoxur, considerado um excelente composto químico no controle de insetos, era utilizado especialmente em programas de controle da malária (SHRIVASTAVA et al., 1970; MOLINEAUX et al. 1976).

Na década de 1970, Horak (1976) avaliou a eficácia do propoxur em coleiras para *Heterodoxus* sp, *R. sanguineus* e *Ctenocephalides canis*. Após algumas inspeções manuais em oito cães para pulgas e carrapatos, foi colocada a coleira em quatro desses animais. Em seguida, semanalmente esses animais foram avaliados com contagem dos ectoparasitas presentes. Foi constatado que o número de pulgas e carrapatos se manteve reduzido até o dia +70, último dia de avaliação. Neste mesmo trabalho um cão infestado, com piolhos, pulgas e carrapatos, foi tratado com a coleira. Após duas horas foi constatada a queda de piolhos, e em sete dias a contagem de todos ectoparasitas foram reduzidas. A avaliação neste animal só ocorreu até o dia +7 não sendo avaliada a durabilidade da eficácia da coleira.

Miller et al. (1977) avaliaram a eficácia de propoxur e carbaril impregnada em coleiras no controle de *Ctenocephalides felis* em cães e gatos. O grupo de 10 cães que continha a

coleira impregnada com carbaril reduziu a população de pulgas em até 80% em 16 semanas. O outro grupo com a coleira impregnada com propoxur a população de pulgas foi reduzida em 90% até a 13ª semana, e após a 16ª semana a eficácia foi inferior a 80%. Em gatos, foi testada apenas coleira impregnada com carbaril em pelo menos 19 semanas a eficácia foi superior a 80%.

No início da década de 1980, Sisli et al. (1983) avaliaram a resistência do propoxur e outros inseticidas em *Musca domestica* na Turquia. Comprovaram uma alta resistência da população de mosca a alguns inseticidas inclusive ao propoxur. Observaram que as fêmeas sempre foram mais sensíveis ao propoxur em relação aos machos.

Shaurub El-s (1984) avaliou o efeito do propoxur nos ovariolos da mosca *Chrysomya albiceps*. Estudos histoquímicos demonstraram que nos ovariolos de moscas tratadas com propoxur o DNA, o RNA e a síntese de lipídios e proteínas estavam reduzidos o que poderia levar ao comprometimento do órgão reprodutivo destes insetos. Também foi verificada deterioração da cromatina no núcleo de algumas células. A síntese de carboidratos não foi reduzida em relação às moscas do grupo controle.

Corbel et al. (2004) avaliaram o sinergismo entre carbamatos e piretróides em larvas de *Culex quinquefasciatus*. Ao utilizar o propoxur com permetrina os níveis de eficácia foram elevados em relação à utilização destes produtos separadamente, determinando inclusive esta associação como alternativa de controle em populações de moscas resistentes a outras classes de inseticidas.

Fourie et al. (2003) avaliaram a associação da flumetrina com propoxur em coleiras no controle de *R. sanguineus* em cães na África do Sul. A eficácia destes compostos foi acima de 90% até o dia +170 após o tratamento.

Agrawal et al. (2010) compararam a eficácia de propoxur e piretróides, na forma de aerossóis, imidacloprid e fipronil na forma de gel para baratas em domicílios infestados na Alemanha com único tratamento. Os piretróides não reduziram a infestação de baratas, enquanto o fipronil e o imidacloprid apresentaram uma redução de mais 90% da população de baratas por 12 semanas. O propoxur foi o mais eficaz na primeira semana em relação aos outros, no entanto, sua eficácia só foi mantida até a oitava semana.

2.5.2 Intoxicação por Agentes Anticolinesterásicos

A exposição de animais a diversos agentes responsáveis por quadro de intoxicação é muito frequente. Segundo estudo apontado por McLean e Hansen (2012) dos 900.000 casos reportados em animais, a espécie canina (76%) foi a mais relatada, seguida pela felina (13%), equina (0,46%) e aves (0,42%).

Os agentes anticolinesterásicos, também conhecidos como agentes colinérgicos de ação indireta, atuam inibindo as colinesterases (AChE e BChE). Estas enzimas são responsáveis pela degradação da ACh. Sua inibição leva ao acúmulo deste neurotransmissor nos canais sinápticos prolongando sua ação nos terminais nervosos. A AChE predomina nos eritrócitos, pulmões, baço, neurônios e na matéria cinza do cérebro e a BChE no plasma, fígado, pâncreas, intestino delgado e matéria branca do cérebro (ALONZO; CORRÊA, 2003; MOTTA, 2003).

Os carbamatos e os organofosforados são os agentes anticolinesterásicos mais utilizados na medicina veterinária no controle de ectoparasitas além de ser utilizado no controle de algumas pragas urbanas. O mau uso destes produtos, intencional ou não, pode causar intoxicações em animais e no homem, podendo levar a morte (SACCARO, 2007).

Os efeitos farmacológicos da acetilcolina são similares aos produzidos por estimulação vagal, redução da pressão sistêmica, estímulo dos receptores muscarínicos, aumentando a motilidade gastrointestinal e secreções (AHRENS, 1997).

A natureza e a gravidade da toxicose induzida pelos agentes anticolinesterásicos são muito variáveis. Estas dependem do agente anticolinesterásico envolvido, sua via de exposição, sua afinidade pela colinesterase e sua farmacocinética no hospedeiro (ADAMS, 2003).

No músculo liso, promove aumento da contração muscular e relaxamento de esfíncteres de todo organismo. Este aumento da motilidade pode ser acompanhado de sinais clínicos como náuseas, eructações, vômitos, cólicas intestinais e defecação. No trato urinário, observa-se aumento da pressão miccional voluntária máxima e redução da capacidade vesical, além de relaxamento do trígono e esfíncter externo. Na musculatura brônquica, ocorre broncoconstrição e aumento da secreção das glândulas traqueobrônquicas. Não apenas nestas, mas observa-se aumento da secreção de todas as glândulas do organismo, como sudoríparas, lacrimais, salivares e de todo o trato digestório. No sistema cardiovascular, ocorre vasodilatação, redução da frequência cardíaca, diminuição da taxa de condução nos

tecidos especializados dos nodos sinoatrial e atrioventricular e redução da força de contração cardíaca. No sistema nervoso central, a ACh produz aumento de excitabilidade podendo ocorrer convulsões, embora, por possuir carga elétrica positiva, praticamente não atravessa a barreira hematoencefálica (SPINOSA et al., 2002).

Inúmeros fatores, como idade, raça, sexo, alimentação e espécie influenciam na toxicidade desses compostos. Por exemplo, animais jovens em geral são muito mais suscetíveis que os adultos, mas com alguns compostos ocorre o inverso. Bovinos Brahman e mestiços de Brahman parecem ser mais suscetíveis a alguns compostos que outros bovinos e há indícios de uma suscetibilidade maior do que o normal em ovinos Dorset Down. A restrição da ingesta hídrica torna os animais mais suscetíveis aos efeitos tóxicos, especialmente após tratamento oral com esses compostos para o controle de moscas do berne. A toxicidade de alguns compostos parece aumentar com o tempo de armazenamento. O clorpirifós é mais tóxico para os machos com altos níveis teciduais de testosterona e não é recomendado para touros com mais de oito meses de idade (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Um aspecto importante no diagnóstico da intoxicação por agentes anticolinesterásicos é a avaliação do grau da inibição da colinesterase no sangue total, soro ou tecidos. Uma redução a menos de 25% da atividade desta enzima é indicativo de exposição excessiva (WINGFIELD, 1998). Segundo Furlanello et al. (2006) uma redução da atividade enzimática maior ou igual a 50% em relação aos níveis de referência normais, associados com história compatível, sinais clínicos e resposta ao tratamento específico (atropina), é sugestivo de intoxicação.

Segundo Moraes (1999), as variações individuais ficam em torno de 15% e se devem a fatores variados, como idade, sexo e raça, sendo, de uma forma geral, as fêmeas mais susceptíveis aos inibidores de colinesterase e mulheres jovens apresentarem níveis de colinesterase plasmática inferiores a homens. O estado nutricional também interfere ocorrendo maior toxicidade oral por praguicidas em animais alimentados com dieta deficiente em proteínas. Em mulheres, ocorre redução na atividade da colinesterase durante o período menstrual e várias alterações durante a gestação. Várias enfermidades também podem alterar esta enzima, elevando-a ou reduzindo-a. A desidratação, úlceras intestinais, pancreatite, alguns tipos de câncer, infartos, infecções e anemia reduzem a atividade da colinesterase plasmática. Já diabetes, hipertensão, nefropatias e artrite podem elevar sua atividade. Várias drogas, como barbitúricos, fisostigmina, carbamatos, organofosforados, fenotiazínicos, atropina, escopolamina, estreptomina, cloranfenicol, hormônios estrogênicos e derivados de

cortisona e albumina, alteram a atividade da enzima. Segundo estudo realizado por Bareggi e Giacobini (1978), a clorpromazina aumenta a atividade da acetilcolinesterase em cães, aumentando o metabolismo da ACh.

Em um estudo realizado por Tecles et al. (2000) confirmou-se a eficácia da determinação da colinesterase por espectrofotometria em sangue total. Embora maior inibição tenha sido observada utilizando-se butirilcolina como substrato, foi recomendado pelos autores que se analise também a ACh, uma vez que alguns organofosforados e carbamatos podem inibir seletivamente a acetil, mas não a pseudocolinesterase. Os kits comerciais de rotina utilizam apenas uma das enzimas como substrato, detectando apenas atividade parcial de colinesterase.

Existem poucos estudos a respeito dos níveis de referência da atividade de colinesterase em cães. Abdelkader e Hauge (1986) avaliaram a colinesterase sérica canina encontrando valores de referência entre 2000-5000 U/L, semelhantes ao trabalho de Furlanello et al. (2006). Em outro estudo realizado por Thong et al. (1995), medindo a atividade de colinesterase plasmática, foram encontrados valores entre 860-3600 U/L, analisando-se 30 amostras de cães saudáveis da raça Beagle.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do Estudo e Seleção dos Animais

O ensaio foi realizado 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, localizada no Km 07 da BR 465, Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Para o experimento foram selecionados 20 cães da raça beagle, 10 fêmeas e 10 machos, sendo todos com idade superior a um ano. Para identificação dos animais foram utilizados *transponders* implantados no tecido subcutâneo. Todos os animais selecionados para o estudo se encontravam em bom estado sanitário, vermifugados e vacinados sem receber nenhum tipo de antiparasitário por dois meses previamente ao início do ensaio.

3.2 Manejo dos Animais

Os cães foram mantidos individualmente em baias totalmente cobertas, sendo que parte dos telhados eram transparentes permitindo a entrada de raios solares. As baias possuíam as seguintes dimensões: altura 2,0 m; largura 1,5; comprimento 1,50 m. O canil foi limpo diariamente efetuando-se a retirada das fezes, e limpeza com jato de água da superfície do piso. Uma vez por semana foi passada em todas as baias vassoura de fogo para manutenção do ambiente isento de parasitos. Durante o período experimental os animais foram alimentados diariamente com 300g de ração comercial para cães adultos.

Foi empregada ração contendo 12% de umidade (máx.), 4% matéria fibrosa (máx.), 24% de proteína bruta (mín.), 8% de matéria mineral (máx.), 12% de extrato etéreo (mín.), 2% de cálcio (máx.) e 1% de fósforo (mín.) que foi oferecida uma vez ao dia, respeitando-se a quantidade prescrita nas tabelas de orientação de consumo fornecidas pelo fabricante do produto. Foram utilizados comedouros e bebedouros individuais de plástico, higienizados diariamente com água e sabão neutro. Os animais não receberam qualquer suplementação ou aditivo alimentar durante o período experimental. Possíveis alterações no consumo de água e comida foram monitoradas e anotadas em formulário próprio.

Baseado no resultado da avaliação do dia -5, para a recuperação de carrapatos, foi elaborado uma lista decrescente com as contagens de parasitos. Consideraram-se os carrapatos vivos e fixados. Os dois mais parasitados foram sorteados, alocando-se um animal em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completassem as dez repetições distribuídas em dois grupos. Posteriormente efetuou-se o sorteio dos grupos para os tratamentos

3.3 Manutenção das Colônias de Pulga e de Carrapato

As pulgas da subespécie *C. felis felis*, foram provenientes de colônia do LQEPV. Para manutenção da colônia são utilizados gatos infestados semanalmente com 50 casais de pulgas. As formas imaturas foram retiradas manualmente das bandejas localizadas no fundo das gaiolas onde foram mantidos os gatos. O material retirado da bandeja foi peneirado e colocado em potes plásticos adaptados para manutenção das formas imaturas de pulgas mantidos em câmara climatizada com demanda bio química de oxigênio a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 10\%$ UR. A partir de 30 dias as pulgas adultas foram retiradas desses potes e separadas em tubos de vidros para serem infestadas nos animais em experimentação. A colônia de pulgas do LQEPV é mantida há mais de 12 anos sem a reintrodução externa de pulgas oriundas do ambiente e/ou outros animais.

Os carrapatos da espécie *R. sanguineus* também foram provenientes do LQEPV. Para manutenção da colônia são utilizados utilizando coelhos mestiços *Oryctolagus cuniculus* (L., 1758) como hospedeiros, conforme metodologia proposta por Neitz (1971). As infestações para manutenção da colônia foram realizadas semanalmente.

3.4 Delineamento para Teste de Eficácia Carrapaticida e Pulicida

Todos os animais foram alojados individualmente em baias no dia -21 para aclimação. No dia -7 os animais foram penteados para remoção de carrapatos e pulgas do ambiente e em seguida infestados com 50 pulgas machos e 50 fêmeas, adultas, não alimentadas e com 25 casais de adultos do carrapato *R. sanguineus*. Após 48 horas (dia -5), todos os animais foram penteados (“comb test”) e todas as pulgas e carrapatos foram retirados dos animais. Baseado nesta contagem preliminar foi elaborado uma lista decrescente com as contagens de parasitos. Para a randomização do ensaio, foi efetuado um sorteio de cada

animal, do mais parasitado para o menos parasitado, alocando-se um animal em cada grupo, e assim sucessivamente até que se completassem as dez repetições distribuídas nos dois grupos (controle e tratado).

Após o ranqueamento dos animais, no dia -2 cada animal foi infestado com 50 carrapatos adultos não-alimentados e 100 pulgas adultas não-alimentadas, ambos oriundos da colônia laboratorial mantida nas dependências do LQEPV.

Quarenta e oito horas após (dia 0) foram colocadas as coleiras nos dez animais pertencentes ao grupo tratado. A coleira continha era composta de 3,020g de propoxur, 0,680g de flumetrina e 30,200g de excipiente q.s.p

Sempre antes de todas as infestações, inclusive antes do ranqueamento, os animais foram penteados para a remoção de pulgas e/ou carrapatos oriundos do ambiente. As infestações ocorreram semanalmente nos primeiros 30 dias, para determinação da atividade da coleira, e posteriormente estas passaram a ocorrer a cada 14 dias.

As avaliações das eficácias, que sempre ocorreram 48 horas após as infestações, consistiam na remoção mecânica de qualquer ectoparasita encontrado presente no animal.

Para os ensaios com pulgas, os animais eram avaliados com o auxílio de um pente fino, com aproximadamente 13 dentes por centímetro linear. Anteriormente a retirada das pulgas os animais foram examinados através da inspeção manual e visual para retirada dos carrapatos fixados e não ingurgitados.

As pulgas e carrapatos recuperados foram quantificados e fixados em álcool 70°GL.

A eficácia pulguicida foi calculada com base na seguinte fórmula: $\text{Porcentagem de eficácia} = (\text{número médio* de pulgas vivas recuperadas no grupo controle} - \text{número médio de pulgas vivas recuperadas no grupo tratado}) / (\text{número médio de pulgas vivas recuperadas no grupo controle}) \times 100$.

A eficácia carrapaticida foi calculada com base na seguinte fórmula: $\text{Porcentagem de eficácia} = (\text{número médio* de carrapatos vivos e fixados recuperados no grupo controle} - \text{número médio de carrapatos vivos e fixados recuperados no grupo medicado}) / (\text{número médio de carrapatos vivos e fixados recuperados no grupo controle}) \times 100$.

O cronograma de atividades de infestações e avaliações da eficácia pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2. Cronograma de infestações e avaliações de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*.

DIA EXPERIMENTAL	ATIVIDADES
-21	Aclimatação
-7	Infestação para efeito de ranqueamento
-5	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos. Ranqueamento dos animais
-2	Infestação dos animais
0	Tratamento
+2	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+5	Infestação dos animais
+7	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos..
+12	Infestação dos animais
+14	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+19	Infestação dos animais
+21	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+26	Infestação dos animais
+28	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+40	Infestação dos animais
+42	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+54	Infestação dos animais
+56	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+68	Infestação dos animais
+70	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+82	Infestação dos animais
+84	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+96	Infestação dos animais
+98	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+110	I Infestação dos animais
+112	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+124	Infestação dos animais
+126	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+138	Infestação dos animais
+142	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+152	Infestação dos animais
+154	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+166	Infestação dos animais
+168	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+180	Infestação dos animais
+182	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+194	Infestação dos animais
+196	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.
+208	Infestação dos animais
+210	Avaliação das infestações de pulgas e carrapatos.

3.5 Avaliação da Segurança Clínica e Quantificação da Colinesterase

Para o exame físico geral foram realizadas avaliações por sistemas, onde eram observadas reações em relação ao sistema nervoso, linfático, gastrointestinal, ocular, cardíaco, respiratório, tegumentar, músculo-esquelético, reprodutivo e urinário. Sintomas comuns aos

quadros de intoxicação como tremores, convulsões, sialorréia, diarreia, letargia, apatia e coma foram permanentemente monitorados.

Para a quantificação da colinesterase foram coletadas amostras, de sangue total através de venopunção e acondicionadas em tubos para coleta de sangue a vácuo contendo acelerador de coagulação.

Para realização do exame da colinesterase foi utilizado o analisador automático bioquímico A-15 Biosystem[®]. O kit comercial utilizado para determinação da colinesterase (pseudocolinesterase ou colinesterase II) por reação cinética foi da Labtest[®].

Após o último dia de avaliação (+210) as coleiras dos animais foram retiradas para que sete dias após fosse realizada a dosagem da BChE e avaliar a possível ocorrência de alterações nos níveis séricos desta enzima.

Assim como o tratamento e ranqueamento dos animais as avaliações clínicas gerais e específicas e os exames da determinação da colinesterase foram realizadas seguindo o cronograma (Tabela 3);

Tabela 3. Cronograma de exame clínico geral e análise da butirilcolinesterase para avaliação da eficácia da coleira contendo propoxur (10%) e flumetrina (2,5%) sobre *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*.

DIA EXPERIMENTAL	ATIVIDADES
-21	Aclimatação e exame clínico geral dos animais
-14	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
-7	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
-1	Exame clínico geral e ranqueamento dos animais
0	Exame clínico geral e Tratamento
+1	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+2	Exame clínico geral
+3	Exame clínico geral
+4	Exame clínico geral
+5	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+6	Exame clínico geral
+10	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+30	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+45	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+60	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+75	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+90	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+105	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+120	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+135	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+150	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+175	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+190	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+205	Exame clínico geral e Determinação da Colinesterase
+210	Exame clínico geral; Determinação da Colinesterase e Retirada da Coleira
+ 217	Determinação da Colinesterase

3.6 Análise Estatística

Na análise estatística do ensaio os números médios de pulgas adultas vivas / carrapatos adultos vivos e fixados, foram transformados em \log de $N + 1$, possibilitando assim normalização dos dados, tendo em vista que de uma forma geral nestes tipos de estudos, onde temos contagens de parasitos e grupos controle e medicado, os dados costumam ter distribuição não normal (dados não paramétricos). Após a transformação os dados (médias controle e medicado para cada desafio) foram submetidos à análise do Teste F para determinação da ocorrência ou não de variâncias significativas entre as médias. Com base nestes resultados pode-se determinar a homocedasticidade ou heterocedasticidade dos dados, e proceder então a análise final comparativa dos valores médios através do Teste T. O nível de confiança considerado foi de 95% ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa computacional Excel 2010.

Na análise estatística dos valores da BChE, estes foram analisados quanto a sua distribuição (normal ou não) pelo teste de Shapiro Wilk. Considerou-se para os dados que tivessem distribuição normal, o valor de p deveria ser $>0,05$. Caso o valor de p fosse $\leq 0,05$ a distribuição dos dados seria considerada não normal. Para dados com distribuição normal o método empregado foi o Teste T para duas amostras independentes (grupos controle e medicado). Optou-se pela realização do teste não paramétrico de Mann-Whitney para duas amostras independentes, no caso de dados com distribuição anormal. Foi também realizada uma análise estatística pelo Teste T para duas amostras relacionadas dentro do grupo tratado, ou seja, comparou-se as médias de cada parâmetro nos dias -14 e -7 com os valores nos momentos experimentais após o início do tratamento e sete dias após o término do experimento. A análise foi efetuada pelo programa estatístico computacional Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007).

4 RESULTADOS

4.1 Eficácia da Coleira sobre *Ctenocephalides felis felis*

Os resultados do número de pulgas vivas recuperadas nos animais durante todo período experimental, assim como a eficácia da coleira, encontram-se na Tabela 4 e 5 e Figura 1 e 2.

Durante o experimento nas coletas dos dias +2 e +7 apenas uma pulga viva foi encontrada no grupo tratado para cada dia. No dia +14 pós-tratamento nenhuma pulga viva foi encontrada no grupo tratado. Nos dias subsequentes até o dia +70 o número médio de pulgas vivas encontradas nos cães do grupo tratado foi inferior a dois. Até o dia +142 esta média foi inferior a dez pulgas vivas por animal no grupo tratado, seguida por média inferior a 20 pulgas até o dia +182 pós tratamento. Nos dias +196 e +210 a média de pulgas vivas encontrada no grupo tratado foi superior a 20. Em todos os dias após o tratamento as médias entre o grupo controle e o grupo tratado diferiram significativamente ($p \leq 0,05$).

As eficácias médias encontradas para pulgas foram de 99,85; 99,84; 100,0; 99,43; 99,22; 98,93; 99,07; 98,75; 92,28; 90,63; 91,03; 90,16; 89,66; 82,61; 80,76; 66,78; 52,75 e 43,85 respectivamente para os dias +2; +7; +14; +21; +28; +42; +56; +70; +84; +98; +122; +126; +142; +154; +168; +182; +196 e +210. A eficácia foi superior a 90% do dia +2 até o dia +126. Nos dias de avaliações subsequentes, +142, +154 e +168, a eficácia foi superior a 80%. Nos dois últimos dias a eficácia foi inferior a 60%, relativamente baixa considerando aos dias anteriores. O ensaio foi encerrado no dia +210 já que as duas últimas avaliações de eficácia foram inferiores a 80%.

Tabela 4. Contagens individuais de pulgas, adultas e vivas, recuperadas através do método “Comb-Test”, dos animais dos grupos controles e medicadas, com o produto em teste ao longo do período experimental.

Grupo/ animal	Número de pulgas vivas adultas recuperadas																		
	Dia -5	+2	+7	+14	+21	+28	+42	+56	+70	+84	+98	+112	+126	+140	+154	+168	+182	+196	+210
Controle																			
20412	62	63	77	67	68	63	76	73	93	63	57	79	53	63	57	66	56	71	62
279594	52	59	54	52	53	47	56	51	63	51	64	72	65	51	87	54	54	76	64
44428	58	75	56	64	64	52	51	72	66	73	81	62	66	71	69	52	66	72	51
287293	53	69	53	76	84	62	62	64	63	80	60	87	69	100	81	68	91	65	62
35710	57	61	66	63	53	81	92	81	58	67	77	68	63	66	58	68	51	60	54
392630	51	64	70	67	61	60	51	70	67	62	72	58	56	62	54	58	54	72	72
19140	55	73	62	59	98	55	71	51	65	57	66	68	60	52	53	59	56	76	58
80625	58	62	58	68	58	52	64	64	62	59	81	75	57	62	73	64	52	63	60
278555	42	53	71	65	72	79	81	53	52	72	59	58	52	56	61	58	52	87	55
17603	56	78	63	56	89	92	52	68	51	64	66	53	69	55	51	56	64	67	64
Medicado																			
66646	60	0	0	0	4	2	6	0	6	8	11	2	10	8	0	0	33	30	26
394675	67	0	0	0	0	0	0	0	0	16	2	2	1	4	28	23	14	35	41
9479	76	0	0	0	0	2	0	1	1	9	3	0	2	10	4	39	45	35	21
44103	71	0	0	0	0	1	1	0	0	5	1	0	12	15	13	0	22	17	38
44309	47	0	0	0	0	0	0	2	1	0	5	7	1	2	6	7	1	28	60
16873	63	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6	9	3	6	0	0	25	33	21
28106	54	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	6	9	32	50	55
281410	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	2	17	2	7	6	12	39	42
44319	73	0	0	0	0	0	0	3	0	5	24	24	2	4	29	20	3	31	14
35811	61	0	0	0	0	0	0	0	0	7	2	14	10	15	19	12	11	37	20

Tabela 5. Valores de média e desvio padrão de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) adultas vivas e recuperadas dos animais controle e medicado com o produto em testes, assim como a eficácia pulguicida e o valor de P relativo a comparação das médias dos distintos grupos.

Dia	Controle		Medicado		Eficácia %	Valor de P ²
	Média ¹	Desvio	Média ¹	Desvio		
-5 ³	54,40	5,16	62,3	9,15	#	<u>0,0701</u>
+2 ⁴	65,70	7,44	0,10	0,30	99,85	<u>< 0,0001</u>
+7	63,00	7,58	0,10	0,30	99,84	<u>< 0,0001</u>
+14	63,70	6,42	0,00	0,00	100,00	<u>< 0,0001</u>
+21	70,00	14,79	0,40	1,20	99,43	<u>< 0,0001</u>
+28	64,30	14,06	0,50	0,81	99,22	<u>< 0,0001</u>
+42	65,60	13,38	0,70	1,79	98,93	<u>< 0,0001</u>
+56	64,70	9,70	0,60	1,02	99,07	<u>< 0,0001</u>
+70	64,00	11,00	0,80	1,78	98,75	<u>< 0,0001</u>
+84	64,80	8,07	5,00	5,00	92,28	<u>< 0,0001</u>
+98	68,30	8,51	6,40	6,70	90,63	<u>< 0,0001</u>
+112	68,00	10,04	6,10	7,37	91,03	<u>< 0,0001</u>
+126	61,00	6,00	6,00	5,44	90,16	<u>< 0,0001</u>
+140	63,80	13,47	6,60	5,04	89,66	<u>< 0,0001</u>
+154	64,40	11,86	11,20	10,19	82,61	<u>< 0,0003</u>
+168	60,30	5,51	11,60	11,89	80,76	<u>< 0,0007</u>
+182	59,60	11,51	19,80	13,41	66,78	<u>< 0,0017</u>
+196	70,90	7,38	33,50	8,00	52,75	<u>< 0,0000</u>
+210	60,20	5,74	33,80	14,98	43,85	<u>< 0,0016</u>

1-Média aritmética; 2- Valor de p relativo a comparação das médias dos distintos grupos, sendo significativo quando o valor de p for $\leq 0,05$; 3- Sinal negativos data anterior ao tratamento; 4- Sinal positivo data posterior ao tratamento.

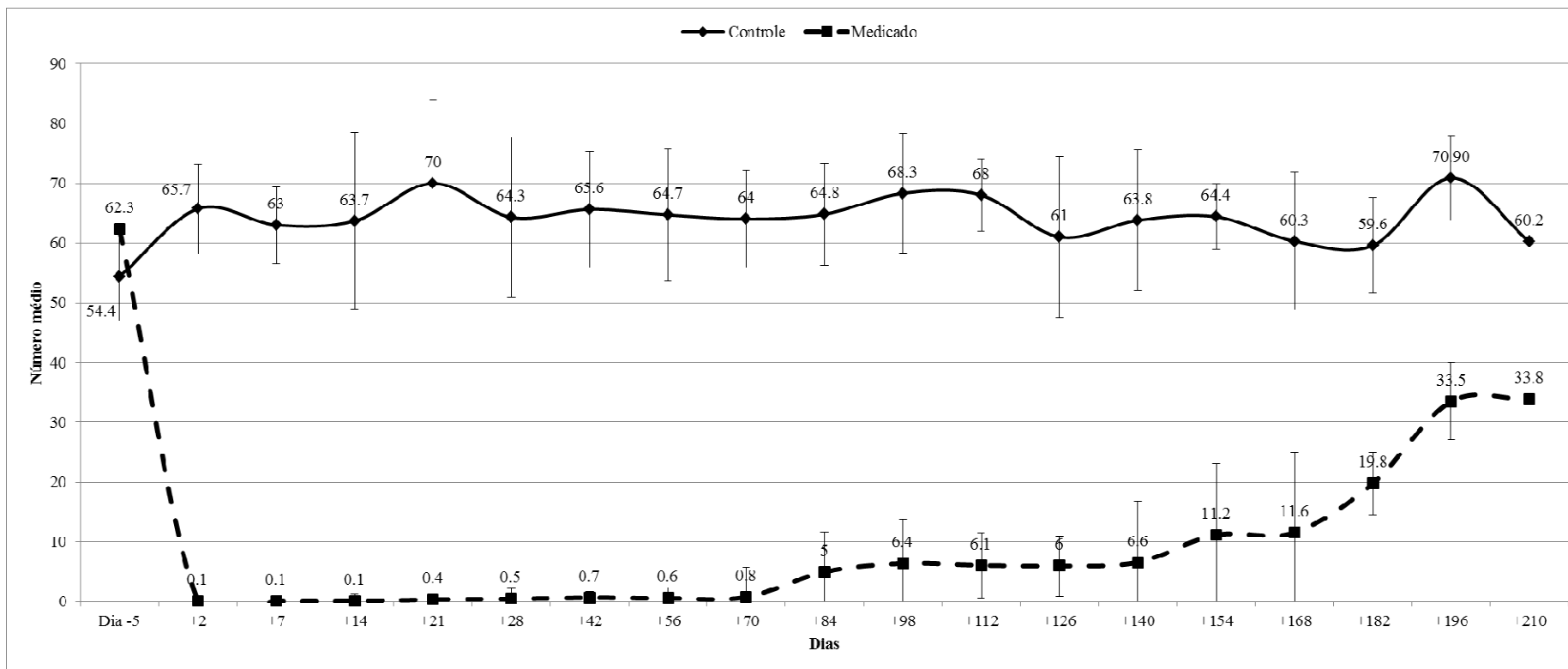


Figura 1. Número médio de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas recuperados dos animais controles e medicados com o produto em teste ao longo do período experimental.

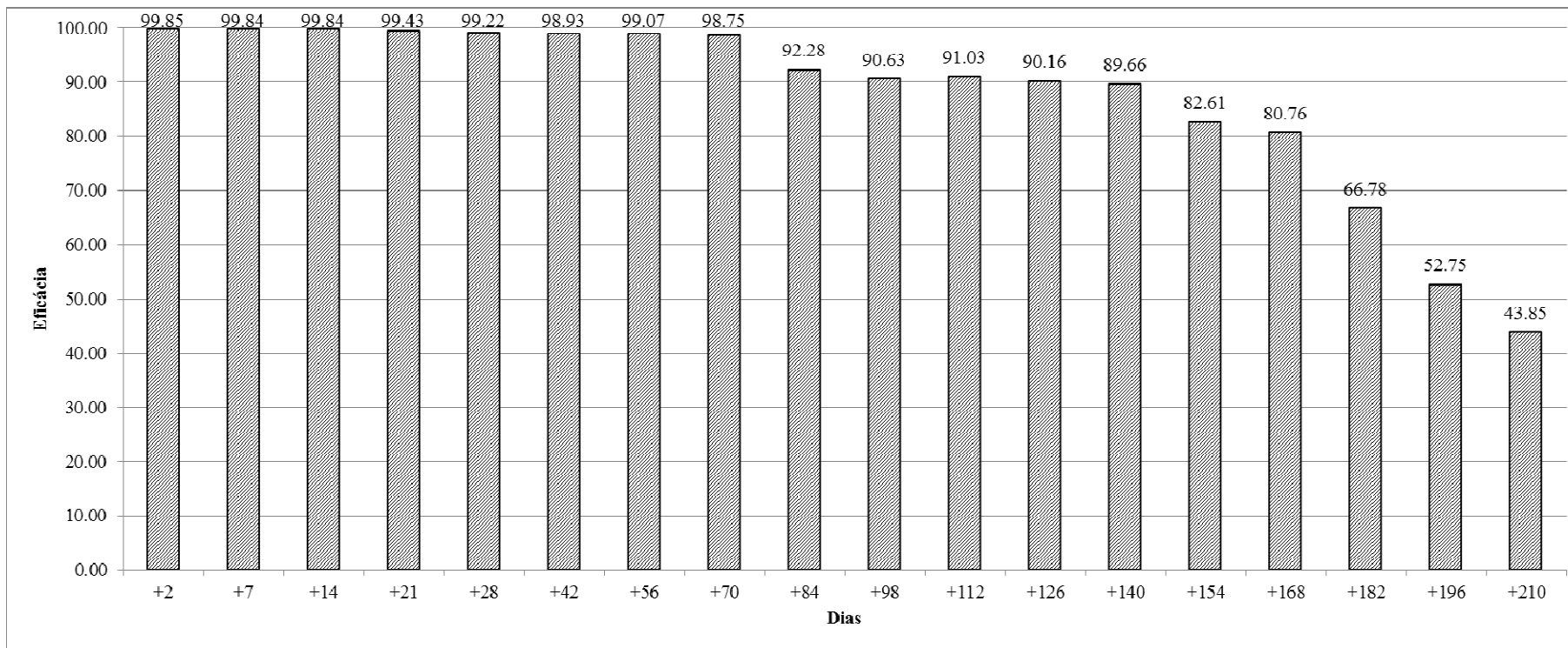


Figura 2. Eficácia pulguicida para a espécie *Ctenocephalides felis felis* do produto em teste.

4.2 Eficácia da Coleira sobre *Rhipicephalus sanguineus*

Os resultados do número de carrapatos vivos e fixados recuperados nos animais durante todo período experimental, assim como a eficácia da coleira, se encontra nas Tabelas 6 e 7 e Figuras 3 e 4.

Na primeira avaliação, dia +2 pós tratamento, foram encontrados um total de seis carrapatos no grupo tratado, no entanto, nos três dias seguintes de avaliação, +7, +14 e +21, nenhum carrapato vivo foi encontrado no grupo tratado. Até o dia +182, a média de carrapatos vivos foi inferior a 10, nos dois últimos dias de avaliação, essa média foi superior a 16 carrapatos por animal. Em todos os dias após o tratamento as médias entre o grupo controle e o grupo tratado diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$).

As eficácias encontradas para carrapatos foram de 98,33; 100,0; 100,0; 100,0; 99,47; 97,55; 98,12; 92,63; 91,20; 91,29; 92,46; 92,35; 86,33; 95,41; 80,12; 84,09; 61,81 e 61,52 respectivamente para os dias +2; +7; +14; +21; +28; +42; +56; +70; +84; +98; +122; +126; +142; +154; +168; +182; +196 e +210. A eficácia foi superior a 90% do dia +2 até ao dia +126. Nas avaliações subsequentes, dias +142, +154, +168 e +182, a eficácia foi superior a 80%. Nas duas últimas avaliações a eficácia foi inferior a 65%, resultando no encerramento do ensaio.

Tabela 6. Contagens individuais de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*), adultos vivos e fixados, recuperados através do método “Comb-Test” e pela coleta manual, dos animais dos grupos controle e medicado com o produto em teste ao longo do período experimental.

Grupo/ animal	Número de carrapatos adultos vivos e fixados recuperados																		
	Dia -5	+2	+7	+14	+21	+28	+42	+56	+70	+84	+98	+112	+126	+140	+154	+168	+182	+196	+210
Controle																			
20412	24	42	37	37	47	50	39	33	32	43	44	35	36	28	21	38	25	24	21
279594	26	24	27	32	21	22	26	34	32	23	28	35	37	32	37	42	26	38	32
44428	20	24	45	34	38	46	23	31	26	39	37	27	29	27	27	27	26	48	47
287293	44	43	48	41	33	41	28	32	38	28	27	27	29	23	37	30	37	38	41
35710	19	34	29	42	26	46	41	44	37	47	29	33	29	28	22	48	31	49	48
392630	45	42	50	36	37	42	27	30	28	38	27	26	27	28	26	31	21	45	36
19140	22	35	31	31	29	25	30	34	37	46	31	39	46	27	31	31	36	46	52
80625	40	38	33	34	37	33	41	44	42	34	35	37	34	30	29	30	42	51	47
278555	19	46	47	37	32	38	47	47	45	48	26	21	33	26	44	28	35	58	49
17603	30	32	29	39	48	37	25	43	36	29	26	25	27	29	31	32	29	35	48
Medicado																			
66646	22	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	2	1	0	2	3	14	18
394675	41	0	0	0	0	0	3	0	0	2	6	0	7	0	0	18	6	20	12
9479	36	0	0	0	0	0	0	1	5	1	6	3	7	0	1	9	21	23	25
44103	28	4	0	0	0	1	2	0	4	0	1	2	0	0	0	9	3	13	8
44309	25	0	0	0	0	0	3	1	0	2	0	5	0	2	0	4	0	19	24
16873	28	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	5	0	5	8	0	4	27	15
28106	24	1	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0	2	0	0	0	15	26
281410	23	0	0	0	0	1	0	0	10	9	6	2	1	2	0	3	2	10	13
44319	19	1	0	0	0	0	0	0	0	9	3	4	4	6	5	15	3	11	13
35811	41	0	0	0	0	0	0	0	2	5	2	2	4	20	0	7	7	13	8

Tabela 7. Valores de média e desvio padrão de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) adultos vivos e fixados recuperadas dos animais controle e medicado com o produto em testes, assim como a eficácia carrapaticida e o valor de P relativo a comparação das médias dos distintos grupos.

Dia	Controle		Medicado		Eficácia %	Valor P
	Média	Desvio	Média	Desvio		
-5 ²	28,90	9,83	28,7	7,51066	#	<u>0,9137</u>
+2 ³	36,00	7,31	0,60	1,20	98,33	<u>< 0,0001</u>
+7	37,60	8,55	0,00	0,00	100,00	<u>< 0,0001</u>
+14	36,30	3,47	0,00	0,00	100,00	<u>< 0,0001</u>
+21	34,80	8,10	0,00	0,00	100,00	<u>< 0,0001</u>
+28	38,00	8,65	0,20	0,40	99,47	<u>< 0,0001</u>
+42	32,70	8,01	0,80	1,25	97,55	<u>< 0,0001</u>
+56	37,20	6,14	0,70	1,49	98,12	<u>< 0,0001</u>
+70	35,30	5,60	2,60	2,94	92,63	<u>< 0,0001</u>
+84	37,50	8,31	3,30	3,23	91,20	<u>< 0,0001</u>
+98	31,00	5,62	2,70	2,41	91,29	<u>< 0,0001</u>
+112	30,50	5,71	2,30	1,85	92,46	<u>< 0,0001</u>
+126	32,70	5,60	2,50	2,69	92,35	<u>< 0,0001</u>
+140	27,80	2,27	3,80	5,74	86,33	<u>< 0,0001</u>
+154	30,50	6,82	1,40	2,65	95,41	<u>< 0,0001</u>
+168	33,70	6,44	6,70	5,83	80,12	<u>< 0,0001</u>
+182	30,80	6,23	4,90	5,77	84,09	<u>< 0,0001</u>
+196	43,20	9,15	16,50	5,26	61,81	<u>< 0,0001</u>
+210	42,10	9,21	16,20	6,42	61,52	<u>< 0,0001</u>

1-Média aritmética; 2- Valor de p relativo a comparação das médias dos distintos grupos, sendo significativo quando o valor de p for $\leq 0,05$; 3- Sinal negativo data anterior ao tratamento; 4-Sinal positivo data posterior ao tratamento.

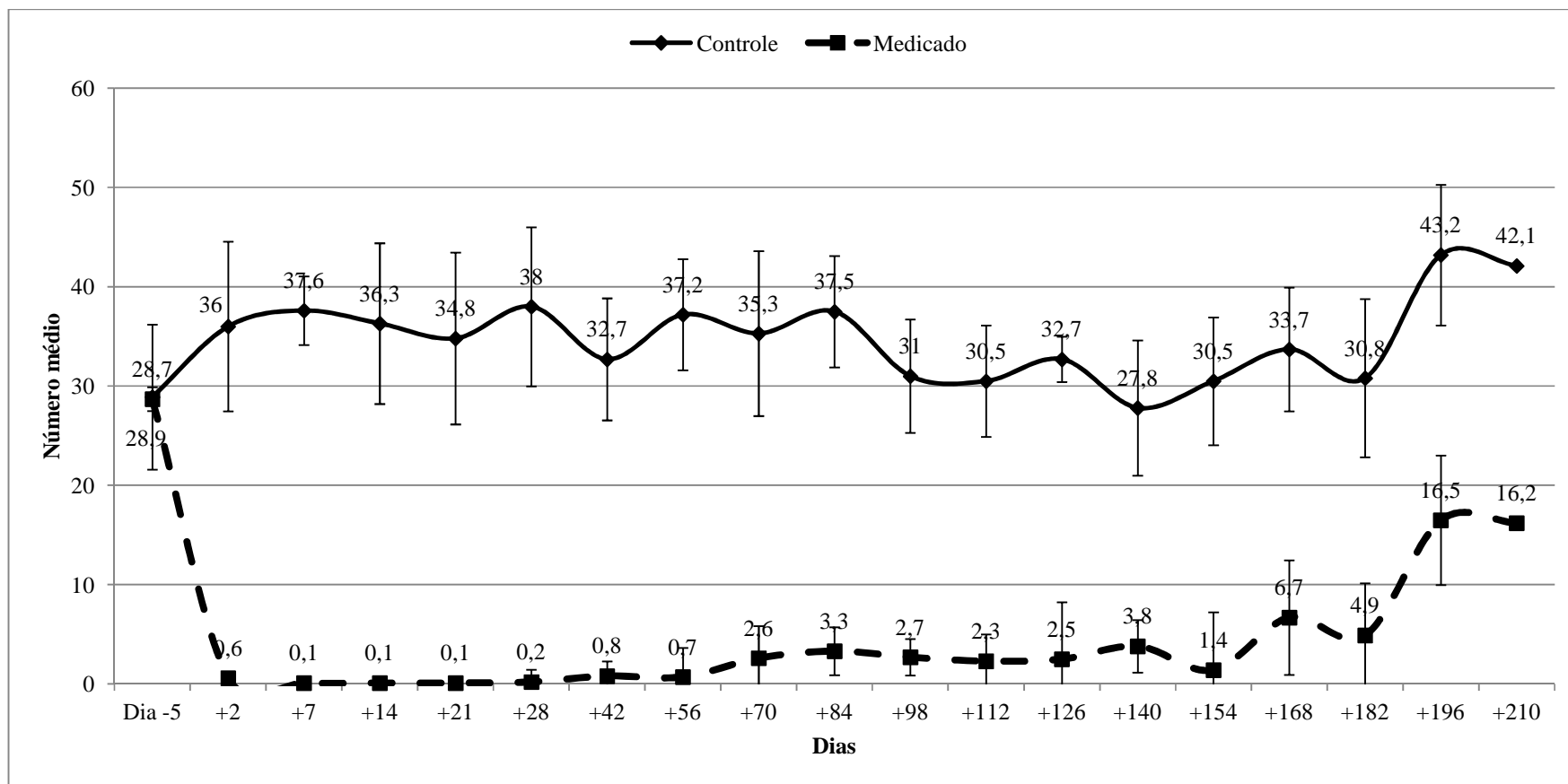


Figura 3. Número médio de carrapatos adultos vivos e fixados (ingurgitados ou não) recuperados dos animais controle e medicados com o produto em teste ao longo do período experimental.

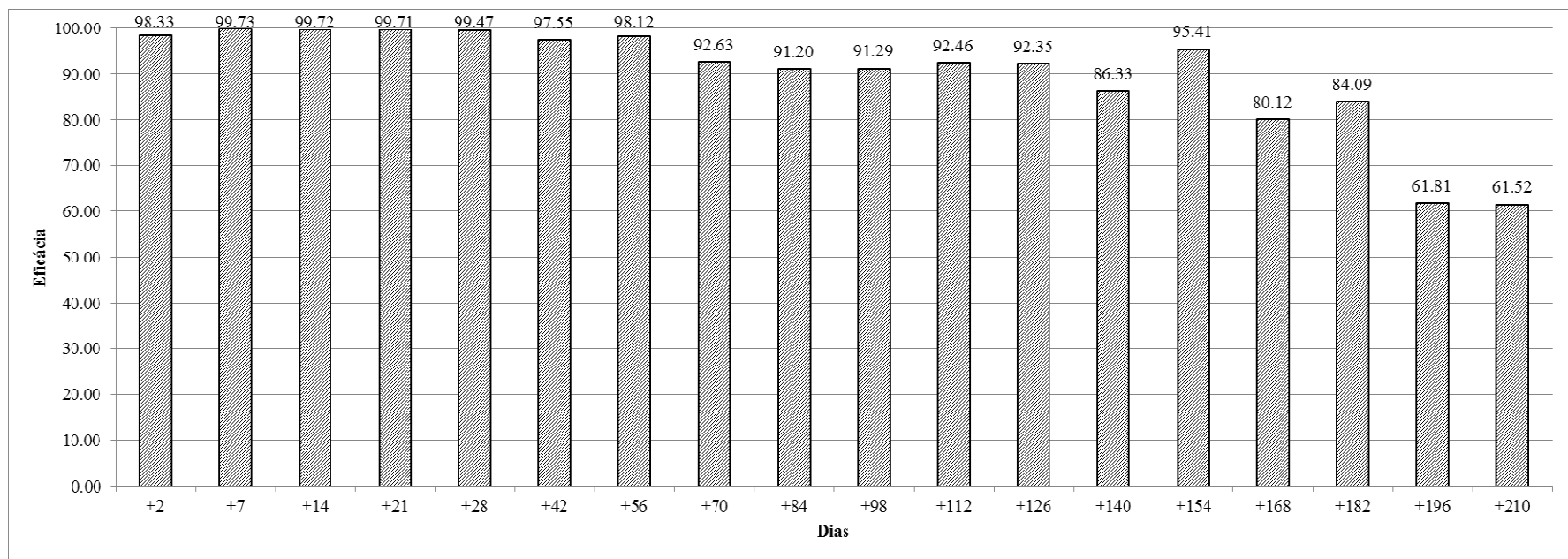


Figura 4. Eficácia carrapaticida para a espécie *Rhipicephalus sanguineus* do produto em teste.

4.3 Quantificação da Colinesterase e Avaliação Clínica

Nenhum animal apresentou reação alérgica no local onde a coleira foi mantida. Nenhuma reação clínica de intoxicação foi observada durante todo o período de experimentação.

Os resultados obtidos para butirilcolinesterase podem ser observados na Tabela 8 e na Figura 5.

As médias dos valores da butirilcolinesterase dosada em todos os animais ficaram entre 2500 e 4000 U/L.

No teste de normalidade, Shapiro-Wilk, todas as médias apresentaram valores dentro da normalidade sendo aplicado o teste T. Em todos os dias de determinação da butirilcolinesterase não ocorreu diferença significativa entre o grupo controle e tratado ($p \leq 0,05$).

Comparando-se as médias dos dois dias antes do tratamento, -14 e -7, com todos os dias após o tratamento, entre os animais do grupo tratado, ocorreu diferença significativa apenas no dia +10 e +60.

Na análise estatística entre as médias dos dias +210 e +217 ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$). E comparando-se as médias dos dois dias antes do tratamento, -14 e -7, e o dia após a retirada da coleira dos animais, +217, não ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Tabela 8. Desvio padrão, valores individuais e médios encontrados de butirilcolinesterase, em U/L, em cães da raça Beagle dos grupos controle e medicado durante todo período experimental.

Grupo/ Animal	Período									
	Dia -14	-7	1	5	10	30	45	60	75	90
Controle										
20412	2997	3026	3948	4026	3854	4463	4400	4432	4484	4300
279594	3050	3101	3455	3440	2467	3024	3578	3301	3855	3962
44428	4042	4047	3733	3728	3458	1579	3353	2466	4120	4428
287293	2790	2759	3701	3644	2805	2575	3011	2793	2227	2624
35710	3472	3493	4703	4959	4515	4957	4003	4480	3939	4106
392630	2644	2728	3356	3280	1135	1249	1143	1196	1405	1268
19140	3792	3696	4360	4428	4643	4879	4483	4681	4132	4629
80625	3771	3782	4752	4906	4341	2387	3691	3039	3097	3344
278555	1073	1063	4496	4455	3825	4251	4009	4130	3233	3609
17603	3619	3621	1193	1286	3906	3142	4209	3676	5081	4390
Média	3125,00^a	3131,60^a	3769,70^a	3815,20^a	3494,90^a	3250,60^a	3588,00^a	3419,40^a	3557,30^a	3666,00^a
DP	859,19	852,61	1035,98	1063,98	1084,46	1337,5	975,95	1091,19	1094,47	1035,94
Medicado										
66646	4499	4476	3978	3992	3566	4644	4137	4391	3228	3596
394675	2202	2205	5579	5638	4004	1692	2594	2143	2830	2653
9479	4951	5041	3896	3881	5708	5238	4930	5084	5735	5378
44103	1038	1069	3161	3194	2741	1326	3118	2222	2876	2927
44309	3694	3742	2883	2902	4115	3081	3756	3419	3410	3458
16873	2383	2485	2334	2183	2826	3586	3221	3404	4854	3625
28106	2696	2769	3673	3561	2753	4251	3260	3756	2545	2735
281410	3956	4011	2930	2902	4967	5099	5105	5102	3977	4693
44319	3340	3409	3315	3383	3776	3216	3760	3488	3036	3053
35811	2636	2749	2598	2603	3533	3599	3712	3656	3755	3748
Média	3139,50^{Aa}	3195,60^{Aa}	3434,70^{Aa}	3423,90^{Aa}	3798,90^{Ba}	3573,20^{Aa}	3759,30^{Aa}	3666,50^{Ba}	3624,60^{Aa}	3586,60^{Aa}
DP	1176,71	1175,87	926,33	958,34	968,17	1319,31	791,24	1009,55	1000,75	868,84

^{aA} Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna e letras maiúsculas entre médias na mesma linha não diferem significativamente entre si (p>0,05);

Tabela 8. Continuação.

Grupo/ Animal	Período								
	Dia +105	120	135	150	165	180	195	210	217
Controle									
20412	4116	3542	4021	4123	3771	3862	3750	3187	2944
279594	4070	3324	3362	4123	4093	3845	2821	3583	4147
44428	4737	4337	3858	4790	4535	4949	4219	3044	4823
287293	3021	2686	3011	2989	2817	2637	2497	2888	2963
35710	4274	3463	3650	4259	3993	3497	3324	3904	3741
392630	1131	1330	1106	1204	1363	1156	915	937	1197
19140	3869	3258	3332	3885	3336	3230	2399	4324	3702
80625	3592	2778	2906	3570	3717	3341	2700	2235	3373
278555	3986	3423	2835	4189	4151	4008	3246	3919	3899
17603	3699	2787	3528	3958	3720	3402	3118	4859	4144
Média	3649,50^a	3092,80^a	3160,90^a	3709,00^a	3549,60^a	3392,70^a	2898,90^a	3288,00^a	34,93,3^a
DP	992,87	784,73	822,31	997,22	900,26	991,04	894,99	1119,11	986,51
Medicado									
66646	3964	3352	3463	3927	3611	3371	2579	2899	3406
394675	2477	2297	2610	2754	2584	2479	1972	2641	2540
9479	5021	4377	5020	5378	5408	4889	3718	5207	4765
44103	2979	2962	2095	3062	3610	3004	2358	1674	3023
44309	3507	2790	3024	3388	3657	3026	2502	2036	3059
16873	2396	2509	2587	2818	3405	2789	2780	2775	3005
28106	2926	2464	2541	2815	3107	2606	1350	2749	2988
281410	5409	4934	5422	6202	5891	5252	5412	3349	5901
44319	3071	2944	2456	3408	3828	3892	2150	3119	3345
35811	3742	3441	4114	4431	4123	4081	3032	4152	4078
Média	3549,20^{Aa}	3207,00^{Aa}	3333,20^{Aa}	3818,30^{Aa}	3922,40^{Aa}	3538,90^{Aa}	2785,30^{Aa}	3060,10^{Aa}	3611,0^{Aa}
DP	1014,22	856,2	1151,83	1181,68	1006,67	960,87	1118,58	1013,14	1025,21

^{aA} Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna e letras maiúsculas entre médias na mesma linha não diferem significativamente entre si (p>0,05);

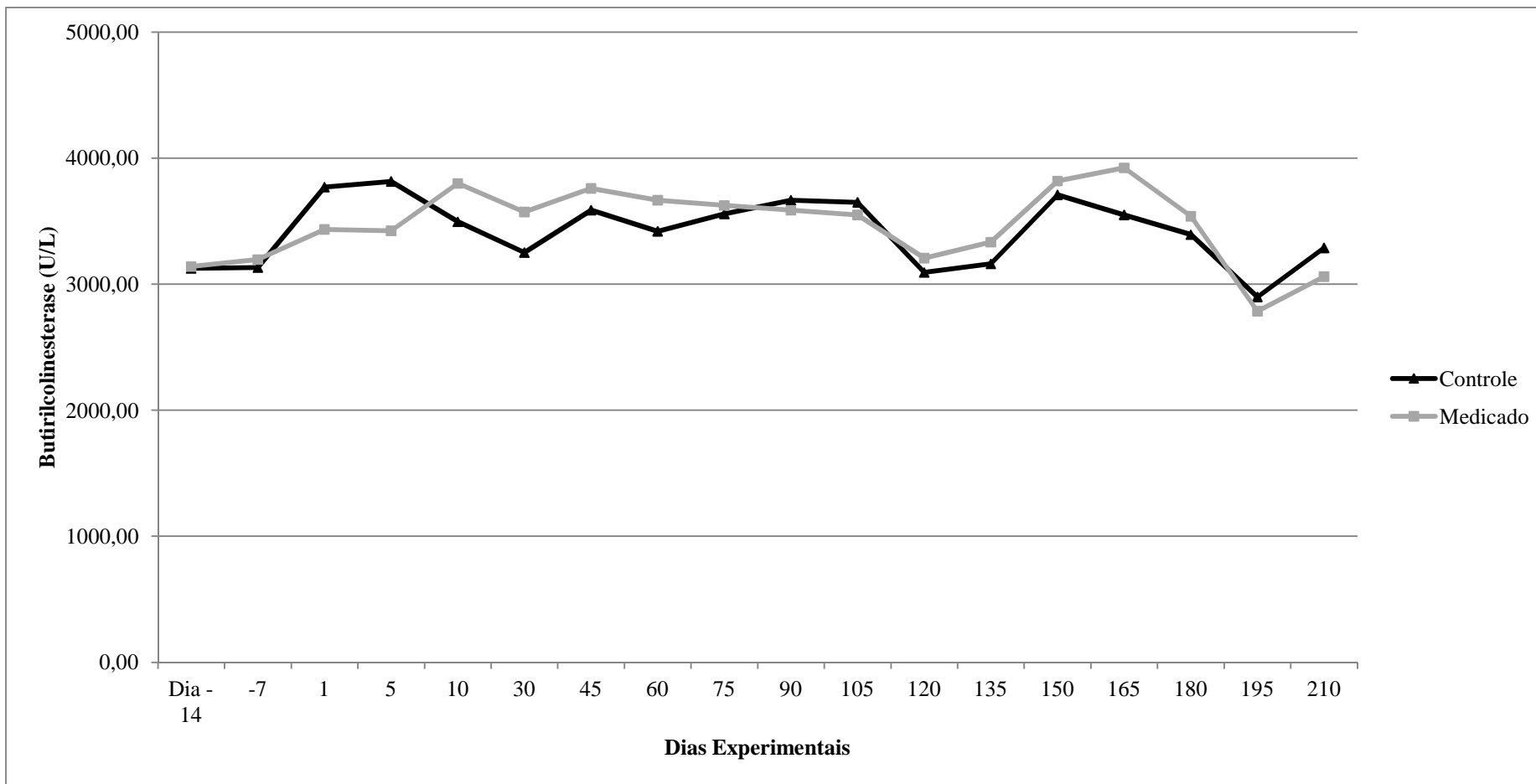


Figura 5. Valores médios encontrados de butirilcolinesterase sérica em cães beagle dos grupos tratado com propoxur (10%) e flumetrina (2,5%) e controle durante todo período experimental.

5 DISCUSSÃO

Os resultados de eficácia encontrados demonstraram que a associação do piretróide flumetrina e propoxur foi eficaz para pulgas e carrapatos por mais de cinco meses.

No primeiro dia após a avaliação, dia +2, um animal encontrava-se com quatro carrapatos, este número encontrado pode estar relacionado a distribuição do produto pela pele do animal. Nas avaliações subsequentes, o animal não apresentou nenhum carrapato vivo fixado. No trabalho efetuado por Horak (1976) dois dias após a colocação da coleira impregnada com propoxur a 9,4% os cães ainda se apresentavam infestados com carrapatos, mas nenhuma pulga viva, corroborando com presente trabalho.

Observa-se que no dia +168 houve um aumento significativa no número médio de pulgas e carrapatos no grupo tratado, no entanto, as eficácias ainda se encontravam acima de 80%.

Fourie et al. (2003) utilizando a mesma coleira, avaliou a eficácia para *R. sanguineus*. A cada 28 dias. 30 cães eram infestados e as avaliações eram realizadas 24 e 48 horas após as infestações. No sexto mês as infestações e as avaliações foram realizadas quinzenalmente. Foram verificadas eficácias superiores 70% até o dia +170. No presente trabalho, ao contrário do valor encontrado por Fourie et al. (2003) que encontraram uma eficácia acima de 93%, a eficácia para carrapato foi de 80,12%. Fourie et al. (2003) porém, não avaliaram os dias posteriores ao +170 como no presente trabalho. Uma redução de eficácia poderia ser esperada como a encontrada no presente trabalho.

No estudo realizado por Miller et al. (1977) onde avaliaram a eficácia de carbamatos impregnados em coleiras para pulgas em cães e gatos a eficácia observada foi superior a 80% até o dia +112 em cães e até o dia +119 em gatos. Nas coleiras com propoxur, a eficácia foi maior que 90% até o dia +91, porém, no presente estudo foram encontradas eficácias superiores a 90% até o dia +112. Esse período de atividade diminuído e menos prolongado, em relação ao presente trabalho, deve estar relacionada a ausência da flumetrina, que pode potencializar ou apenas complementar a ação do propoxur.

Como considerado em vários trabalhos, a eficácia sobre o carrapato pode estar relacionada a flumetrina, pois existem diversos trabalhos comprovando a eficácia acaricida deste piretróide (LOSSON; LONNEUX, 1992; ALAHMED et al., 2001; FOURIE et al., 2001; MEHLHORN et al., 2011). Artigos da década de 1990 já relatavam a eficácia deste

piretróide sobre piolhos e moscas (LOHR et al., 1991; BAUER et al., 1992; LIEBISCH et al., 1994; GARG et al., 1997; GARG et al., 1998) no entanto trabalhos de eficácia da flumetrina sobre pulgas são escassos na literatura. Outros piretróides como a deltametrina e permetrina possuem eficácias comprovadas sobre *C. felis felis* (FRANC; CARDIEGUES, 1999; ENDRIS et al. 2003; FRANC; BOUHSIRA, 2009).

A eficácia duradoura, próxima a seis meses, encontrada neste trabalho foi superior a diversos outros trabalhos, inclusive em trabalhos que utilizaram coleira semelhantes (FOURIE et al. 2003). Esta diferença pode estar relacionada ao tipo de cepa de carrapatos e/ou pulgas, fatores abióticos, ou até mesmo pelo mecanismo de liberação do ativo pela coleira.

Eficácia duradoura semelhante ao presente trabalho foi encontrada por Van Den Bos e Curtis (2002) que verificaram a eficácia de uma coleira impregnada com deltametrina em cães. Um grupo de animais foi submetido à ambiente controlado onde eram realizadas infestações semanais com 20 *R. sanguineus* e 20 *Ixodes ricinus* até o dia +170 após tratamento, outro grupo de animais foram infestados apenas com 25 exemplares de *R. sanguineus* com avaliação até o dia +210. Um grupo de animais foi avaliado em condições de campo para ambas as espécies até o dia +188. Na avaliação para *R. sanguineus* após 48 horas a eficácia observada foi aproximadamente 90%, pouco inferior ao encontrado no presente trabalho que foi de 98,33%. Nas avaliações no dia +170 foram observadas atividade de apenas 56,5% enquanto no presente estudo a eficácia foi superior a 80% até o dia +182 para *R. sanguineus*. Nesse estudo, utilizando apenas *R. sanguineus* a eficácia média até o dia +210 foi superior a 80%, resultado maior que o presente trabalho. Esta eficácia persistente não está bem clara, podendo estar relacionada ao número reduzido de exemplares para as infestações, 50% menor que o presente trabalho. O autor não discute o motivo da diferença encontrada entre a eficácia no primeiro ensaio que envolveu infestações simultâneas de *R. sanguineus* e *I. ricinus* e o ensaio que envolveu apenas a infestações com *R. sanguineus*, em condições de campo, onde a eficácia em 82 cães naturalmente infestados durou entre cinco e seis meses, inferior ao presente estudo.

Em comparação ao uso das coleiras, de eficácia duradoura, os produtos “spot-on”, que também possuem eficácia elevada, o tempo de proteção contra pulgas e carrapatos geralmente é em torno de 60 dias (ROSS et al. 1998; HOPKINS et al., 1996; ARTHUR et al., 1997; WITCHEY-LAKSHMANAN, 1999; TANCREDI et al., 2009). Produtos em pós, xampus e aspersão possuem duração de eficácia inferior e aos produtos “spot-on” (WITCHEY-

LAKSHMANAN, 1999). Essa longa proteção contra ectoparasitas é de suma importância, pois uma vez combatida as infestações, ocorrerá redução na possibilidade de transmissão de enfermidades transmitidas por pulgas e carrapatos.

No presente estudo nenhum animal apresentou reação ao uso do produto na dose empregada. Quadros de intoxicação apresentados por animais que foram expostos aos agentes anticolinesterásicos podem ser considerados raros, no entanto, fatais. Em estudo realizado por McLean e Hansen (2012) dos 900.000 casos reportados, durante oito anos, menos de 0,78% estavam relacionados à pelo menos um dos agentes anticolinesterásicos e dos quadros fatais de intoxicação 0,022% foram expostos à carbamatos e 0,012% à organofosforados. Demonstrando que, apesar de raro, é importante o monitoramento dos animais quando expostos a estes agentes.

Em relação à colinesterase, os resultados encontrados neste estudo demonstraram que não ocorreu alteração significativa após o tratamento. A comparação entre as médias do grupo controle e tratado não diferiram significativamente entre todos os dias que foram determinados a colinesterase dos animais. No entanto, após a retirada da coleira foi observada um acréscimo de 3060,10 para 3611,0 na butirilcolinesterase dos animais, apresentando inclusive diferença significativa entre as médias ($p \leq 0,05$). Isto demonstra que a coleira influenciou na inibição da colinesterase dos animais, no entanto, esta influência não foi significativa como em outros trabalhos.

Saccaro (2007) avaliou as possíveis alterações na atividade da butirilcolinesterase sérica de 10 cães machos adultos, hígidos, sem raça definida, com uso de coleira impregnada com diazinon, que atua como agente anticolinesterásico. O valor médio encontrado antes do tratamento foi de 3169 U/L com ± 974 U/L de desvio padrão. A média e o desvio padrão no dia 7 foi, respectivamente, 504 ± 167 U/L, no dia 60, 401 e ± 67 U/L e no dia 120, 490 e ± 215 U/L. Apesar da intensa inibição da atividade enzimática da butirilcolinesterase nenhum animal apresentou sinais clínicos compatíveis com um quadro de intoxicação, corroborando com o presente estudo. É importante salientar que deve-se tomar cuidado com cães que convivem com outros animais e até mesmo crianças, pois os mesmos podem ingerir acidentalmente a coleira e vir a apresentar o quadro de intoxicação.

Segundo Furlanello (2006), uma redução da atividade enzimática maior ou igual a 50% em relação aos níveis de referência normais, associados com história compatível, sinais clínicos e resposta ao tratamento específico (atropina), é sugestiva de intoxicação. Neste estudo, nenhum animal tratado apresentou redução de 50% nos níveis de butirilcolinesterase

em relação aos níveis encontrados antes do tratamento e tampouco foi apresentado algum sinal clínico compatível com intoxicação.

A diminuição da butirilcolinesterase com o uso de coleira impregnadas com propoxur pode estar relacionada à especificidade dos agentes colinesterásicos. Segundo Tecles et al. (2000) alguns organofosforados e carbamatos podem inibir seletivamente a acetil, mas não a pseudocolinesterase, sendo recomendada a análise de ambas as colinesterases. Possivelmente o propoxur é um carbamato seletivo para o acetil não influenciando efetivamente a butirilcolinesterase.

Em relação aos valores encontrados da butirilcolinesterase no grupo controle, o valor mínimo foi 915 U/L e o máximo 5081 U/L. No grupo tratado o menor valor encontrado foi de 1038 U/L e o maior valor 5735 U/L. Segundo Furlanelo (2006), existem poucos estudos a respeito dos níveis de referência da atividade de colinesterase em cães. Abdelkader e Hauge, em 1986, realizaram um ensaio medindo colinesterase sérica canina, encontrando valores de referência entre 2000-5000 U/L. Em pesquisa realizada por Thong et al. (1995), sobre a atividade de colinesterase plasmática, foram encontrados valores entre 860-3600 U/L. Saccaro (2007) avaliando a butirilcolinesterase sérica basal encontrou-se entre 2112 e 5144 U/L. Os valores encontrados comparados com o presente estudo não estão efetivamente diferentes dos encontrados por Saccaro (2007) e Abdelkader e Hauge (1986), no entanto, é difícil a comparação entre valores de referência de diferentes estudos devido às diferenças individuais e de metodologias aplicadas (FURLANELLO, 2006).

6 CONCLUSÕES

- A associação da flumetrina e propoxur apresentou eficácia superior a 80% para *R. sanguineus* até o dia +182 e para *C. felis felis* até o dia +168.
- A associação das duas moléculas não causou reações adversas nos animais além de não inibir a ação da BHcE.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou que o uso tópico de coleiras apresentou eficácia duradoura, mostrando como vantagem a necessidade de apenas um tratamento durante um longo período de tempo no controle de pulgas e carrapatos.

A coleira impregnada com propoxur e flumetrina não causou nenhuma reação adversa nos animais, além de não inibir a ação da enzima butirilcolinesterase, sendo considerado seguro para uso em cães.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELKADER, S. V.; HAUGE, J. G. Serum determination in the study of liver disease in dogs. *Acta Veterinária Scandinavica*, v. 27, n. 1, p.50-79, 1986.

ADAMS, H. R. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 1034 p.

AGRAWAL, V. K.; AGARWAL, A.; CHOUDHARY, V.; SINGH, R.; AHMED, N.; SHARMA, M.; NARULA, K.; AGRAWAL, P. Efficacy of imidacloprid and fipronil gels over synthetic pyrethroid and propoxur aerosols in control of German cockroaches (Dictyoptera: Blatellidae). *Journal of Vector Borne Disease*. v. 47, n. 1, p. 39-44, 2010.

AHRENS, F. A. *Farmacologia Veterinária*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 360 p.

ALAHMED, A. M.; HUSSEIN, H. I.; KHEIR, S. M.; AL-RAJHY, D. Efficacy of flumethrin and coumaphos against the camel tick *Hyalomma dromedarii* L. (Acari: Ixodidae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v. 31, n. 3, p. 791-798, 2001.

ALONZO, H. G. A.; CORRÊA, C. I. Praguicidas. In: OGA, S.. *Fundamentos de Toxicologia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003, p. 437-458.

ANADÓN, A.; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M. R.; FERNANDEZ-CRUZ, M. L.; DIAZ, M. J.; FERNANDEZ, M. C.; MARTINEZ, M. A. Toxicokinetics of deltamethrin and its 4'-HO-metabolite in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 141, n. 1, p. 8-16, 1996.

ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; MARTÍNEZ, M. A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, v. 182, n. 1, p. 7-20, 2009.

ARTHER, R. G.; CUNNINGHAM, J.; DORN, H.; EVERETT, R.; HERR, L. G.; HOPKINS, T. Efficacy of imidacloprid for removal and control of fleas (*Ctenocephalides felis*) on dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 58, n. 8, p. 848-850, 1997.

AYRES, M.; AYRES, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. dos S. *BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.

AZAD, A. F.; BEARD, C. B.; Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerging Infectious Diseases*, v. 4, n. 2, p. 179-186, 1998.

BAREGGI, S. R., GIACOBINI, E. Acetylcholinesterase activity in ventricular and cisternal CSF of dogs: effect of chlorpromazine. *Journal of Neuroscience Research*, v. 3, n. 5-6, p. 335-339, 1978.

BARKER, S. C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology*, v. 129, p. S15-S36, 2004.

BAUER, B.; KABORÉ, I.; LIEBISCH, A.; MEYER, F.; PETRICH-BAUER, J. Simultaneous control of ticks and tsetse flies in Satiri, Burkina Faso, by the use of flumethrin pour on for cattle. *Tropical Medicine and Parasitology*, v. 43, n. 1, p. 41-46, 1992.

BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J.; FERREIRA, B. R.; GARCIA, M. V. *Rhipicephalus sanguineus* in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 4, n. 2, p. 61-66, 1995.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. *Clínica Veterinária*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263 p.

BOWMAN, A. S.; COONS, L. B.; NEEDHAM, G. R.; SAUER, J. R. Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 11, n. 3, p. 277-285, 1997.

BOWMANN, A. S.; NUTALL, P. A. Ticks: Biology, disease and control. Cambridge University Press, 2008. 506 p.

BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Portaria 10 de 08 de março de 1985. Relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários e determina outras providências. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/10_85.htm> Acesso em: 04 de jan 2012.

CANTALAMESSA, F. Acute toxicity of two pyrethroids, permethrin, and cypermethrin in neonatal and adult rats. *Archives of Toxicology*, v. 67, n. 7, p. 510-513, 1993.

CASIDA, J. E.; GAMMON, D. W.; GLICKMAN, A. H.; LAWRENCE, L. J. Mechanisms of selection action of pyrethroid insecticides. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 23, n. 1, p. 413-438, 1983.

CORBEL, V.; RAYMOND, M.; CHANDRE, F.; DARRIET, F.; HOUGARD, J. M. Efficacy of insecticide mixtures against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids and carbamates. *Pest Management Science*, v. 60, n. 4, p. 375-380, 2004.

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. 171-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 1, p. 64-67, 2006.

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

EL-AZAZY, O. M. Camel tick (Acari:Ixodidae) control with pour-on application of flumethrin. *Veterinary Parasitology*, v. 67, n. 3-4, p. 281-284, 1996.

ELLIOTT, M.; JANES, N. F.; POTTER, C. The future of Pyrethroides in insect control. *Annual Review of Entomology*, v. 23, p. 443-69, 1978.

ENDRIS, R. G.; EVERETT, R.; CUNNINGHAM, J.; KATZ, T. L.; THOMPSON, K. Efficacy of two 65% permethrin spot-on formulation against, canine infestations of *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Therapeutics*, v. 3, n. 3, p. 326-333, 2002.

ERICKSON, D. L.; JARRET, C. O.; WREN, B. W.; HINNEBUSCH, B. J. Serotype differences and lack of biofilm formation characterize *Yersinia pseudotuberculosis* infection of the *Xenopsylla cheopis* flea vector of *Yersinia pestis*. *Journal of Bacteriological*, v. 188, n. 3, p. 1113-1119, 2006.

ESTRADA-PEÑA, A.; ASCHER, F. Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical administration of fipronil for prevention of experimental and natural infestations by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 214, n. 12, p. 1799-803, 1999.

ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, v. 23, n. 9, p. 685-715, 1999.

ESTRADA-PEÑA, A.; RÈME, C. Efficacy of a collar impregnated with amitraz and pyriproxyfen for prevention of experimental tick infestations by *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus*, and *Ixodes scapularis* in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 226, n. 2, p. 221-224, 2005.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, 2002, 389 p.

FOURIE, L. J.; KOK, D. J.; PETER, R. J. Influence of sheep breed and application site on the efficacy of a flumethrin pour-on formulation against ticks. *Journal of South African Veterinary Association*, v. 72, n. 3, p. 143-146, 2001.

FOURIE, L. J.; STANNECK, D.; HORAK, I. G. The efficacy of collars impregnated with flumethrin and propoxur against experimental infestations of adult *Rhipicephalus sanguineus* on dogs. *Journal of South African Veterinary Association*, v. 74, n. 4, p. 123-126, 2003.

FRANC, M.; BOUHSIRA, E. Evaluation of speed and duration of efficacy of spinosad tablets for treatment and control of *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) infestations in dogs. *Parasite*, v. 16, n. 2, p. 125-128, 2009.

FRANC, M.; CARDIEGUES, M. C. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 81, n. 4, p. 341-346, 1999.

FURLANELLO, T.; SIMONATO G.; CALDIN, M.; DE LORENZI, D.; LUBAS, G.; BERNARDINI, D.; SOLANO-GALLEGO, L. Validation of an automated spectrophotometric assay for the determination of cholinesterase activity in canine serum. *Veterinary Research Communications*, v. 30, n. 7, p. 723-733, 2006.

GARG, S. K.; BHUSHAN, C.; KATOCH, R. Efficacy of pour-on flumethrin formulation against lice infestations in buffaloes. *Second Global Meet on Parasitic Diseases*, v. 1, n. 1, p. 1822, 1997.

GARG, S. K.; KATOCH, R.; BHUSHAN, C. Efficacy of flumethrin pour-on against *Damalinia caprae* of goats (*Capra hircus*). *Tropical Animal Health Production*, v. 30, n. 5, p. 273-278, 1998.

GODDARD, J. *Ticks of Medical Importance Occurring in the Western Hemisphere*. USAF School of Aerospace Medicine. Texas: Usa" School of Aerospace Medicine, 1987. 65 p. Disponível em: <<http://www.dtic.mil/cgi-bin/GetTRDoc?AD=ADA188181>>. Acesso em: 12 dez. 2011.

GRISOLIA, C. K. *Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução*. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 2005. 392p.

HOPKINS, T. J.; KERWICK, C.; GYR, P.; WOODLEY, I. Efficacy of imidacloprid to remove and prevent *Ctenocephalides felis* infestations on dogs and cats. *Australian Veterinary Practitioner*, v. 26, n. 3, p. 150-153, 1996.

HORAK, I. G. The Control of ticks, fleas and lice on dogs by means of a sendran – impregnated collar. *Journal of South African Veterinary Association*, v. 47, n. 1, p. 17-18, 1976.

IVIE, G.; ROWE, L. *Chemistry of drugs used against arthropod Parasites. Chemotherapy of parasitic disease*. New York: Plemum Press, 1986, p. 507-529.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. *Parasitology*, v. 129, p. S3-S14, 2004

KHUR, R.; DOROUGH, H. *Carbamate Insecticides: Chemistry, Biochemistry and Toxicology*. Cleveland: CRC Press, 1976. 1-13 p.

LATUSZYNSKA, J.; LUTY, S.; RASZEWSKI, G.; PRZEBIROWSKA, D.; TOKARSKA-RODAK, M. Neurotoxic effect of dermally applied chlorpyrifos and cypermethrin. Reversibility of changes. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, v. 10, n. 2, p. 197-201, 2003.

LEWIS, R. E. Resumé of Siphonaptera (Insecta) of the world. *Journal of Medical Entomology*, v. 35, n. 4, p. 377-389, 1998.

LIEBISCH, A.; BEDER, G. The control of ticks (Ixodidae: Dermacentor marginatus) in sheep with flumethrin 1% pour-on. *Veterinary Medical Review*, v. 59, p. 9-17, 1988.

LIEBISCH, A.; DORN, H.; LIEBISCH, G.. Control of naturally acquired bovine ectoparasites with Bayticol pour-on 1% (flumethrin). In: TRENTES, F. J. Proceedings of the 18th World Buiatrics Congress, Bologna, Italy, August 29-September 2, p.769-772, 1994. *Anais... Bologna, Italy*, 1994.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. *Sifonápteros do Brasil*. São Paulo: Editora Museu de Zoologia USP/FAPESP, 2000. 291 p.

LINARDI, P. M.; NAGEM, R. L. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835)(Siphonaptera, Pulicidae) e sua sobrevivência fora do hospedeiro. *Boletim do Museu de História Natural UFMG, Zoologia*, v. 13, p. 1-23, 1972.

LÖHR, K. F.; OMUKUBA, J. N.; NJOGU, A. R.; MALOO, S. H.; GISEMBA, F.; OKEDI, T.; MWONGELA, S. Investigation of the efficacy of flumethrin pour-on for the control of high tsetse and trypanosomiasis challenge in Kenya. *Tropical Medicine and Parasitology*, v. 42, n. 2, p. 131-134, 1991.

LOSSON, B. J.; LONNEUX, J. F. Field efficacy of flumethrin pour-on against *Psoroptes ovis* in cattle. *The Veterinary Record*, v. 131, n. 4, p. 73-75, 1992.

LOULY, C. C. B.; FONSECA, I. N.; OLIVEIRA, V. F.; LINHARES, G. F. C.; MENEZES, L. B.; BORGES, L. M. F. Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiânia, Goiás, Brazil. *Ciência Rural*, v. 37, n. 2, p. 464-469, 2007.

MARSELLA, R. Advances in flea control. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 29, n. 6, p. 1407-1424, 1999.

MASON, K. V.; RING, J.; DUGGAN, J. Fenthion for flea control on dogs under field conditions: dose response efficacy studies and effect on cholinesterase activity. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 20, n. 4, p. 591-595, 1984.

MCLEAN, M. K.; HANSEN S. R. An Overview of Trends in Animal Poisoning Cases in the United States: 2002–2010. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, January, 2012. doi:10.1016/j.cvsm.2011.12.009. Disponível em: <<http://www.citeulike.org/article/10252048>>. Acesso em 10 de jan. 2012.

MEHLHORN, H.; SCHUMACHER, B.; JATZLAU, A.; ABDEL-GHAFFAR, F.; AL-RASHEID, K. A.; BHUSHAN, C. The effects of flumethrin (Bayticol® pour-on) on European ticks exposed to treated hairs of cattle and sheep. *Parasitology Research*, 2011, doi 10.1007/s00436-011-2745-1. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/d583w93n2845035x/fulltext.pdf>>. Acesso em 18 de dez. 2011.

MILLER, J. E.; BAKER, N. F.; COLBURN, E. L. Jr. Insecticidal activity of propoxur- and carbaryl-impregnated flea collars against *Ctenocephalides felis*. *American Journal of Veterinary Research*, v. 38, n.7, p. 923-925, 1977.

MOLINEAUX, L.; SHIDRAWI, G. R.; CLARKE, J. L.; BOULZAGUET, R.; ASHKAR, T.; DIETZ, K. The impact of propoxur on *Anopheles gambiae* s.l. and some other anopheline populations and its relationship with some pre-spraying variables. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 54, n. 4, p.379-389, 1976.

MOTTA, V. T. *Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 4 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau; São Paulo: Robe Editorial; Educs, 2003.

MORAES, A. C. L. *Intoxicações por Organofosforados e Carbamatos*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1999. Disponível em: <<http://www.portalteses.cict.fiocruz.br>> Acesso em: 12 dez 2011.

NARAHASHI, T. Neuronal ion channel as the target sites of insecticides. *Pharmacology and Toxicology*, v. 79, n. 1, p. 1-14, 1996.

NASUTI, C.; CANTALAMESSA, F.; FALCIONI, G.; GABBIANELLI, R. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology*, v.191, n. 2-3, p. 233-244, 2003.

NATION, J. L. *Insect physiology and biochemistry*. Galnesville: Crc Press, 2001. 496 p.

NEITZ, W. O. D.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. laboratory Investigations on the life cycle of Karoo paralysis ticks (*Ixodes rubicundus* Neummam, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215 – 224, 1971.

OLIVEIRA, A. C.; MACHADO, J. A. C.; ANTÔNIO; N. S.; NEVES; M. F. *Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*: Revisão de Literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, n. 11, 2008.

OLIVER JR, J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 20, p. 397–430. 1989.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, v. 32, n. 6, p. 897-928, 2001.

PUGH, R. E. Effects on the development of *Dipylidium caninum* and on the host reaction to this parasite in the adult flea (*Ctenocephalides felis felis*). *Parasitology Research*, v. 73, n. 2, p. 171-177, 1987.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RAIL, C. D.; HANNA, T. L.; MOORE, W. R. Plague. A Growing Concern. *Journal of Environmental Health*, v. 42, n. 1, p. 315-319, 1980.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.

ROSS, D. H.; YOUNG, D. R.; YOUNG, R.; PENNINGTON, R. G. Topical pyriproxyfen for control of the cat flea and management of insecticide resistance. *Feline Practice*, v. 26, n. 2, p. 18-22, 1998.

RUST, M. K.; DRYDEN, M. K. The biology, ecology and management of the cat flea. *Annual Review of Entomology*. v. 42, p. 451-73, 1997.

SACCARO, R. DE O. *Atividade de colinesterase sérica em cães antes e durante o uso de coleira impregnada com agente anticolinesterásico*. 2007. 42 f. Monografia (Especialista em

Análises Veterinária Clínicas) - UFRS, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13049/000625297.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Pyrethroids: a review. *Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food and Nutrition*, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SCHEIDT, V. J. Flea allergy dermatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 18, n. 5, p. 1023-1042, 1988.

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

SHAFER, T. J.; MEYER, D. A.; CROFTON, K. M. Developmental neurotoxicity of pyrethroids insecticides: critical review and future research needs. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 2, p. 123-136, 2005.

SHAURUB EL-S, H. Histochemical studies on the effect of propoxur on yolk synthesis in the ovarioles of the blow fly, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, v. 24, n. 2, p. 271-277, 1994.

SHRIVASTAVA, S. P.; GEORGHIOU, G. P.; METCALF, R. L.; FUKUTO, T. R. Carbamate resistance in mosquitos: The metabolism of propoxur by susceptible and resistant larvae of *Culex pipiens fatigans*. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 42, n. 6, p.931-942, 1970.

SISLI, M. N.; BOŞGELMEZ, A; KOÇAK; O.; PORSUK, H. The effects of malathion, fenitrothion and propoxur on the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), populations. *Mikrobiyol Bulteny*, v. 17, n. 1 p. 49-62, 1983.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, v. 171, n. 1, p. 3-59, 2002.

SPENCER, C. I.; YUILL, K. H.; BORG, J. J.; HANCOX, J. C.; KOZLOWSKI, R. Z. Actions of pyrethroid insecticides on sodium currents, action potentials, and contractile rhythm in isolated mammalian ventricular myocytes and perfused hearts. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 298, n. 3, p. 1067-1082, 2001.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002, 918p.

STAGGEMEIER, R.; KLEIN, C. A. V. D. H.; PETRY, M.; SPILKI, F. R.; CANTARELL, V. V. Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in cats in the south of Brazil: a molecular study, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 7, p. 873-878, 2010.

TANCREDI, M. G.; CORREIA, T. R.; RIBEIRO, F. A.; BOTELHO, M. C.; TAVARES, P. V.; SCOTT, F. B.; VEROCAI, G. G.; COUMENDOUROS, K. Eficácia comparativa de duas

formulações de uso tópico contendo fipronil 10% no controle de *Ctenocephalides felis felis* em gato. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, n. 4, p. 74-77, 2009.

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

TECLES, F; MARTÍNEZ SUBIELA, S.; BERNAL, L. J.; CERÓN, J. J. Use of whole blood for spectrophotometric determination of cholinesterase activity in dogs. *Veterinary Journal*, v. 160, n. 3, p. 242-249, 2000.

THONG, P. R.; KOLF-CLAUW, M.; MILHAUD, G., Évaluation de l'activité cholinérasique chez la chien. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, v. 171, n. 12, p. 835-839, 1995.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Propoxur (Baygon)*. Hazard Summary-Created in April 1992; Revised in January 2000. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/propoxur.html>>. Acesso em: 21 dez. 2011.

VALENTINE, W. M. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 20, n. 2, p. 375-382, 1990.

VAN DEN BOS, R. H.; CURTIS, R. J. The use of a 4% (w/w) deltamethrin collar (Scalibor Protector Band) in the extended control of ticks on dogs. *Experimental and Applied Acarology*, v. 28, n. 1-4, p. 297-303, 2002.

VERSCHOYLE, R. D.; ALDRIDGE, W. N. Structureactivity relationships of some pyrethroids in rats. *Archives of Toxicology*, v. 45, n. 4, p. 325-329, 1980.

VIOQUE-FERNÁNDEZ, A.; DE ALMEIDA, E. A.; LÓPEZ-BAREA, J. Esterases as pesticides biomarkers in crayfish (*Procambarus clarkii*, Crustacea): tissue distribution, sensitivity to model compounds and recovery from inactivation. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology*, v. 145, n. 3, p. 404-412, 2007.

VIRAN, R.; UNLÜ ERKOÇ, F.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 55, n. 1, p. 82-85, 2003.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. *An Introduction to Insecticides* (4th edition), 2009. Disponível em: <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>>. Acesso em: 09 dez. 2011.

WINGFIELD, W. E. *Segredos em Medicina Veterinária*. Porto Alegre: Artmed, 1998. 546 p.

WITCHEY-LAKSHMANAN, L. C. Long-acting control of ectoparasites: a review of collar technologies for companion animals. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 38, n. 2, p. 113-122, 1999.