

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

DISSERTAÇÃO

Eficácia *In Vitro* de uma Formulação Aerossol de Piriproxifen e Ciflutrina no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista

2013



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

**EFICÁCIA *IN VITRO* DE UMA FORMULAÇÃO AEROSSOL DE PIRIPROXIFEN E
CIFLUTRINA NO CONTROLE DE *Ctenocephalides felis felis*
(BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE)**

LILIAN CRISTINA DE SOUSA OLIVEIRA BATISTA

Sob a Orientação da Professora
Katherina Coumendouros

e Co-orientação do Professor
Fabio Barbour Scott

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 2013

595.775

B333e

T

Batista, Lilian Cristina de Sousa Oliveira,
1986-

Eficácia in vitro de uma formulação
aerossol de piriproxifen e ciflutrina no
controle de Ctenocephalides felis felis
(Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) /
Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista -
2013.

48 f.: il.

Orientador: Katherina Coumendouros.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2013.

Bibliografia: f. 30-35.

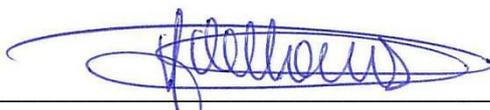
1. Pulga de gato - Controle - Teses. 2.
Pulga de gato - Efeito dos pesticidas -
Teses. 3. Piretróides - Teses. I.
Coumendouros, Katherina, 1968-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias. III. Título.

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

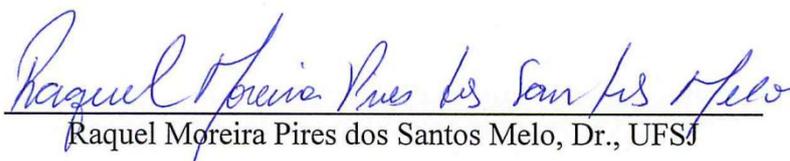
LILIAN CRISTINA DE SOUSA OLIVEIRA BATISTA

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 27/02/2013



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



Raquel Moreira Pires dos Santos Melo, Dr., UFSJ



Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Dr^a., UFRRJ



Clarissa Pimentel de Souza, Dr^a., UFRRJ

Aos amores da minha vida... meus pais.

*“Por mais longa que seja a caminhada,
o mais importante é dar o primeiro passo.”*

Vinícius de Moraes

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que tantas coisas boas aconteçam na minha vida e me mostrar que a fé nos dá resposta ao que parece impossível.

Aos meus pais, por orientarem o meu caminho, feito de lutas e incertezas mas também de muitas esperanças e sonhos. Pelo amor, por me ensinarem os valores da vida, por serem tão amigos e se preocuparem sempre comigo. Pelo abraço aconchegante na minha volta pra casa nos finais de semana e por serem o melhor exemplo do que é “ser uma pessoa do bem”.

À minha querida orientadora Katherina Coumendouros por me aceitar como sua orientada e estar sempre disposta a ajudar, pelos conselhos, carinho e incentivo.

Ao meu co-orientador Fabio Barbour Scott, pela oportunidade, amizade, incentivo e por me ouvir nos momentos difíceis.

À Thaís Ribeiro Correia Azevedo pelo auxílio nos momentos que precisei e por me mostrar que sempre podemos superar as adversidades encontradas na vida.

À Raquel Moreira Pires dos Santos Melo por ter me recebido em sua casa com tanto carinho logo que cheguei em Seropédica.

Aos meus familiares pelo apoio, incentivo e por vibrarem a cada conquista minha.

À minha querida amiga, Vanessa Paulino da Cruz Vieira Rodrigues, por ter me acolhido de uma forma tão especial e estar sempre ao meu lado mesmo estando distante.

Ao meu namorado, Léo Vitor Fonseca da Silva, pelo carinho, por ser meu companheiro nas horas noturnas de estudo, por me mostrar sempre o lado bom das coisas.

Àquela que sempre acreditou no meu sucesso, Emília Regina Fonseca da Silva, e que estará sempre no meu pensamento como um exemplo de alegria e dedicação.

À minha amiga Mirza Nalesso, um presente de Deus, por partilhar comigo minhas alegrias e também estar do meu lado naqueles momentos em que mais precisei de um ombro amigo.

De forma especial aos amigos do LQEPV, pelo carinho, pelas risadas compartilhadas, pelo trabalho em equipe e por estarem sempre dispostos a ajudar em qualquer situação. Não vou citar nomes para não correr o risco de esquecer alguém, não porque não sejam importantes, mas porque nossa equipe é realmente muito grande.

Aos amigos do mestrado pelos momentos compartilhados e pela amizade que carregaremos pra sempre em nossas vidas.

À Secretaria, Coordenação e aos Professores do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e a Fundação de Apoio a Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (FAPUR) pelo apoio financeiro.

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

Obrigada!

BIOGRAFIA

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista, filha de Luiz Lazarino Dornelas Batista e Leonice de Sousa Oliveira Batista, nasceu ao dia 06 de novembro de 1986, no município de Valença, Rio de Janeiro. cursou o ensino fundamental e médio no Instituto de Educação Deputado Luiz Pinto na mesma cidade onde nasceu.

Em 2005 ingressou no curso de Medicina Veterinária na Fundação Educacional Dom André Arcoverde (Valença-RJ), graduando-se em agosto de 2009. Atuou como monitora das disciplinas de Parasitologia Animal I e II nos anos de 2007 e 2008, sob a orientação do professor Ian Phillip Tancredi.

No ano de 2010 realizou aperfeiçoamento técnico no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e em 2011 ingressou no curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – área de concentração: Parasitologia Veterinária, da mesma universidade, em nível de mestrado. Foi bolsista CNPq de março de 2011 a fevereiro de 2012 e em março de 2012 foi contemplada com a Bolsa Nota 10 da FAPERJ, sob a orientação da professora Katherina Coumendouros e co-orientação do professor Fabio Barbour Scott.

Em 2013 foi aprovada no processo seletivo para o doutorado no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, sob a orientação da professora Katherina Coumendouros e co-orientação do professor Douglas Siqueira de Almeida Chaves, dando início a uma nova etapa importante na vida acadêmica.

RESUMO

BATISTA, Lilian Cristina de Sousa Oliveira. **Eficácia *in vitro* de uma formulação aerossol de Piriproxifen e Ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae).** 2013. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar através de teste *in vitro*, a eficácia e o período residual de proteção de uma formulação aerossol de piriproxifen e ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis*. Um feltro branco com um milímetro de espessura e dois metros quadrados foi impregnado com a formulação na apresentação de aerossol, em uma concentração de 0,04% de ciflutrina e de 0,05% de piriproxifen (Fleegard® BAYER) e após a secagem, mantido no ambiente em condições naturais até o dia de desafio. Foram utilizadas seis tiras de feltro impregnadas com o produto e seis tiras controle, sem tratamento, para cada dia de desafio semanal. Para o teste com formas imaturas, cada tira foi colocada em tubo de ensaio contendo 10 ovos ou 10 larvas e meio grama de uma dieta necessária para o desenvolvimento larval. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$. No 25º dia após a incubação, o material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL e realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário com auxílio de microscópio estereoscópico. A eficácia média da interrupção do desenvolvimento ovo-adulto foi de 98,78%, com variações mínima de 89,47% e máxima de 100%, e para a larva-adulto foi de 96,16%, com variações mínima de 82,14% e máxima de 100%, ao longo de 182 dias de desafio. Para o teste com adultos foram colocadas dez pulgas adultas não alimentadas de *C. felis felis* em cada tubo, sendo cinco machos e cinco fêmeas. Foi registrado o número de insetos vivos e mortos nos tempos de 10 minutos, 30 minutos, uma hora, duas horas, três horas, quatro horas e 24 horas com auxílio de um microscópio estereoscópico, nos dias 0 (30 minutos após a impregnação do feltro), +1; +2; +5; +10; +15; +20 e +30 e constatou-se a eficácia, respectivamente de 35,7; 88,5; 75,9; 66,7; 67,6; 40,7; 22,2 e 12;3. Pôde-se concluir que a formulação aerossol de ciflutrina e piriproxifen foi eficaz no controle ambiental de formas imaturas de *C. felis felis* por um período de 26 semanas e para adultos 24 h após a exposição ao produto com período residual de ação estendendo-se de forma significativa por até dois dias após a impregnação do feltro.

Palavras-chave: pulga, regulador de crescimento de insetos, piretróide.

ABSTRACT

BATISTA, Lilian Cristina de Sousa Oliveira. ***In vitro* efficacy of Pyriproxyfen and Cyfluthrin formulation in the *Ctenocephalides felis felis* control (Bouche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2013. 48p. Dissertation (Master Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The objective of the present study was to evaluate through *in vitro* test, the efficacy and residual period of protection in an aerosol formulation of pyriproxyfen and cyfluthrin in the *Ctenocephalides felis felis* control. A white felt of one millimeter of thickness and two square meters was impregnated with a formulation at a concentration of 0.04% of cyfluthrin and 0.05% of pyriproxyfen (Fleegard® Bayer), and after dried, retained at a natural conditions environment until the challenge's day. For each day of weekly challenge, six strips of impregnated carpet and six control strips, without treatment were used. For the test with immature forms, each strip was placed in a test tube with 10 eggs or 10 larvae and a half gram of a required diet for the larval development. The tubes were inside an incubator at a temperature of 28 ± 1 °C and relative humidity of $75 \pm 10\%$. At the 25th day after the incubation, the material of each challenge was fixed with alcohol 70 °GL and the quantification of adults emerged from puparium was performed with the aid of a stereoscopic microscope. The average efficacy of egg-adult interruption of development was 98.78%, with minimum variation 89.47% and maximum 100%, and the larvae-adult was 96.16%, with minimum variation 82.14% and maximum 100%, over 182 days of challenge. For the test with adults were placed ten fleas not fed *C. felis felis* in each tube, being five male and five females. It was recorded the number of live and dead in times of 10 minutes, 30 minutes, one hour, two hours, three hours, four hours and 24 hours with the aid of a stereoscopic microscope on days 0 (30 min after impregnation of the felt), +1, +2, +5, +10, +15, +20 and +30 and was found to effectively, respectively of 35.7; 88.5; 75.9; 66.7; 67.6; 40.7; 22.2 and 12.3. It can be concluded that in aerosol formulation of cyfluthrin and pyriproxyfen was effective on the control of immature stages of *C. felis felis* for up to 26 weeks and adults after 24 h exposure to the product with residual action period extending substantially up to two days after the impregnation of felt.

Key words: flea, insect growth regulator, pyrethroid.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*..... 18

Tabela 2. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.....23

Tabela 3. Número de pulgas vivas e eficácia adulticida de uma formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% no controle *in vitro* de *Ctenocephalides felis felis*.....28

.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura básica da fenotrina e permetrina (piretróides do tipo I) (Fonte: ANADON et al., 2009). 10
- Figura 2.** Estrutura básica da ciflutrina e λ -cialotrina (piretróides do tipo II) (Fonte: ANADON et al., 2009).....11
- Figura 3.** Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.....21
- Figura 1.** Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.....26

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

RCI	Regulador de Crescimento de Insetos
IGR	Insect Growth Regulator
DAPP	Dermatite Alérgica a Picada de Pulga
HJ	Hormônio Juvenil
AHJ	Análogos do Hormônio Juvenil
PTTH	Prothoracicotropic Hormone
GABA	Ácido Gamaaminobutírico
LQEPV	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Biologia e Importância de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	2
2.2 Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	4
2.3 Controle Mecânico	4
2.4 Controle Químico	5
2.4.1 Reguladores de crescimento de insetos	6
2.4.1.1 Análogos do hormônio juvenil	7
2.4.1.1.1 Piriproxifen.....	8
2.4.2 Piretróides.....	9
2.4.2.1 Ciflutrina.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Localização da Experimentação	13
3.2 Obtenção de Ovos, Larvas e Adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	13
3.3 Delineamento Experimental	13
3.3.1 Avaliação <i>in vitro</i> da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina no controle de formas imaturas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	13
3.3.2 Etapa 1: Interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	13
3.3.3 Etapa 2: Interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	14
3.3.4 Avaliação <i>in vitro</i> da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina no controle de adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	14
3.4 Análise Estatística	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1 Eficácia <i>in vitro</i> da Formulação Aerossol Contendo Piriproxifen 0,05% e Ciflutrina 0,04% no Controle de Formas Evolutivas de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	16
4.1.1 Eficácia <i>in vitro</i> da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	16

4.1.2 Eficácia <i>in vitro</i> da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	17
4.1.3 Eficácia <i>in vitro</i> da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina sobre adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	22
5 CONCLUSÃO	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

As pulgas são insetos ápteros, com hematofagia restrita aos adultos e apresentam alternância entre vida livre, nos estágios imaturos e parasitária, no estágio adulto. Dentro da família Pulicidae, a subespécie *Ctenocephalides felis felis*, única encontrada nas Américas, é um dos ectoparasitas de cães e gatos com maior importância econômica no mundo inteiro.

As pulgas, independente de sua espécie, são insetos com metamorfose completa, sendo seu ciclo biológico dividido em quatro fases diferenciadas: ovo, larva, pupa e adulto (DRYDEN, 1993), sendo que apenas 5% da população de pulgas estão sobre o hospedeiro, enquanto que 95% encontram-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Além do desconforto, as pulgas representam uma ameaça à saúde animal e humana devido às reações causadas por suas picadas cujos sintomas incluem eritema, edema, prurido intenso e doloroso; ainda sintomas graves de hipersensibilidade ou dermatite alérgica em humanos e animais (MEHLHORN et al., 1999). A pulga *C. felis felis* pode ser hospedeiro intermediário do cestóide *Dipylidium caninum* (parasita de cães, gatos e ocasionalmente de crianças), do filarídeo *Dipetalonema reconditum* e vetor do agente da doença da arranhadura do gato, *Bartonella henselae*, além de também atuar como agente transmissor de algumas riquetsias (DRYDEN, 1993).

De forma geral, os programas de controle têm como base a combinação equilibrada de métodos mecânicos e métodos de aplicação de compostos químicos (RIBEIRO et al., 2008), o que favorece um controle estratégico deste parasita.

Muitos avanços científicos têm ocorrido em função dos problemas ocasionados pela infestação por pulgas. Contudo, muitas populações de pulgas têm desenvolvido altos níveis de resistência aos pesticidas, dificultando assim o controle desses insetos.

Vale ressaltar que o uso abusivo destes inseticidas tem causado grande impacto ambiental, o que justifica a necessidade de busca por novas formulações parasiticidas, através da pesquisa de formulações que apresentem dentre outras características, baixa toxicidade para mamíferos, poder residual prolongado em adição ao baixo impacto ambiental.

Para um controle eficiente é necessária uma associação de estratégias e produtos, que atuem nas diferentes fases do desenvolvimento destes insetos, possibilitando uma redução efetiva das pulgas não apenas sobre os animais, mas no meio ambiente (BRANDÃO, 2004).

Os tratamentos contra infestações por *C. felis felis* no ambiente externo, combinam tipicamente o uso de reguladores de crescimento de insetos, conhecidos como RCI ou IGR (Insect Growth Regulation) e inseticidas neurotóxicos (MILLER et al., 2000).

Os RCI's não são adulticidas, atuam interferindo no crescimento e desenvolvimento do parasita, em suas diferentes fases, mas principalmente em seus estágios imaturos (GRAF, 1993). Já os piretróides atuam na transmissão axônica e são bastante conhecidos pelo seu efeito de choque (“know-down”) quase instantâneo nos insetos (BORGES; VILA NOVA, 2011).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, através de testes *in vitro*, a eficácia e o período residual de proteção da associação do regulador do crescimento de insetos, piriproxifen, e do piretróide ciflutrina no controle ambiental de formas imaturas e adultas de *C. felis felis*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia e Importância de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas pertencem ao Filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Siphonaptera, são insetos pequenos, achatados lateralmente e sem asas (RUST, 2005). São cosmopolitas, com 3000 espécies e/ou subespécies aproximadamente catalogadas (LEWIS, 1998).

No Brasil destacam-se as espécies *Pulex irritans* (Linnaeus, 1758), *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903), *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) e a subespécie *C. felis felis* (Bouché, 1835) da família Pulicidae, além de algumas espécies da família Rhopalopsyllidae (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

São ectoparasitas obrigatórios, espécie específicos, comumente encontrados em cães e gatos (SLOSS et al., 1999), porém, na ausência do hospedeiro específico e estimulados pela necessidade de realizar a hematofagia, podem espoliar hospedeiros alternativos como bovinos, caprinos, ovinos e inclusive o homem (BICHO; RIBEIRO, 1998; PEREIRA et al., 2012).

São importantes não só pela transmissão de patógenos, mas também por causarem irritação pela inoculação de sua saliva no momento da picada podendo resultar em uma dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP) que é uma doença dermatológica comum dos cães e uma das principais causas de dermatite felina. Segundo Paterson (2010), as pulgas são a causa mais comum de doenças de pele em cães e gatos por todo mundo.

Possuem ação espoliadora, em grandes infestações podem levar o hospedeiro a anemia e até morte devido à hematofagia (BLAGBURN; DRYDEN, 2009)

Conhecida vulgarmente como pulga do gato, *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) parasita também os cães, sendo a única subespécie encontrada no continente americano (DRYDEN, 1993) e considerada o ectoparasita mais importante de cães e gatos em muitas partes do mundo (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Ctenocephalides felis felis é hospedeiro intermediário do cestóide *Dipylidium caninum* comumente encontrado no intestino delgado dos cães e gatos e, acidentalmente, no homem, principalmente crianças, e do filarídeo *Dipetalonema reconditum* (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Podem ser responsáveis pela transmissão das riquetsias *Rickettsia typhi* e *R. felis*, *Bartonella henselae* (KAMRANI et al., 2008; BREITSCHWERDT, 2008) e *Yersinia pestis* (EISEN et al., 2008).

Por serem insetos holometabólicos, as pulgas completam o ciclo de ovo a adulto através de vários estágios larvais e um estágio pupal, para enfim, chegarem à fase adulta. A conclusão de todo ciclo de vida, de ovo a adulto, pode variar significativamente entre as espécies (BITAM et al., 2010), podendo ser completada em 12 a 14 dias, ou prolongado até 174 dias, dependendo da temperatura e umidade no interior do microambiente. No entanto, na maioria das condições domésticas, quase todas as pulgas do gato completam o seu ciclo de vida dentro de três a oito semanas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Uma vez sobre o hospedeiro, *C. felis felis* inicia a hematofagia, o acasalamento ocorre dentro das primeiras oito e 32 horas, com fêmeas copulando com vários machos (DRYDEN; RUST, 1994).

Pouco tempo depois da cópula ocorre a primeira postura. Esta se realiza sobre os animais, entre os pelos, caindo depois nos lugares frequentados ou habitados por eles (COSTA-LIMA, 1943). As pulgas são muito prolíferas, produzindo cerca de 30 ovos por dia (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

As larvas das pulgas eclodem, entre dois e 16 dias, e mediante movimentos serpentiformes, deslocam-se rapidamente no meio em que vivem (COSTA-LIMA, 1943). São

eucéfalas, vermiformes, ápodas e esbranquiçadas, com aparelho bucal mastigador. De um modo geral, vivem livremente nas tocas e ninhos de seus hospedeiros, alimentando-se do excremento de pulgas adultas incorporados a detritos orgânicos e dejetos dos hospedeiros. Seu desenvolvimento ocorre em microambientes protegidos que combinam temperatura moderada, umidade relativa elevada e uma fonte de sangue encontrada nas fezes da pulga adulta. As larvas não se desenvolvem em áreas expostas ao sol forte já que são extremamente sensíveis à dessecação (DRYDEN; RUST, 1994).

Em cada estágio larvário, o comprimento é aumentado atingindo mais que o dobro ao final do terceiro estágio. As larvas de primeiro estágio são portadoras de uma estrutura dorsal na cabeça, um espinho destinado a romper os ovos durante a eclosão. Todos os instares larvais orientam-se pela gravidade, movem-se em direção contrária à luz, reconhecem estímulos tácteis e reagem ao contato mecânico. Este comportamento possibilita que as larvas encontrem locais seguros e escondidos para se protegerem contra a dessecação. Em consequência de tais ações, mais de 80% de *C. felis felis* desenvolvem-se na base dos carpetes dos domicílios, onde se locomovem por mais de 46cm. Quando confinadas à areia, as larvas penetram até 2,3 mm, de modo a evitarem a luz (KERN JR et al., 1992). As larvas podem ser encontradas em frestas cobertas, entrelaçados no tecido de carpetes e estofados, embaixo de móveis e dentro de fendas e rachaduras. (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Após sete a 14 dias de vida ativa, a larva de terceiro estágio, com a saliva, forma um casulo oval, pegajoso, que facilmente adere a qualquer suporte, retendo também partículas de poeira, dando início à fase de pupa. Esta fase dura geralmente de 7 a 10 dias podendo prolongar-se por mais tempo. As pupas podem ser nuas ou encasuladas (SILVERMAN; RUST, 1985). Atingida a fase adulta, a pulga fica algum tempo dentro do casulo, podendo permanecer, se não a perturbarem, durante algumas semanas (COSTA-LIMA, 1943).

A emergência dos adultos a partir das pupas é estimulada por pressão mecânica, como por exemplo, o deslocamento dos hospedeiros nas proximidades ou seu pisoteio sobre os casulos, e aquecimento, proporcionado pela temperatura do corpo de um hospedeiro potencial assentado sobre elas (SILVERMAN; RUST, 1985). A abertura de portas ou janelas em ambientes fechados também favorece a emergência (LINARDI et al., 1997).

Na fase adulta, o hematofagismo é realizado pelos dois sexos, podendo ser realizada tanto durante o dia quanto à noite. As pulgas adultas alimentam-se, com seus estiletos perfurantes, diretamente dos vasos sanguíneos (solenófagas) (DRYDEN; RUST, 1994).

O repasto se prolonga após a repleção para que o sangue extravasado saia nas fezes e sirva de alimento às larvas. Cada repasto dura cerca de 10 minutos, com duas a três refeições ao dia. Em *C. felis felis*, num período de 48 horas, fêmeas e machos aumentam o peso do corpo em, respectivamente, 140% e 19% (DRYDEN; RUST, 1994), com as fêmeas podendo ingerir diariamente uma média de quase 14µL de sangue, o que corresponde a 15 vezes o seu próprio peso corpóreo (DRYDEN; GAFFAR, 1991).

O adulto depende essencialmente de estímulos visuais para encontrar seu hospedeiro, sendo que fatores como idade da pulga, concentração de CO₂, temperatura podem modificar suas respostas. Se os adultos recém-emergidos não adquirirem imediatamente um hospedeiro, eles podem sobreviver durante vários dias em jejum (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Na América do Norte, vários hospedeiros não domesticados que abrigam as pulgas de gato têm sido relatados, incluindo coiotes, raposas, lince, gambás, várias espécies de roedores, guaxinins, pantera da Flórida, aves e furões (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

2.2 Controle de *Ctenocephalides felis felis*

O sucesso do controle de infestações por pulgas no animal de estimação geralmente envolve uma combinação de estratégias, incluindo o uso de inseticidas hospedeiro/alvo com ação ambiental, além de meios mecânicos de eliminar ou reduzir as fases de pulgas do ambiente (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Devido ao fato de somente 5% da população de pulgas estarem sobre o hospedeiro e 95% encontrarem-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000), um tratamento ocasional com adulticidas pode ser adequado para manter sob controle apenas uma simples pulicose, mas esta abordagem não impediria todo o ciclo epidemiológico. A presença de ovos, larvas e pupas no ambiente doméstico garantiriam que um animal, mesmo tratado, se tornasse novamente infestado (CARLOTTI; JACOBS, 2000).

Um programa de controle de pulgas completo deve envolver o tratamento do animal infestado e de todos os animais em contato, juntamente ao controle mecânico e químico ambiental. Educar o proprietário sobre a biologia e habitat das pulgas que infestam seu animal de estimação é essencial em qualquer programa de controle (DRYDEN et al., 1989).

Muitos proprietários consideram os produtos como sendo tóxicos para o animal de estimação e não os aplicam corretamente, aplicam em sub-dose, ou simplesmente não seguem as instruções do rótulo ou do veterinário, permitindo a reinfestação e a seleção genética de populações de pulgas resistentes (DRYDEN; BROCE, 2002). Os proprietários devem estar cientes de que em qualquer lugar que o animal de estimação infestado tenha acesso, os ovos serão depositados e a possibilidade de desenvolvimento de pulgas existe. Portanto, onde o animal passa a maior parte de seu tempo é onde terá o maior número de ovos depositados, sendo este o lugar onde as medidas de controle devem ser concentradas. Se não houver eliminação das formas imaturas do ambiente é pouco provável que qualquer programa de controle seja bem sucedido (DRYDEN et al., 1989).

Só é possível um controle eficiente pela associação de estratégias e produtos, tanto adulticidas quanto aqueles que atuam nas fases imaturas destes insetos, possibilitando uma redução efetiva das pulgas sobre os animais e no ambiente. No entanto, a utilização consciente destes produtos por parte dos clínicos veterinários e proprietários de animais de estimação é fundamental, otimizando a ação e garantindo efetividade máxima (BRANDÃO, 2004).

2.3 Controle Mecânico

Embora muitas vezes esquecido; o controle mecânico pode aumentar significativamente a eficácia de um programa de controle (DRYDEN et al., 1989). A primeira etapa para o controle mecânico de pulgas, segundo Linardi e Guimarães (2000) nos animais domésticos, como cães e gatos de pêlo curto, é a higiene aliada à catação manual das pulgas freqüentemente. Este método também visa principalmente alterar e/ou remover as condições que propiciam o desenvolvimento de populações de pulgas nos ambientes interno e externo.

No que se refere ao ambiente interno a aspiração completa pode oferecer vários benefícios para um programa de controle. Dependendo do tapete, um aspirador pode remover ovos e larvas, além de remover fezes de pulgas e outros materiais orgânicos que podem servir como alimento para as larvas; limpeza à vapor também ajuda na eliminação. Imediatamente após a limpeza deve-se descartar o saco de vácuo, para que os ovos e larvas não continuem se desenvolvendo dentro do saco e torne-o um reservatório de pulgas. Os pisos devem ser limpos, pois o desenvolvimento de pulgas pode ocorrer em fendas e rachaduras. A cama do animal deve ser lavada semanalmente junto com qualquer outro material que o animal use para dormir (tapetes, panos, etc.). Se um animal dorme sob a cama ou outros móveis, esses

itens devem ser movidos antes da limpeza. Outras áreas que são ocasionalmente infestadas, mas muitas vezes esquecidas são os automóveis, as garagens, os porões e as caixas de transporte (DRYDEN et al., 1989).

A adoção de simples medidas de controle físico através de impedimento ou restrição do acesso dos animais a determinados cômodos da residência são fatores que contribuem para um eficaz controle nos ambientes internos (DRYDEN; PRESTWOOD, 1993; GREEK, 1994; DRYDEN, 1995).

Quanto ao ambiente externo vários pontos importantes devem ser considerados. As áreas protegidas da luz solar direta e onde o solo é úmido proporciona condições adequadas para o desenvolvimento de pulgas. Locais com gramados, muitos arbustos com acúmulo de folhagem e matéria orgânica, e que são mais frequentados pelos animais nas horas mais quentes do dia, podem se transformar em focos de criação de formas imaturas de *C. felis felis*, principalmente se as condições de temperatura e de umidade relativa forem favoráveis (DRYDEN, 1995). Por isso, deve-se varrer o canil e realizar o manejo adequado da vegetação e solo. A área deve ser protegida para evitar o contato do cão com outros animais externos ao domicílio (MELO, 2006).

2.4 Controle Químico

Inseticidas são substâncias químicas utilizadas para matar, atrair e repelir insetos, sendo sua descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e de impacto ambiental um vasto tópico de pesquisas no mundo inteiro e que tem se desenvolvido bastante nas últimas décadas (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

O primeiro inseticida comercial foi introduzido no mercado em 1843, quando o primeiro pó molhável contendo enxofre foi comercializado. Na década de 1940, surgiram as neurotoxinas sintéticas (GEARY; THOMPSON, 2003) cujo órgão alvo principal era o sistema nervoso dos insetos. Atualmente o principal alvo ainda é o sistema nervoso, e as substâncias, muitas vezes, referidas como neurotóxicas. Um dos grandes problemas com estes compostos é que eles atuam em um número muito limitado de sítios levando a um rápido desenvolvimento e propagação da resistência (SOUZA, 2010).

O controle de ectoparasitas de importância veterinária ainda depende muito do uso de produtos químicos. Estes, no entanto, têm uma série de inconvenientes, tais como o desenvolvimento de resistência dos parasitas, preocupações ambientais ou de segurança, que sublinham a necessidade de investigação na procura de novos compostos ou formulações melhoradas (TAYLOR, 2001).

São vários os grupamentos químicos disponíveis para o controle de ectoparasitas, como por exemplo os piretróides, organofosforados, carbamatos, fenilpirazoles, nitroguanidinas, neonicotinóides e lactonas macrocíclicas, porém os métodos de controle químico mais corriqueiramente utilizados, e que merecem maior destaque, incluem o emprego dos reguladores de crescimento dos insetos e de substâncias adulticidas com prolongado poder residual nos hospedeiros e no ambiente (SCOTT et al., 2002). Quando os animais são tratados apenas com compostos adulticidas, acabam se reinfestando continuamente porque após o tratamento continuam a residir em seus ambientes de origem, onde os ovos de pulgas, larvas, pupas e pulgas emergentes permanecem e proporcionam uma fonte contínua de novas pulgas adultas (DRYDEN et al., 2007).

Os ectoparasiticidas podem agir tanto sistemicamente, baseando-se na captação do composto pelos tecidos dos hospedeiros, quanto por contato direto com o parasita-alvo após a aplicação externa (TAYLOR, 2001). Os ectoparasiticidas empregados no controle dos principais ectoparasitas de cães e gatos estão disponíveis em diversos tipos de formulações e

métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, sprays, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on” e “pour-on” (SCOTT et al., 2002).

A eficácia e duração residual de muitos inseticidas podem variar muito e podem ser influenciadas pela temperatura, umidade, forma de aplicação, formulação, superfície de tratamento, cepa da pulga, desenvolvimento de resistência, entre outros (DRYDEN et al., 1989).

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

Várias propriedades do produto devem ser consideradas num programa de controle de pulgas. Entre eles estão a velocidade de ação, duração e espectro de atividade, via de administração e ação sistêmica versus tópica do produto. Estas propriedades podem ser importantes se o animal sofre de dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP), se o banho é excessivo, ou se o tratamento ou controle de outros parasitas são necessários ou desejáveis (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

2.4.1 Reguladores de crescimento de insetos

O primeiro relato sobre o uso potencial do RCI no controle de insetos foi em 1956, quando o hormônio juvenil (HJ) foi isolado a partir do extrato bruto abdominal da traça *Hyalophora cecropia* (L.). A aplicação tópica do hormônio impediu a metamorfose e subsequente multiplicação do inseto. Porém somente em 1965 foi estudada a possibilidade de aplicação deste hormônio controlador do desenvolvimento de insetos, quando pesquisadores da Harvard observaram que as culturas do inseto *Pyrrhocoris apterus* L., que vieram originalmente da Tchecoslováquia, tiveram baixas taxas de eclosão de ovos e larvas supranumerárias, em vez de adultos. Suas investigações posteriores mostraram que a anormalidade observada foi causada pelo material das toalhas de papel que eram utilizadas nos frascos onde os insetos eram criados (TUNAZ; UYGUN, 2004).

O componente ativo da toalha de papel foi posteriormente identificado como juvabiona, oriundo de uma árvore conífera, *Abies balsamea* (L.), a principal polpa de árvore usada nos Estados Unidos na indústria de papel (jornais, revistas, etc.). A juvabiona é um ester metílico ácido todomatuico, análogo de hormônio de insetos jovens. Quando a planta libera este sesquiterpeno pode perturbar o desenvolvimento e a reprodução dos insetos (MORY, 2010). A descoberta desta substância altamente específica levou a interesses industriais em hormônio juvenil como uma ferramenta no desenvolvimento de RCIs (TUNAZ; UYGUN, 2004).

Um RCI pode ser definido em termos do seu mecanismo de ação como uma substância que atua no interior de um inseto para acelerar ou inibir um processo de regulação fisiológica essencial para seu desenvolvimento normal ou de seus descendentes (SIDALL, 1976). Possuem como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e, devido a sua atuação em sistemas específicos dos artrópodes, são caracterizados como produtos seletivos, podendo ser uma promissora alternativa em seu controle (OTRANTO; WALL, 2008).

Na maioria dos casos, os RCIs requerem tempo para reduzir as populações de parasitas, que parasitidas convencionais às vezes, reduzem rapidamente. Este grupo químico não apresenta efeito “knockdown”, atuando de forma lenta e gradual interferindo no crescimento e desenvolvimento do inseto. O melhor é que eles sejam usados em combinação com adulticidas para alcançar o efeito “knockdown” imediato (GRAF et al., 2004).

Os compostos desenvolvidos que impedem a metamorfose asseguram que nenhum adulto será formado. Aqueles que especificamente interferem na reprodução podem causar certas anormalidades morfogenéticas que reduzem o potencial reprodutivo dos adultos (TUNAZ; UYGUN, 2004). As fêmeas adultas de insetos quando expostas aos RCI's produzem ovos nos quais o composto foi incorporado aos nutrientes. Os ovos se desenvolvem normalmente, mas as larvas recém-eclodidas são incapazes de evoluírem (GRAAF, 1993).

Os tratamentos para controle de *C. felis felis* no ambiente externo, combina tipicamente o uso de RCI's e inseticidas neurotóxicos. Após o tratamento, as populações de pulgas podem persistir por duas a quatro semanas antes de serem substancialmente reduzidas, e uma segunda aplicação de um inseticida neurotóxico é necessária. Essa persistência das pulgas após a aplicação de inseticidas é causada pela emergência contínua de pulgas adultas oriundas das pupas que não foram afetadas pelos tratamentos químicos (DRYDEN; GAAFAR, 1991). Os RCI's são a chave na erradicação das populações de pulgas do ambiente. Eles possuem eficácia sobre ovos e larvas de pulgas quando usados em baixas concentrações e persistem por longos períodos no ambiente (MILLER et al., 2000).

Com base em seu modo de ação podem ser divididos em inibidores da síntese de quitina (benzoilfeniluréias), inibidores da deposição de quitina (triazina/derivados de pirimidina) e análogos do hormônio juvenil (RUST; DRYDEN, 1997; GRAF, 1993). As drogas provenientes deste grupo são muito seguras para os mamíferos, pois os mesmos não apresentam hormônios juvenis e estruturas quitinosas ou ainda, receptores para estas moléculas (BOWMAN, 2003).

Como as benzoilfeniluréias inibem a síntese de quitina, quando os estágios imaturos dos insetos são expostos a estes compostos, não conseguem completar a ecdise e, como consequência morrem durante o processo de muda. De acordo com Graf (1993), as benzoilfeniluréias também apresentam um efeito transovariano, pois fêmeas de insetos adultos produzem ovos cujo processo de desenvolvimento é normal, mas a larva fica incapacitada de eclodir. Na larva de pulga a formação das estruturas de quitina é bloqueada inibindo o desenvolvimento normal das larvas e proporcionando controle ambiental da população de pulgas (MEOLA et al., 1999).

A triazina e derivados da pirimidina são também inibidores de quitina, porém alteram a deposição de quitina na cutícula ao invés de sua síntese (FRIEDEL et al., 1986). Já os análogos do hormônio juvenil (AHJ) mimetizam a atividade natural de hormônios juvenil e impedem a metamorfose do inseto para a fase adulta (DHADIALLA; CARLSON, 1998).

Atualmente, os RCI's estão sendo denominados de reguladores de crescimento de artrópodes (RCA), por agirem eficientemente no controle de artrópodes, como larva de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, impedindo sua muda para ninfa (GRAF, 1993) e na interrupção do processo de muda de larva para ninfa, de ninfa para adulto de *R. sanguineus* (VIEIRA, 2012).

2.4.1.1 Análogos do hormônio juvenil

A muda nos insetos é um processo complexo, onde há interação da ecdisona com o hormônio juvenil (HOFFMANN; LORENZ, 1998).

O hormônio peptídico hormônio protorácico ou PTTH (prothoracicotropic hormone) secretado a partir do cérebro controla a secreção do hormônio de muda (ecdisona) a partir da glândula protorácica. Quando liberado no sangue o PTTH vai ativar a glândula protorácica a sintetizar e secretar a ecdisona que é o fator indutor da muda. Este hormônio esteróide (ecdisona) atua aumentando a síntese de RNA, proteína, mitocôndria e retículo endoplasmático, além de atuar na epiderme para iniciar a produção e secreção da nova cutícula. Em conjunto com hormônio juvenil (HJ), iniciam o processo de muda. O hormônio

juvenil promove a retenção das características imaturas da larva, inibindo a metamorfose até que se complete o desenvolvimento da larva. Quando a concentração desse hormônio circulante diminui e desaparece da circulação, a metamorfose que leva ao adulto ocorre (TUNAZ; UYGUN, 2004).

Os análogos do hormônio juvenil (AHJ) mimetizam a atividade natural de hormônio juvenil e impedem a metamorfose do inseto para a fase adulta (DHADIALLA; CARLSON, 1998). São absorvidos pela cutícula do inseto (SCOTT et al., 2002) e se ligam aos sítios de receptores do hormônio juvenil, mas como eles estão estruturalmente diferentes não são inativados pelas esterases do inseto. Como consequência a metamorfose e o desenvolvimento até a fase adulta não acontece (DHADIALLA; CARLSON, 1998).

As pulgas são particularmente sensíveis aos RCI's, em especial aos análogos do hormônio juvenil, que afetam o desenvolvimento do ovo da pulga, quando são aplicados nas pulgas adultas antes da oviposição ou nos ovos logo após a oviposição (RASA et al., 2000).

Vários RCI's com atividade análoga à do hormônio juvenil, têm sido relatados por matar efetivamente, larvas e pupas da pulga do gato, *C. felis felis* (Bouché), quando testados em laboratório (EL-GAZZAR et al., 1986).

Muitos AHJs tornaram-se candidatos para o controle de pragas por causa da facilidade de sintetizar estes análogos e sua ação, que foi mais seletiva do que os de outros hormônios peptídicos e esteróides. As principais substâncias deste grupamento destinadas ao controle de insetos são: hidroprene, metoprene, piriproxifen e fenoxycarb (CORREIA, 2003).

O primeiro composto introduzido no mercado foi o metoprene (TUNAZ; UYGUN, 2004). O metoprene é um composto terpenóide com muito baixa toxicidade para mamíferos que mimetiza um hormônio juvenil de inseto e é comumente usado no controle de pulgas. O metoprene é sensível à luz e não persiste em ambientes externos, por conta disso tem sido amplamente utilizado e com sucesso em ambientes internos (GRAF, 1993).

Outro membro desse grupo utilizado para o controle da pulga é o piriproxifen, que atua nas pulgas, inibindo o desenvolvimento de ovos, larvas e pupas oriundas de animais medicados (JACOBS et al., 1997). Segundo o mesmo autor, as pulgas podem absorver o produto tanto por contato direto, bem como através do repasto, quando ingerem o sangue de animal tratado. O Piriproxifen é um inibidor de crescimento de insetos que está sendo utilizado para o combate às pulgas, e que tem diferentes apresentações comerciais (PALMA et al., 1993; JACOBS et al., 1997; MEOLA et al., 1996; BOWMAN, 2003).

Os AHJs são mais eficazes na fase inicial de metamorfose e embriogênese de insetos, como larvas e pupas, que tenham passado por ecdise recente, e ovos. Assim a embriogênese é interrompida quando os ovos jovens são tratados com AHJs (TUNAZ; UYGUN, 2004).

A eficácia da AHJs depende do momento de aplicação. Nenhum adulto normal desenvolve quando as pupas são tratadas com AHJs, porém a fase adulta geralmente é insensível à AHJs, sendo que algumas espécies de insetos se tornam estéreis quando AHJ é aplicado (TUNAZ; UYGUN, 2004).

2.4.1.1.1 Piriproxifen

O piriproxifen é um RCI do grupamento dos análogos do hormônio juvenil dos insetos com comprovada eficácia na interrupção do desenvolvimento da pulga *C. felis felis*, quando empregado no cão, no gato e no ambiente (RUST, 2005).

Durante o desenvolvimento das fases imaturas dos insetos, o piriproxifen se acumula onde age como hormônios juvenis na manutenção de genes que irão interferir na produção direta da cutícula larval. A presença do piriproxifen durante a metamorfose dos insetos evita com que eles se desenvolvam, ou seja, evita que as larvas eclodam dos ovos, que as larvas

venham a se tornar pupa, adultos venham emergir do pupário ou que adultos venham a reproduzir (MEOLA et al., 1993).

O piriproxifen atua inibindo o desenvolvimento de ovos, larvas e pupas oriundas de animais tratados. As pulgas podem absorver o piriproxifen de duas formas: por contato direto bem como ao ingerir sangue de um animal tratado durante o repasto (JACOBS et al., 1996). Na pulga adulta atua destruindo os ovócitos maturados nos ovariolos (MEOLA et al., 1996).

Apresenta uma das menores estruturas químicas dentre os análogos dos hormônios juvenis introduzido no mercado como tratamento tópico para o controle profilático de pulgas em cães e gatos (JACOBS et al., 1996).

2.4.2 Piretróides

Apresentam estrutura e ação semelhantes à das piretrinas, inseticidas naturais que incluem seis ésteres similares obtidos das flores de *Crysanthemum cinerariaefolium* e de espécies correlatas. Possuem propriedades lipofílicas que facilitam a penetração nos artrópodes através da cutícula rica em lipídeos (ANDRADE, 2002). Em relação às piretrinas, os piretróides são moléculas mais estáveis e com maior atividade inseticida (MARSELLA, 1999).

São considerados venenos axônicos, atuando principalmente nos canais de sódio das células nervosas do sistema nervoso central e periférico dos insetos (BLOOMQUIST, 2009). Os canais de sódio se abrem no momento de transmissão de um impulso nervoso e se fecham imediatamente após a despolarização da célula nervosa. Esses inseticidas se posicionam em algumas unidades dos sítios de ligação dos canais de sódio de tal modo que eles permanecem abertos por um tempo maior, prolongando-se assim o período de influxo de sódio após um potencial de ação. Com isso, potenciais de ação repetidos são desencadeados e os insetos morrem devido à hiperexcitabilidade provocada por estes inseticidas. Os piretróides atuam apenas nos canais de sódio abertos no momento da despolarização da membrana do axônio (OMOTO, 2000).

Os piretróides agem sobre o inseto com uma velocidade fenomenal causando paralisia imediata (WARE; WHITACRE, 2009). Os efeitos podem se desenvolver dentro de um a dois minutos após o tratamento, resultando em queda, que é uma perda da postura e locomoção normal (BLOOMQUIST, 2009).

Piretróides sintéticos são usados extensivamente contra uma ampla gama de ectoparasitas em animais de grande e pequeno porte, estando disponíveis em várias formulações diferentes, incluindo “spot-on”, spray, talcos, mergulhos, shampoos e aerossóis (ANADON et al., 2009).

Os piretróides tiveram uma evolução convenientemente dividida em quatro gerações. A primeira geração contém apenas um piretróide, aletrina (Pynamin®), que surgiu em 1949. Sua síntese era muito complexa, envolvendo 22 reações químicas para alcançar o produto final (FERREIRA, 2006).

A segunda geração inclui a tetrametrina, surgida em 1965, seguida pela resmetrina e pela bioresmetrina em 1967 (que era 50 vezes mais eficaz que o piretro), posteriormente a bioaletrina, em 1969, e finalmente fenotrina em 1973 (WARE; WHITACRE, 2009).

A terceira geração, que surgiu nos anos de 1972 e 1973, inclui os fenvaleratos e as permetrinas. Estes tornaram-se os primeiros piretróides utilizados na agricultura devido à sua excepcional atividade inseticida e sua fotoestabilidade. Eles não sofriam efeito da luz UV solar e seus resíduos permaneciam ativos nas folhas das culturas por um período de quatro a sete dias (FERREIRA, 2006).

Os piretróides usados atualmente pertencem à quarta geração, representada pela bifentrina, cipermetrina, ciflutrina, deltametrina, esfenvalerato, fenpropatrina, flucitrinato,

fluvalinato, praletrina, teflutrina, tralometrina, zeta-cipermetrina e flumetrina, e de todos os piretróides já sintetizados, são aqueles que apresentam maior eficiência inseticida por apresentar eficácia em doses muito baixas de ingrediente ativo. Os últimos integrantes dessa geração são: acrinatrina, imiprotrina, registrada em 1998 e gama-cialotrina que está em desenvolvimento. Todos os compostos pertencentes à quarta geração são fotoestáveis e por causa de sua baixa volatilidade promovem um efeito residual mais longo, em torno de 10 dias sob condições favoráveis (WARE; WHITACRE, 2009).

Os piretróides são estruturalmente divididos em dois grupos segundo a ausência (tipo I) ou presença (tipo II) de um grupo ciano (CN) na porção fenoxibenzil (SANTOS et al., 2007). O tipo I (Figura 1) 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 (Figura 2) atuam na despolarização da membrana e nos receptores do ácido gamaaminobutírico (GABA) e possuem coeficiente de temperatura positiva (WARE; WHITACRE, 2009). A sensibilidade à luz varia entre os vários tipos de piretróides (SANTOS et al., 2007).

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 (SANTOS et al., 2007).

Os piretróides tipo II agem preferencialmente no sistema nervoso central induzindo a Síndrome da Coreoatetose (movimentos involuntários dos membros anteriores e tronco com convulsões tônicas) e síndrome de salivação ou “Síndrome S” (SANTOS et al., 2007).

Algumas formulações contêm piretróides tipo I e II, com reações tóxicas que parecem ser uma combinação conhecida como síndrome TS (tremores e salivação) (ANADON et al., 2009).

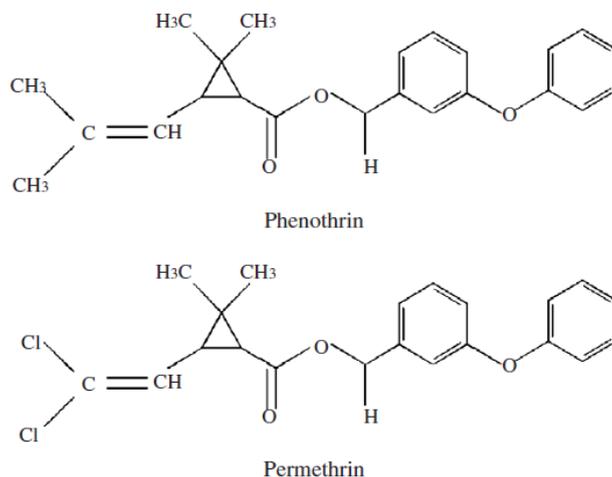


Figura 2. Estrutura básica da fenotrina e permetrina (piretróides do tipo I) (Fonte: ANADON et al., 2009).

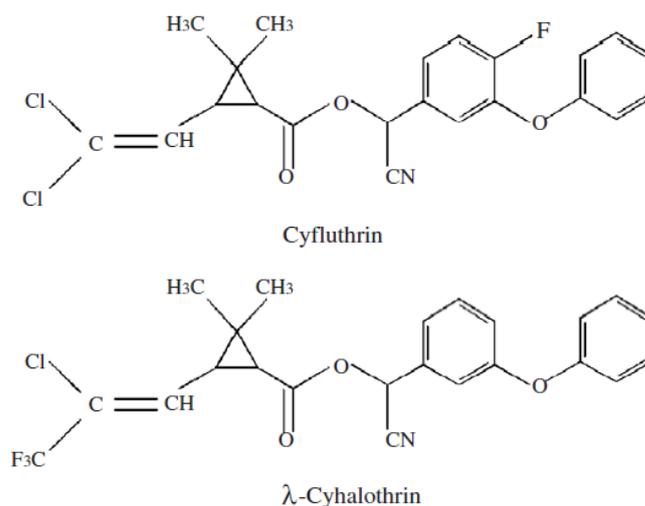


Figura 3. Estrutura básica da ciflutrina e λ -cicalotrina (piretróides do tipo II)
(Fonte: ANADON et al., 2009).

Os piretróides, embora grupamento químico com propriedades residuais adequadas e com baixa toxicidade quando comparados, por exemplo, aos organofosforados e carbamatos, são frequentemente indicados para uso ambiental externo e possuem efeito *knock-down* (morte por paralisia imediata) imediato sobre as pulgas adultas (CORREIA et al., 2010).

Em alguns casos, a utilização de piretróides tem aumentado os riscos aos pássaros e/ou mamíferos. Ainda, ensaios laboratoriais demonstraram que os piretróides são muito tóxicos para peixes, abelhas e artrópodes aquáticos, tais como lagostas e camarões. Dessa forma, podem agir em outras espécies expostas acidentalmente durante a aplicação do produto ou ingestão de alimentos contaminados (SANTOS et al., 2007).

Em suma, os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados por apresentarem baixa toxicidade aguda em mamíferos, pois são biotransformados rapidamente pelo fígado em compostos mais polares que facilitam sua excreção pela urina, e a não persistência no ambiente. No entanto, apesar das vantagens apresentadas pelos piretróides em relação a outros inseticidas, os mesmos cuidados devem ser tomados para sua utilização, porque podem exercer nos vertebrados efeitos neuro e cardiotoxicos (SANTOS et al., 2007).

2.4.2.1 Ciflutrina

A ciflutrina e outros piretróides sintéticos são moléculas complexas e possuem uma variedade de configurações tridimensionais chamadas isômeros. Todos os isômeros têm o mesmo modo de ação. Como todo piretróide sintético, a ciflutrina é uma neurotoxina. Causa hiperexcitação do sistema nervoso, levando a convulsões e posterior morte do inseto (MELO et al., 2010).

Em nível bioquímico, a ciflutrina tem um complexo modo de ação e afeta a função nervosa por diferentes caminhos. Ela induz alterações na membrana do nervo, diminuindo absorção de sódio e fluxo de potássio. Isto resulta em repetidas descargas elétricas dos neurônios, causando convulsões e também futuro bloqueio dos impulsos nervosos. A ciflutrina também afeta as concentrações de cálcio no tecido nervoso através da inibição de uma enzima envolvida no transporte de cálcio. Isto resulta em aumento na quantidade do neurotransmissor acetilcolina, liberado na junção entre os nervos (AL-RAJHI, 1990). Em adição, dois receptores encontrados no tecido nervoso, o receptor de ácido gama

aminobutírico (GABA) e os receptores benzodiazepínicos periféricos, são inibidos pela ciflutrina. A inibição de outros destes receptores pode causar convulsões (RAMADAN et al., 1988).

A ciflutrina apresenta maior sensibilidade à luz que outros piretróides. Em água, a ciflutrina apresenta vida média de aproximadamente um dia, enquanto que permetrina, deltametrina e cipermetrina apresentam entre 17 e 110 dias. Bifentrina e fenpropatrina mostraram a menor sensibilidade à luz, com vida média de 400 e 600 dias, respectivamente (SANTOS et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização da Experimentação

O presente estudo 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 (UFRRJ), localizada na BR 465 no Km 7 do município de Seropédica, Rio de Janeiro.

A metodologia empregada para a realização do ensaio baseou-se nos guias da Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP) para teste com fármacos utilizados no controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos de Marchiondo et al. (2007).

3.2 Obtenção de Ovos, Larvas e Adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Ovos, larvas e adultos de *C. felis felis* utilizados no estudo foram oriundos de uma colônia mantida desde 1998, nas dependências do LQEPV.

Para manutenção da colônia são utilizados gatos infestados duas vezes por semana com 50 casais de pulgas e realizadas coletas do material contido na bandeja das gaiolas, onde ficam os gatos, diariamente. Esse material é coletado com auxílio de pincel e pá, logo após é peneirado e acondicionado em potes plásticos adaptados para manutenção das formas imaturas de pulgas e mantidos em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio (tipo BOD) a $27\pm 1^\circ\text{C}$ e $75\pm 10\%$ até a emergência das pulgas adultas.

3.3 Delineamento Experimental

3.3.1 Avaliação *in vitro* da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina no controle de formas imaturas de *Ctenocephalides felis felis*

Um pedaço de feltro branco com um milímetro de espessura e dois metros quadrados (2m^2) foi tratado com uma formulação aerossol, em concentração de 0,04% do piretróide ciflutrina e de 0,05% do regulador de crescimento de insetos piriproxifen (Fleegard® BAYER), por um período de 10 segundos por metro quadrado e distância de 50cm de acordo com as recomendações do fabricante. Após o tratamento o mesmo permaneceu no ambiente para secar por um período de 30 minutos. Para cada dia de desafio foram cortadas seis tiras de feltro com uma área de 10cm^2 (1cm de largura x 10cm de comprimento), ou seja, seis repetições. Os dias de desafio foram do dia 0 (dia do tratamento) até o dia +182, com intervalo de sete dias entre cada um. Para cada dia de desafio houve um grupo controle também com seis repetições, ou seja, também foi mantido uma tira de feltro com dois metros quadrados nas mesmas condições. Ambos os fragmentos de feltro foram mantidos em estufa climatizada com temperatura média de $28\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$.

3.3.2 Etapa 1: Interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*

Para a realização do teste com ovos, o material das bandejas foi coletado da mesma forma descrita anteriormente e levado à um microscópio estereoscópico para a separação dos mesmos.

Em cada dia de desafio, as tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 ovos de *C. felis felis*. Junto aos ovos foi adicionado meio grama de uma dieta necessária para o

desenvolvimento larval a base de farelo de trigo, areia lavada e sangue de boi desidratado (VIEIRA et al., 2010). Os tubos foram vedados com tecido não tecido (TNT) e elástico e mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$. Para avaliação da eficácia do produto teste, o material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL 25 dias após a incubação e posteriormente foi realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário com auxílio de microscópio estereoscópico.

Para o cálculo da eficácia foi utilizada a fórmula desenvolvida por Abbott (1925):

Percentagem de eficácia= [(número médio de pulgas adultas do grupo controle - número médio de pulgas adultas do grupo tratado) / (número médio de pulgas adultas do grupo controle)] x 100.

3.3.3 Etapa 2: Interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*

Para a realização do teste com as larvas, os ovos foram coletados como descrito no item 3.2 e colocados em potes identificados e mantidos em câmara climatizada tipo BOD até que se tornassem larvas de sete dias de idade.

Para cada dia de desafio semanal, após o dia 0, foram utilizadas seis tiras de feltro impregnadas com o produto e seis tiras controle, sem tratamento. Os desafios foram de sete em sete dias até o dia +182. Cada tira foi colocada em tubo de ensaio contendo 10 larvas. Junto às larvas foi adicionado meio grama de uma dieta necessária para o desenvolvimento larval. Os tubos foram vedados com TNT e elástico e mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$. O material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL no 25° dia após a incubação e foi realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário com auxílio de microscópio estereoscópico.

Para o cálculo da eficácia foi utilizada a fórmula desenvolvida por Abbott (1925):

Percentagem de eficácia= [(número médio de pulgas adultas do grupo controle - número médio de pulgas adultas do grupo tratado) / (número médio de pulgas adultas do grupo controle)] x 100.

3.3.4 Avaliação *in vitro* da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis*

Para o teste com pulgas adultas foram utilizadas pulgas recém-emergidas dos pupários, também mantidas em câmara climatizada tipo BOD, conforme descrito no item 3.2.

Foram empregados dois grupos (um tratado e um controle) por dia de desafio, cada um contendo seis repetições com dez pulgas adultas, sendo cinco machos e cinco fêmeas em cada tubo.

Um pedaço de feltro branco com milímetro de espessura e dois metros quadrados (2m^2) foi tratado com uma formulação em forma de aerossol, numa concentração de 0,04% do piretróide sintético ciflutrina e de 0,05% do regulador de crescimento de insetos piriproxifen (Fleegard® BAYER), por um período de 20 segundos e distância de 50cm de acordo com as recomendações do fabricante. Após o tratamento o mesmo permaneceu no ambiente. Para cada dia de desafio foram cortadas seis tiras de feltro com uma área de 10cm^2 (1cm de largura x 10cm de comprimento), ou seja, seis repetições. Os dias de desafio foram do dia 0 (30 minutos após a impregnação do feltro), +1; +2; +5; +10; +15; +20 e +30. Para cada dia de desafio houve um grupo controle, ou seja, também foi mantido um feltro sem tratamento nas mesmas condições ambientais.

Em cada dia de desafio, as tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 pulgas adultas não alimentadas de *C. felis felis*. Os tubos foram vedados com TNT e elástico,

e foram devidamente identificados com o dia de desafio e grupo. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$. O critério de avaliação utilizado foi o de motilidade, ou seja, qualquer inseto que apresentasse um mínimo de motilidade seria considerado vivo. Foi registrado o número de insetos vivos e mortos nos tempos de 10 minutos, 30 minutos, uma hora, duas horas, três horas, quatro horas e 24 horas com auxílio de um microscópio estereoscópico.

A eficácia foi calculada com base na seguinte fórmula, desenvolvida por Abbott (1925):

Percentagem de eficácia = $[(\text{número médio de pulgas adultas vivas do grupo controle} - \text{número médio de pulgas adultas vivas do grupo tratado}) / (\text{número médio de pulgas adultas vivas do grupo controle})] \times 100$.

3.4 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico computacional livre BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007). Para verificar a normalidade dos dados amostrais foi utilizado um teste de Shapiro-Wilk. Após análise dos dados, verificou-se uma distribuição normal e então foi escolhido o teste T paramétrico, para identificar diferenças específicas entre os tratamentos, com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Eficácia *In vitro* da Formulação Aerossol Contendo Piriproxifen 0,05% e Ciflutrina 0,04% no Controle de Formas Evolutivas de *Ctenocephalides felis felis*

4.1.1 Eficácia *in vitro* da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*

O número médio de adultos recuperados do grupo controle foi de $6,65 \pm 0,85$ e o número médio recuperado do grupo tratado foi de $0,08 \pm 0,14$ nos 182 dias experimentais.

Os números médios de pulgas emergidas oriundas dos ovos do grupo controle que foram desafiadas nos tempos 0, +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente de 9,50; 8,33; 4,67; 5,17; 6,50; 6,67; 7,17; 7,50; 7,83; 7,33; 6,00; 5,83; 6,00; 5,17; 5,50; 7,00; 7,17; 7,67; 7,00; 6,00; 6,33; 6,17; 5,83; 5,83; 6,83; 7,00; 7,00; 7,33 (Tabela 1) (Figura 3).

No grupo tratado, os números médios de pulgas emergidas oriundas dos ovos em desafios nos tempos 0 (30 minutos após o tratamento), +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente 0; 0; 0; 0; 0; 0,3; 0,3; 0; 0; 0; 0; 0; 0; 0; 0,2; 0; 0; 0; 0; 0,2; 0,7; 0,3; 0,2; 0; 0; 0; 0; 0 (Tabela 1) (Figura3).

Na tabela 1 observa-se o percentual de eficácia, nos diferentes dias de desafio. A eficácia média da interrupção do desenvolvimento ovo-adulto ao longo de 182 dias de desafio foi de 98,78% com variações mínima de 89,47% e máxima de 100%.

As eficácias do tratamento para os tempos 0 (30 minutos após o tratamento), +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente de 100; 100; 100; 100; 100; 95; 95,35; 100; 100; 100; 100; 100; 100; 100; 96,97; 100; 100; 100; 100; 97,22; 89,47; 94,59; 97,14; 100; 100; 100; 100; 100 (Tabela 1) (Figura3)

Nas comparações estatísticas entre os números médios de adultos dos grupos tratado e controle para todos os dias de desafio foi observado diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Correia et al. (2003) avaliaram a eficácia de uma formulação ambiental aerossol contendo o piretróide d-fenotrina associada ao piriproxifen no controle de formas imaturas e adultos de *C. felis felis* e constataram que os ovos presentes no ambiente tratado não prosseguiram para as fases subseqüentes do ciclo da pulga, ao longo de 120 dias de experimentação. No presente estudo foi utilizado o piretróide ciflutrina, mas que em associação com piriproxifen também apresentou resultado satisfatório até o dia +182, último dia de desafio.

Correia et al. (2010) obtiveram eficácia média de 99,90% no controle de formas imaturas de *C. felis felis*, com variação mínima de 98,83% e máxima de 100% ao longo de 126 dias de experimentação utilizando mesma formulação aerossol e concentração, através da aplicação em casa de alvenaria. A eficácia média foi superior à obtida no presente estudo, porém, com menor número de dias experimentais, do dia 0 até o dia 126, enquanto que neste foi do dia 0 ao dia 182.

A mesma formulação foi utilizada por Melo et al. (2010) em teste de interrupção do ciclo ovo-adulto, onde proporcionou variações mínima de 45,45% no dia 60 e máxima de 100% no dia 0, resultado este inferior ao obtido no presente estudo, que apresentou um percentual de 100% até o dia +182 com pequenas variações nos dias avaliados. Melo et al. (2010) realizaram a aplicação do produto por 10 segundos sobre um metro quadrado de

carpete a uma distância de 50 cm; e um menor número de repetições (três), o que pode ter influenciado o resultado obtido.

Os resultados encontrados pelos autores supracitados juntamente com os obtidos nesse estudo evidenciam que a presença do piriproxifen durante a metamorfose dos insetos evita que eles se desenvolvam, ou seja, evita que as larvas eclodam dos ovos, que as larvas venham a se tornar pupa, que adultos venham a emergir de pupas ou que adultos venham a reproduzir.

4.1.2 Eficácia *in vitro* da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*

O número médio de adultos emergidos provenientes das larvas do grupo controle que foram desafiadas nos tempos 0, +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente de 5,33; 5,50; 8,00; 7,33; 7,50. 7,83; 6,00; 8,83; 9,17; 8,17; 8,17; 9,33; 9,50; 8,83; 8,00; 9,17; 8,50; 8,33; 8,83; 9,33; 8,67; 8,33; 8,50; 8,83; 8,83; 8,67; 9,17; 8,83 (Tabela 2) (Figura 4).

Os números médios de pulgas emergidas originárias das larvas do grupo tratado que foram desafiadas nos tempos 0 (30 minutos após o tratamento), +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente 0; 0; 0,33; 0; 0,17; 0; 0; 0,17; 1,17; 0,50; 0; 1,33; 1,17; 0,83; 0; 0,17; 0; 0,33; 1,33; 1,67; 0,17; 0; 0; 0,33; 0; 0; 0; 0 (Tabela 2)(Figura 4).

O número médio de adultos recuperados do grupo controle ao longo dos 182 dias experimentais foi de $8,27 \pm 0,74$ e o número médio recuperado do grupo tratado foi de $0,35 \pm 0,46$.

Na Tabela 2 observa-se o percentual de eficácia, nos diferentes dias de desafio. A eficácia média da interrupção do desenvolvimento larva-adulto ao longo de 182 dias de desafio foi de 96,16% com variações mínimas de 82,14% e máximas de 100%

As eficácias do tratamento para os tempos 0 (30 minutos após o tratamento), +1, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56, +63, +70, +77, +84, +91, +98, +105, +112, +119, +126, +133, +140, +147, +154, +161, +168, +175 e +182 foram respectivamente de 100; 100; 95,83; 100; 97,78; 100; 100; 98,11; 87,27; 93,88; 100; 85,71; 87,72; 90,57; 100; 98,18; 100; 96; 84,91; 82,14; 98,08; 100; 100; 96,23; 100; 100; 100; 100 (Tabela 2) (Figura 4). Nas comparações estatísticas entre os números médios de adultos dos grupos tratado e controle para todos os dias de desafio foi observado diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Com o intuito de se avaliar a ação do piriproxifen sobre larvas de *C. felis felis*, Palma e Meola (1990), coletaram amostras de solo de seleiros, infestaram com larvas e utilizaram uma formulação de concentrado emulsionável de piriproxifen para tratar essas amostras, utilizando a concentração de 32 mg/m², e verificaram a inibição do desenvolvimento de pulgas adultas maior que 80% por um período de três semanas. O período residual de eficácia foi menor que o obtido no presente estudo, porém isso pode ser explicado pelo tipo de formulação empregada e a diferença de material impregnado.

Meola et al. (2000) verificaram que larvas que se alimentaram das fezes de pulgas adultas alimentadas com sangue tratado com piriproxifen, tiveram diminuição no percentual de ecdise, tendo para concentração de um e 10%, respectivamente 17,4% e 3,4%, enquanto o grupo sem tratamento obteve 96% de ecdise, demonstrando a importância do piriproxifen no controle das formas imaturas de pulgas.

Tabela 1. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio									
	dia 0	1	7	14	21	28	35	42	49	56
Controle										
1	9	8	1	7	6	7	6	7	8	8
2	10	7	4	7	7	8	8	8	7	7
3	9	6	6	4	5	6	7	8	9	6
4	10	10	7	5	7	7	6	7	8	7
5	9	9	5	4	8	5	7	7	8	8
6	10	10	5	4	6	7	9	8	7	8
Média	9,50	8,33	4,67	5,17	6,50	6,67	7,17	7,50	7,83	7,33
Desvio Padrão	0,50	1,49	1,89	1,34	0,96	0,94	1,07	0,50	0,69	0,75
Tratado										
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0
4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média	0	0	0	0	0	0,3	0,3	0	0	0
Desvio Padrão	0	0	0	0	0	0,47	0,69	0	0	0
Eficácia	100	100	100	100	100	95	95,35	100	100	100
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

Tabela 1. Continuação

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio								
	63	70	77	84	91	98	105	112	119
Controle									
1	7	6	7	6	6	6	7	7	6
2	5	6	5	5	7	8	8	7	7
3	6	5	6	5	5	7	8	8	6
4	5	5	5	7	4	6	7	8	7
5	6	6	7	4	6	8	7	9	8
6	7	7	6	4	5	7	6	7	8
Média	6,00	5,83	6,00	5,17	5,50	7,00	7,17	7,67	7,00
Desvio Padrão	0,82	0,69	0,82	1,07	0,96	0,82	0,69	0,75	0,82
Tratado									
1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0
Desvio Padrão	0	0	0	0	0,37	0	0	0	0
Eficácia	100	100	100	100	96,97	100	100	100	100
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

Tabela 1. Continuação

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio									
	126	133	140	147	154	161	168	175	182	
Controle										
1	7	6	7	5	6	7	6	7	8	
2	5	6	6	6	5	6	7	7	7	
3	6	7	5	7	6	8	7	6	6	
4	6	5	6	6	5	7	8	7	8	
5	5	6	7	5	6	6	7	7	8	
6	7	8	6	6	7	7	7	8	7	
Média	6,00	6,33	6,17	5,83	5,83	6,83	7,00	7,00	7,33	
Desvio Padrão	0,82	0,94	0,69	0,69	0,69	0,69	0,58	0,58	0,75	
Tratado										
1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	0	2	0	1	0	0	0	0	0	
5	0	1	2	0	0	0	0	0	0	
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Média	0,2	0,7	0,3	0,2	0	0	0	0	0	
Desvio Padrão	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
Eficácia	97,22	89,47	94,59	97,14	100	100	100	100	100	
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

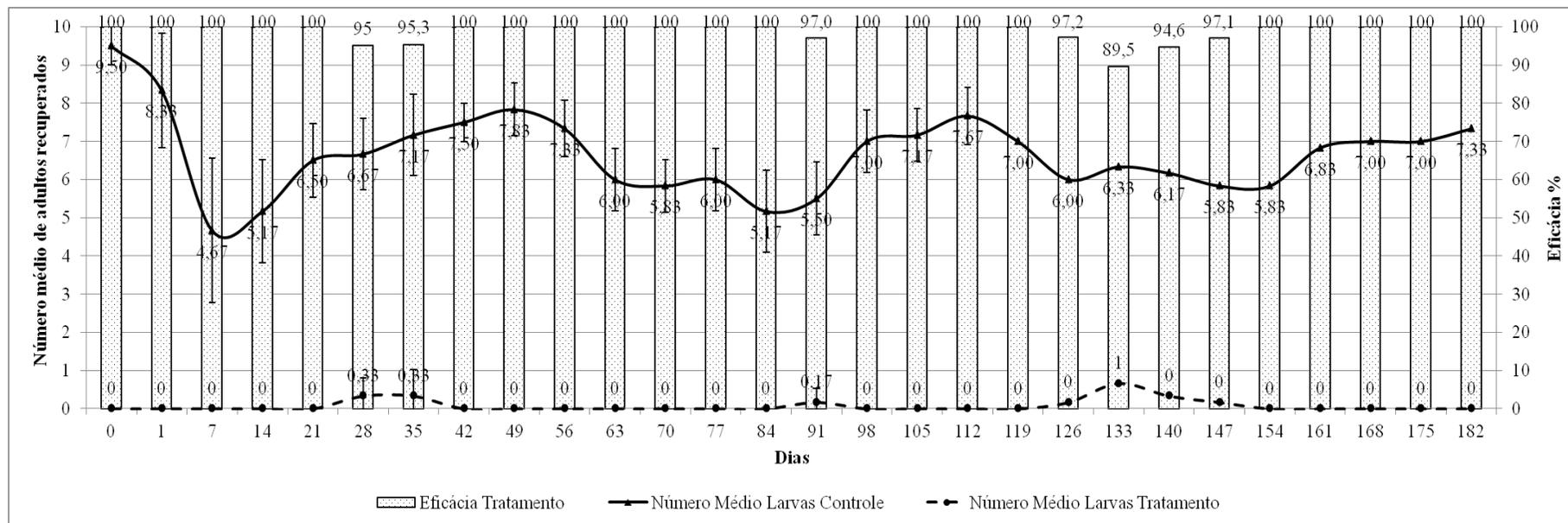


Figura 4. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.

Hinkle et al. (1995) avaliaram o efeito residual do piriproxifen na apresentação de aerossol, em carpetes de náilon sobre larvas de *C. felis*, observando uma mortalidade significativa das larvas, por um período de sete meses. E de uma forma geral as concentrações de piriproxifen, 0,15% e 0,075%, reduziram a emergência de adultos de pulgas em torno de 80%. Kawada e Hirano (1996), também utilizando quadrados de carpete impregnados com dimensões de 15x15cm, avaliaram o efeito de uma solução emulsionável de piriproxifen a 5% sobre larvas de segundo ínstar de *C. felis*, que na concentração de 0,2 e 1 mg/m² proporcionou o controle das larvas por mais de 12 meses, e por mais de três meses na concentração de 0,04 mg/m². Ambos trabalhos apresentaram resultado satisfatório corroborando com o presente estudo.

4.1.3 Eficácia *in vitro* da formulação aerossol contendo piriproxifen e ciflutrina sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis*

O número de adultos vivos foi avaliado no tempo de 10 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas e 24 horas para cada tempo de desafio: dias 0 (30 minutos após a impregnação dos feltros), +1, +2, +5, +10, +15, +20 e +30. Porém para todos os desafios foi possível observar que o produto em teste apresentou seus maiores percentuais de eficácia após a exposição das pulgas por um período de 24 horas aos feltros impregnados. Com base nestas observações estabeleceu-se como o período para observação da avaliação da ação pulguicida 24h para fins de discussão da persistência da ação pulguicida do produto em teste.

Os resultados dos números de adultos vivos avaliados no tempo de 24 horas após exposição das pulgas às tiras de feltro e eficácia pulguicida, em diferentes dias experimentais, estão dispostos na Tabela 3.

O número médio de pulgas vivas observadas para as repetições do grupo controle foram de 9,3; 8,7; 9,0; 9,5; 6,2; 9,8; 9,0; 9,5, respectivamente para os tempos de desafio de 0 (30 minutos após impregnação do feltro), +1, +2, +5, +10, +15, +20 e +30.

O número médio de pulgas vivas observadas para as repetições do grupo tratado foram de 6,0; 1,0; 2,2; 3,2; 2,0; 5,8; 7,0; 8,3, respectivamente para os tempos de desafio de 0 (30 minutos após impregnação do feltro), +1, +2, +5, +10, +15, +20 e +30.

Com base no número médio de pulgas vivas no período de observação de 24 h dos grupos controle e tratado, pode-se constatar os seguintes níveis de eficácia pulguicida adulta para os tempos de desafio de 0 (30 minutos após impregnação do feltro), +1, +2, +5, +10, +15, +20 e +30, respectivamente de 35,7; 88,5; 75,9; 66,7; 67,6; 40,7; 22,2; 12,3.

A análise estatística comparativa entre as médias de pulgas vivas entre os dois grupos, tratado e controle, demonstrou que ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os desafios nos dias +1, +2 e +5.

Palma et al. (1993) trataram frascos de vidro com piriproxifen, onde posteriormente colocaram pulgas adultas, para avaliação da ação do resíduo nestes frascos sobre o controle do desenvolvimento das pulgas. Frente a isto foi observado que na concentração de 0,25µg/cm² de piriproxifen ocorreu a morte das larvas logo após a emergência dos ovos. No presente trabalho, apesar do baixo percentual médio adulticida não foi comprovada a ação do piriproxifen na eclosão das larvas, ou seja, os adultos do presente estudo podem ter sobrevivido sem capacidade de eclosão das larvas.

Tabela 2. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio									
	dia 0	1	7	14	21	28	35	42	49	56
Controle										
1	5	6	8	7	8	8	6	9	10	9
2	6	5	9	8	9	7	6	8	9	8
3	4	4	8	9	7	8	7	10	8	9
4	5	7	8	7	6	7	4	9	9	8
5	6	6	7	5	7	8	5	8	10	7
6	6	5	8	8	8	9	8	9	9	8
Média	5,33	5,50	8,00	7,33	7,50	7,83	6,00	8,83	9,17	8,17
Desvio Padrão	0,75	0,96	0,58	1,25	0,96	0,69	1,29	0,69	0,69	0,69
Tratado										
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
4	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0
5	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Média	0	0	0,33	0	0,17	0	0	0,17	1,17	0,50
Desvio Padrão	0	0	0,47	0	0,37	0	0	0,37	1,46	0,76
Eficácia	100	100	95,83	100	97,78	100	100	98,11	87,27	93,88
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

Tabela 2. Continuação

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio								
	63	70	77	84	91	98	105	112	119
Controle									
1	9	10	10	9	9	8	9	9	9
2	8	10	9	10	8	10	9	8	8
3	7	10	10	9	8	9	8	9	9
4	8	9	9	8	7	10	9	8	10
5	9	8	9	8	8	9	8	7	9
6	8	9	10	9	8	9	8	9	8
Média	8,17	9,33	9,50	8,83	8,00	9,17	8,50	8,33	8,83
Desvio Padrão	0,69	0,75	0,50	0,69	0,58	0,69	0,50	0,75	0,69
Tratado									
1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
2	0	3	0	2	0	1	0	0	5
3	0	1	3	0	0	0	0	0	2
4	0	2	1	2	0	0	0	0	0
5	0	0	2	0	0	0	0	0	1
6	0	2	1	1	0	0	0	0	0
Média	0	1,33	1,17	0,83	0	0,17	0	0,33	1,33
Desvio Padrão	0	1,11	1,07	0,90	0	0,37	0	0,75	1,80
Eficácia	100	85,71	87,72	90,57	100	98,18	100	96	84,91
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

Tabela 2. Continuação

Grupos/Repetições	Número de pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> recuperadas em cada repetição 25 dias após o desafio									
	126	133	140	147	154	161	168	175	182	
Controle										
1	10	9	8	7	8	9	10	9	8	
2	9	8	8	8	9	9	9	8	9	
3	8	8	9	8	9	8	9	10	9	
4	10	9	8	9	8	8	8	10	8	
5	9	9	9	10	9	10	7	9	9	
6	10	9	8	9	10	9	9	9	10	
Média	9,33	8,67	8,33	8,50	8,83	8,83	8,67	9,17	8,83	
Desvio Padrão	0,75	0,47	0,47	0,96	0,69	0,69	0,94	0,69	0,69	
Tratado										
1	6	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	3	0	0	0	2	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
Média	1,67	0,17	0	0	0,33	0	0	0	0	
Desvio Padrão	2,21	0,37	0	0	0,75	0	0	0	0	
Eficácia	82,14	98,08	100	100	96,23	100	100	100	100	
Valor de p	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	

Valor de $p \leq 0,05$ indica que as médias na mesma coluna diferem significativamente entre si.

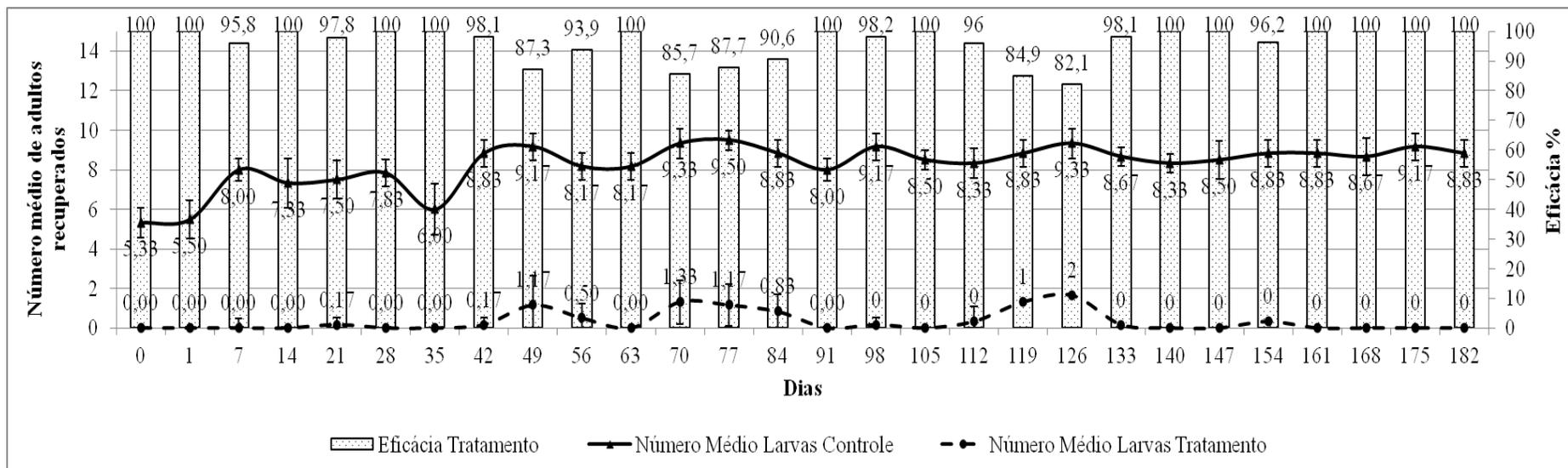


Figura 5. Número médio, desvio padrão de pulgas adultas recuperadas nos grupos controle e tratado com formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% e eficácia *in vitro* na interrupção do desenvolvimento de larva a adulto de *Ctenocephalides felis felis*.

Meola et al. (1996) verificaram a ação do piriproxifen sobre pulgas expostas continuamente a papel filtro impregnados, nas concentrações de 0,1 a 100 ppm, e foi observado que a mortalidade das pulgas teve aumento progressivo, de acordo com aumento da concentração, entre o quarto e oitavo dias. No presente estudo o produto teste teve o ápice de sua ação após 24h de exposição das pulgas adultas a ele e o período residual de ação estendeu-se de forma significativa por até dois dias após a impregnação dos feltros.

Meola et al. (1996) também avaliaram a ação do resíduo da droga em pelos de cães tratados, e observaram morte de pulgas adultas nas concentrações de 12,5; 125 e 1250 ppm. Portanto, os resíduos de piriproxifen em pelo podem matar pulgas adultas ao longo do tempo, auxiliando no controle de reinfestações nos animais de estimação.

Meola et al. (2000) avaliaram o efeito do piriproxifen sobre *C. felis felis* alimentadas artificialmente com sangue bovino tratado, nas concentrações de 10, 50 e 100 ppm. Não foi observada ação sobre a oviposição. No entanto, 90% dos ovos tratados tinham alterações morfológicas.

Em trabalho realizado por Melo et al. (2010), o percentual de eficácia no controle *in vitro* de adultos de *C. f. felis* apresentou-se baixo, utilizando o mesmo produto do presente trabalho. Esses autores realizaram a primeira avaliação, do dia 0, no tempo de 48 horas, obtendo a eficácia de 27,14%, que diminuiu para 11,43 no dia +5, e do dia +10 até o dia +80 foi zero. As repetições do grupo controle, não tratadas, apresentaram níveis de mortalidade que variaram de 0 a 3,3%. Ambos estudos apresentaram eficácia aduicida baixa, sendo os resultados compatíveis embora no presente estudo tenha variado de 12,3% a 88,5%.

Tabela 3. Número de pulgas vivas e eficácia adulticida de uma formulação aerossol contendo piriproxifen 0,05% e ciflutrina 0,04% no controle *in vitro* de *Ctenocephalides felis felis*.

Grupos	Número de pulgas vivas após 24 horas de exposição às tiras / Dia de desafio							
	0	+1	+2	+5	+10	+15	+20	+30
Controle								
1	7	8	10	9	8	9	9	10
2	10	8	8	10	7	10	8	9
3	10	9	9	9	4	10	10	9
4	9	9	9	10	4	10	9	9
5	10	8	8	10	6	10	10	10
6	10	10	10	9	8	10	8	10
Média	9.3^a	8.7^a	9.0^a	9.5^a	6.2^a	9.8^a	9.0^a	9.5^a
Desvio Padrão	1,1	0,7	0,8	0,5	1,7	0,4	0,8	0,5
Tratado								
1	8	2	4	3	2	1	6	7
2	9	1	4	3	3	7	7	9
3	7	1	2	4	0	9	9	10
4	4	0	1	3	2	5	5	9
5	4	1	1	3	4	10	7	7
6	4	1	1	3	1	3	8	8
Média	6.0^a	1.0^b	2.2^b	3.2^b	2.0^b	5.8^a	7.0^a	8.3^a
Desvio Padrão	2,1	0,6	1,3	0,4	1,3	3,2	1,3	1,1
Eficácia %	35,7	88,5	75,9	66,7	67,6	40,7	22,2	12,3

^{ab}Médias na mesma coluna com letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si (p>0,05).

5 CONCLUSÃO

Quando testada *in vitro*, a formulação aerossol contendo ciflutrina 0,04% e piriproxifen 0,05% foi eficaz no controle do desenvolvimento de formas imaturas de *Ctenocephalides felis felis* por um período de 26 semanas.

A mesma formulação foi eficaz, *in vitro* para adultos 24h após a exposição ao produto, com período residual de ação estendendo-se de forma significativa por até dois dias após a impregnação do feltro.

O produto demonstrou ser eficaz, *in vitro*, no controle das formas evolutivas de *C. felis felis*, representando uma ferramenta complementar para o controle de pulgas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- AL-RAJHI D.H. Properties of Ca²⁺Mg²⁺-ATPase from rat brain and its inhibition by pyrethroids. **Pesticide Biochemistry Physiology**, 37:116-120. 1990.
- ANADON, A.; MARTINEZ-LARRANAGA, M. R.; MARTINEZ, M. A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 182, n. 1, p. 7-20, 2009.
- ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2^a edição. São Paulo: Roca. 2002. 720p.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. **BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Ong. Mamiraua. Belém, PA. 2007
- BICHO, C. L.; RIBEIRO, P. B. Chave Pictórica para as Principais Espécies de Siphonaptera de Importância Médica e Veterinária, no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.7, n.1, p.47-51, 1998.
- BITAM, I.; DITTMAR, K.; PAROLA, P.; WHITING, M.F.; RAOULT, D. Fleas and flea-borne diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p.667–676, 2010.
- BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, Treatment, and Control of Flea and Tick Infestations **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, p. 1173–1200, 2009.
- BLOOMQUIST, J. R. **Insecticides: Chemistries and Characteristics**. 2009. Disponível em: <HYPERLINK "http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm" <http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm>>. Acesso em: 13/03/2010
- BORGES, L. R.; VILA NOVA, M. X. Associação de inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos no Manejo Integrado de Pragas – uma revisão. **Ambiência**, v.7, n.1 p.179 – 190, 2011.
- BOWMAN, D. D. **Georgis' Parasitology for veterinarians**. 8^a Edição. Elsevier Science (USA), 2003, 422p.
- BRANDÃO, L. P. Pulicidas empregados na medicina de pequenos animais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 107, 2004.
- BREITSCHWERDT, E. B. Feline bartonellosis and cat scratch disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123(1–2), p.167–71, 2008.

CARLOTTI, D.N.; JACOBS, D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v.11, p.83-98, 2000.

CORREIA, T. R. **Eficácia do Inibidor de Crescimento de Insetos Pyriproxyfen Associado ao Piretróide D-phenotrina no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (Siphonaptera:Pulicidae) em Cães, Gatos e no Ambiente.** 2003. 52 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2003.

CORREIA, T. R.; MELO, R. M. P. S.; FERNANDES, J. I.; FREITAS, I. F.; VIEIRA, V. P. C.; RIBEIRO, F. A. R.; VEROCAI, G. G.; SCOTT, F. B. eficácia de uma formulação para aplicação ambiental contendo o piretróide ciflutrina e o regulador de crescimento de insetos piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32 (Supl. 1), p. 17-20, 2010.

COSTA-LIMA, A. M. **Insetos do Brasil: Panorpotos - Suctórios (Pulgas) Neurópteros – Tricópteros.** 4o tomo. Escola Nacional de Agronomia, Série Didática n.5. Cap. 25. p. 17-71. 1943.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 545 - 69, 1998.

DRYDEN, M. W; NEAL, J. J.; BENNETT, G. W. Concepts of Flea Control. **Companion Animal Practice-Parasitology/Dermatology**. v. 19, n. 4-5, p. 11-20, 1989.

DRYDEN, M. W.; GAAFAR, S. M. Blood consumption by the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.28, n. 3, p. 394-400, 1991.

DRYDEN M.W. Biology of fleas of dogs and cats. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 15, n. 1, p. 569-579, 1993.

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

DRYDEN, M. W.; BROCE, A. B. Integrated flea control for the 21st Century. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 24, n. 1, p. 36-39, 2002

DRYDEN, M.; PAYNE, P. SMITH, V. Efficacy of Selamectin and Fipronil-(S)-Methoprene Spot-On Formulations Applied to Cats against Adult Cat Fleas (*Ctenocephalides felis*), Flea Eggs, and Adult Flea Emergence. **Veterinary Therapeutics**, v. 8, n. 4, p. 255-262, 2007.

EISEN, R. J; BORCHERT, J. N.; HOLMES, J. L. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and their potential role as vectors in a plague-endemic region of Uganda. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v.78, n.6, p. 949–56, 2008.

EL-GAZZAR, L. M.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S.; MILIO, J. Insect growth regulators: mode of action on the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera:Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 23, n. 6, p. 651-654, 1986.

FERREIRA, E. P. B. **Efeito de Cultivares de Batata e de Agrotóxicos Sobre os Perfis de rDNA de Comunidades Bacterianas do Solo**. 2006. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2006.

FRIEDEL, T. Cyromazine Inhibits Larval Development of the Dog Flea, *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 3, p. 697-699, 1986.

GEARY, T. G.; THOMPSON, D. P. Development of antiparasitic drugs in the 21st century. **Veterinary Parasitology**, v. 115, n.1, p. 167-184, 2003.

GRAF, J. F. The role of Insect Growth Regulators in Arthropod Control. **Parasitology Today**, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.

GRAF, J. F. R.; GOGOLEWSKI, N.; LEACH-BING, G. A.; SABATINI, M. B.; MOLENTO, E. L.; BORDIN, ARANTES, G. J. Tick control an industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 427-442, 2004.

HINKLE, N. C., KOEHLER P. G., PATTERSON R. S. Residual effectiveness of insect growth regulators applied to carpet for control of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) larvae. **Journal of Economy Entomology**, v.88, n.1, p.903-906, 1995.

HOFFMANN, K. H.; LORENZ, M. W. Recent advances in hormones in pest control. **Phytoparasitica**, v. 26, n. 4, p. 1-8, 1998.

JACOBS, D.E.; HUTCHINSON, M.J.; KRIEGER, K.J.; BARDT, D. A novel approach to flea control on cats, using pyriproxyfen. **The Veterinary Record**, v.139, n. 23, p.559-561, 1996.

JACOBS, D. E., HUTCHINSON, M. J., FOX, M. T.; KRIEGER, K. J. Comparison of flea control strategies using imidacloprid or lufenuron on cats in acontrolled simulated home environment. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 1, p. 260-262, 1997.

JUNIOR, M. E. **Controle biológico de insetos pragas**. I Seminário Mosaico Ambiental: Olhares sobre o ambiente. 2011. Disponível em: <http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/sMosaicoAmbiental/article/view/2180/1243> Acesso em: janeiro 2012.

KAMRANI, A.; PARREIRA, V. R.; GREENWOOD, J. The prevalence of Bartonella, hemoplasma, and Rickettsia felis infections in domestic cats and in cat fleas in Ontario. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 5, p. 411–9, 2008.

KERN JR., W. H.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. Diel patterns of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) egg and fecal deposition. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 203-206, 1992.

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

LINARDI, P. M.; DE MARIA, M.; BOTELHO, J. R. Effects of larval nutrition on the postembryonic development of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 34, n.4, p. 494-497, 1997.

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

MARCHIONDO, A. A.; HOLDSWORTH, P. A.; GREEN, P.; BLAGBURN, B. L.; JACOBS, D. E. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 1, p. 332-344, 2007.

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

MEHLHORN, H.; MENCKE, N.; HANSEN, O. Effects of imidacloprid on adult and larval stages of the flea *Ctenocephalides felis* after in vivo and in vitro application: a light- and electron-microscopy study. **Parasitology Research**, v. 85, n. 8-9, p. 625-637, 1999.

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

MELO, R. M. P.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; SCOTT, F. B. Avaliação *in vitro* de uma formulação contendo o piretróide ciflutrina e o IGR piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32(Supl. 1), p. 35-39, 2010.

MEOLA, R. W.; READY, S.; MEOLA, S. M. **Physiological effects of the juvenoid pyriproxyfen on adults, eggs, and larvae of the cat flea**, p. 221-228. In K. B. Wildey and W. H. Robinson [eds.], Proceedings of the 1st International Conference on Insect Pests in the Urban Environment. BPCC Wheatons, Exeter, UK, 1993.

MEOLA, R.; PULLEN, S.; MEOLA, S. Toxicity and histopathology of the growth regulator pyriproxyfen to adults and eggs of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 33 n. 4, p. 670 - 679, 1996.

MEOLA, R. W., DEAN, S. R., MEOLA, S. M., SITTERZBHATKAR, H.; SCHENKER, R. Effect of lufenuron on chorionic and cuticular structure of unhatched larval *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 92-100, 1999.

MEOLA, R.; MEIER, K.; DEAN, S.; BHASKARAN, G. Effect of Pyriproxyfen in the Blood Diet of Cat Fleas on Adult Survival, Egg Viability, and Larval Development. **Journal of Medical Entomology**, v.37, n.4, p.503-506, 2000.

MILLER, R. J.; DRYDEN, M. W.; BROCE, A. B.; SUITER, D. R. Pupation Site Selection of Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Various Carpet Types and Its Influence on Insecticide Efficacy. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 4, p. 1391-1397, 2000.

MORY, K. **Chemical Synthesis of Hormones, Pheromones and Other Bioregulators**. John Wiley & Sons Ltd, 2010. p.82. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=fSwwYyZMDBoC&oi=fnd&pg=PR11&dq=Chemical+Synthesis+of+Hormones,+Pheromones+and+Other+Bioregulators.&ots=ulINYdFec_&sig=yCGUpGej9ccP9dYUHO KI6BEkN_w> Acesso em dezembro de 2012.

OMOTO, C. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. *In*: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONE, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM; CCR/DFS, Palotti, 2000. p. 31-50.

OTRANTO, D.; WALL, R. New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 22, n. 1, p. 291-302, 2008.

PALMA, K. G., MEOLA, R. W. Field evaluation of Nylar for control of cat fleas (*Siphonaptera*: Pulicidae) in home yards. **Journal of Medical Entomology**, v.27, n.1, p.1045-1049, 1990.

PALMA, K.G., MEOLA, S.M. AND MEOLA, R.W. Mode of action of pyriproxyfen and methoprene on eggs of *Ctenocephalides felis* (*Siphonaptera*: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 421 – 425, 1993.

PATERSON, S. **Manual de doenças da pele do cão e do gato**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 294p.

PEREIRA, M. R.; SILVA, G. A. G.; MACIEL, A. S.; GALHARDO, J. A.; CAMPOS, A. K. *Ctenocephalides felis felis* (bouché, 1835) e *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (canestrini, 1887) em caprinos e ovinos no município de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p.607-609, out./dez., 2012.

RAMADAN, A.; ABAKRY, N. M.; MAREI, A. S. M.; ELDEFRAWI, A. T.; ELDEFRAWI, M. E. Actions of pyrethroids on the peripheral benzodiazepine receptor. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 32, n. 2, p. 106-113, 1988.

RASA, C. G.; MEOLA R. W.; SCHENKER, R. Effects of a New Insect Growth Regulator, CGA-255*728, on the Different Stages of the Cat Flea (*Siphonaptera*: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.37, n.1, p. 141-145, 2000.

RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R., FERNANDES, J. I.; MELO, R. M. P. S; VIEIRA, V. P. C.; BEZERRA, L. L.; SCOTT, F. B. Atividade do extrato de nim sobre o desenvolvimento embrionário de *C. felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (*Siphonaptera*: Pulicidae) **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, Supl. 1, p. 87-91, 2008.

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

RUST, M. K.; DRYDEN, M. W. The biology, ecology and management of the cat flea. **Annual Review Entomology**, v. 42, n. 1, p. 451-473, 1997.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides – Uma Visão Geral. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SIDDALL, J. B. Insect Growth Regulators and Insect Control: A Critical Appraisal. **Environmental Health Perspectives**, v. 14, n. 1, p. 119-126, 1976.

SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended longevity of the pre-emerged adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. **Annals of Entomological Society of America**, v. 78, n. 1, p. 763-768, 1985.

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

SLOSS, M. W.; KEMP, R. L.; ZAJAC, A. M. **Parasitologia Clínica Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1999. 198p.

SMITH, R. D.; PAUL, A. J.; KITRON, U. D.; PHILIP, J. R.; BARNETT, S.; PIEL, M. J.; NESS, R.W.; EVILSIZER, M. Impact of an orally administered insect growth regulator (lufenuron) on flea infestations of dogs in a controlled simulated home environment. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 1, p. 502-504, 1996.

SOUZA, G. S. **Avaliação da atividade do novaluron, sobre *Boophilus microplus* (Canestrini) em bovinos de corte naturalmente infestados**. 2010. 44 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Católica de Goiás – Universidade Estadual de Goiás - Centro Universitário de Anápolis, Goiás. 2010.

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

TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 28, n. 1, p. 377-387, 2004.

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

VIEIRA, V. P. C. **Atividade do Fluazuron Administrado por Via Oral no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães**. 2012. 70f. Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2012.

VIEIRA, V. P. C.; FAZIO-JUNIOR, P. I.; VEROCAI, G. G.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B. Avaliação de diferentes dietas merídicas sobre a emergência de adultos de *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 65-67, jan-mar, 2010.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. **An Introduction to Insecticides**, (4th edition). 2009. Disponível em <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>> Acesso em 13/03/2010.