

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

**DISSERTAÇÃO**

**Influência do Volume de uma Formulação Pour-on de  
Fipronil na Eficácia sobre *Ctenocephalides felis felis* e  
*Rhipicephalus sanguineus* em cães**

**Diego Dias da Silva**

**2014**



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

**INFLUÊNCIA DO VOLUME DE UMA FORMULAÇÃO POUR-ON DE  
FIPRONIL NA EFICÁCIA SOBRE *Ctenocephalides felis felis* E  
*Rhipicephalus sanguineus* EM CÃES**

**DIEGO DIAS DA SILVA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Fabio Barbour Scott**

*Co-orientação da Dr.<sup>a</sup>*  
**Thaís Ribeiro Correia Azevedo**

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

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2014

636.7089696

S586i

T

Silva, Diego Dias da, 1986-  
Influência do volume de uma  
formulação pour-on de fipronil na  
eficácia sobre *Ctenocephalides felis*  
*felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em  
cães / Diego Dias da Silva. - 2014.  
59 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Dissertação (mestrado) -  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias, 2014.  
Bibliografia: f. 36-46.

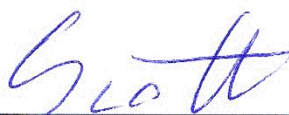
1. Cão - Parasito - Controle -  
Teses. 2. Pulga - Controle - Teses.  
3. Carrapato - Controle - Teses. 4.  
Inseticidas - Teses. 5. Medicamentos  
- Dosagem - Teses. I. Scott, Fabio  
Barbour, 1966- II. Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Curso de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias. III. Título.

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

**DIEGO DIAS DA SILVA**

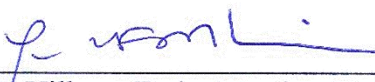
Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,  
no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2014



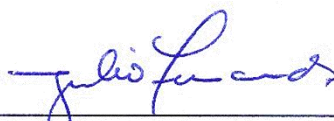
---

Fabio Barbour Scott, Dr., UFRRJ  
(Orientador)



---

Isabella Vilhena Freire Martins, Dr.<sup>a</sup>, UFES.



---

Julio Israel Fernandes, Dr., UFRRJ.

*Dedico esta obra aos animais de experimentação, em especial aos Beagles, que involuntariamente dedicam suas vidas para o que, nós humanos, chamamos de progresso.*

## AGRADECIMENTOS

Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje.

De forma especial agradeço àqueles que contribuíram diretamente na construção deste trabalho:

À minha mãe Edilza Neves Dias pelo amor incondicional, carinho, dedicação, paciência, incentivo e compreensão. Agradeço, sobretudo pela educação e pelos princípios que me foram ensinados e por não medir esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida;

Ao meu irmão Igor Dias da Silva, que, juntamente a nossa mãe, nunca deixou de estar presente, me apoiando e confiando em minhas escolhas;

Ao meu pai Edson Soares da Silva, pelo incentivo aos estudos;

Às primas Renata Dias da Silva, Roberta Dias da Silva, Thayanne Franco Dias e à madrinha Eirilza Neves Dias pelo amor, apoio, paciência e por estarem sempre presentes;

Aos colegas do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, em especial à Renata Assad, Fabrício Gaudêncio e Maria Clara Botelho, pelos ensinamentos e convivência no setor de Análises Clínicas. Agradeço ainda à Rosângela Santos, Cristiane Nunes, Pedro Ivan e Bárbara Rauta pelo auxílio indispensável à parte prática do projeto. A todos do setor de farmacometria, em especial à Viviane Magalhães e à professora Yara Cid, por disporem de seu tempo para o preparo e análise das soluções testadas e esclarecimentos prestados. Aos estagiários e bolsistas, pelo auxílio, e aos funcionários do LQEPV, sem os quais este estudo não seria possível;

À Monique Moraes Lambert pela amizade, apoio e auxílio imprescindível durante todo período de graduação e pós-graduação;

Às amigas Priscila Freitas, Taina Gonçalves, Janne Paula Barros, Safira Rocha e Luísa Vestina pela compreensão, incentivo e, sobretudo pela amizade;

Ao amigo Ulisses Stelmann, pela amizade, paciência, incentivo, dedicação e grande assistência prestada durante todo o período de pós-graduação;

Àqueles que mesmo inconscientemente me apoiaram e estiveram presentes durante toda etapa de confecção desta dissertação: Mimics e Cebes;

Aos professores Fabio Barbour Scott e Katherina Coumendouros pela oportunidade concedida;

À Thaís Ribeiro Correia Azevedo pela co-orientação e ensinamentos;

A todos os professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela contribuição à minha formação acadêmica;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro;

Aos animais, em especial os cães, sem os quais não haveria porquê e nem seria possível a realização deste trabalho, minha eterna gratidão;

Agradeço especialmente a Deus, pela força, paciência, energia e fé a mim concedidas, e sem o qual nada seria possível!

Muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Diego Dias da Silva, filho de Edilza Neves Dias e Edson Soares da Silva, nasceu em 06 de Abril de 1986, no município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil.

Cursou todo o ensino fundamental no Instituto Iguaçuanos de Ensino, localizado em Nova Iguaçu, RJ. No ano de 2001, ingressou no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR), localizado no município de Seropédica, RJ, onde cursou o ensino médio em concomitância com o curso técnico, obtendo o título de Técnico em Agropecuária Orgânica no ano de 2003.

No ano de 2006, ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde cursou Zootecnia até a aprovação no vestibular para Medicina Veterinária, no ano de 2008. Durante a graduação, atuou por dois anos como monitor das disciplinas de Genética Básica e Genética Geral. Foi ainda estagiário no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) e bolsista de Extensão Universitária, sob orientação da professora Dr.<sup>a</sup> Katherina Coumendouros.

Graduou-se Médico Veterinário em 2012, mesmo ano em foi aprovado no processo de seleção para o Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, sendo bolsista CNPq entre março de 2012 e Fevereiro de 2014, sob orientação do professor Dr. Fabio Barbour Scott. Durante a Pós-Graduação envolveu-se nas diversas pesquisas realizadas no LQEPV, bem como desenvolveu atividades no setor de Análises Clínicas, realizando exames laboratoriais dos animais atendidos no Hospital Veterinário da referida instituição.

## RESUMO

SILVA, Diego Dias da. **Influência do volume de uma formulação pour-on de fipronil na eficácia sobre *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães.** 2014. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Tendo em vista que a relação entre diversos componentes de uma formulação pode interferir positiva ou negativamente na ação do princípio ativo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência do volume de formulação pour-on contendo fipronil empregado em cães, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo, sobre a eficácia contra *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*. Para isso, foram utilizados 24 cães divididos em quatro grupos: controle, o qual permaneceu sem tratamento, e os grupos tratados A, B e C, medicados com 1,34mL, 2,68mL e 5,36mL de solução contendo 10,7%, 5,3% e 1,8% de fipronil, respectivamente. Cada cão foi infestado dois dias antes do tratamento e semanalmente após o mesmo com 100 exemplares adultos não alimentados de *C. f. felis* e 50 adultos não alimentados de *R. sanguineus*, mantendo-se, para ambos, igual proporção entre os sexos. A avaliação de eficácia imediata ocorreu dois após o tratamento e as avaliações de eficácia residual foram realizadas semanalmente, sempre 48 horas após as infestações. Para tal, procedeu-se a retirada e contagem das pulgas e carrapatos, por catação manual e/ou método “comb-test” e os cálculos de eficácia efetuados pela fórmula de Abbott. O grupo tratado com 5,36mL de solução de fipronil apresentou eficácia contra *R. sanguineus* superior a 90% por 28 dias, sendo superior aos grupos medicados com 1,34mL e 2,68mL, os quais apresentaram-se protegidos contra reinfestações por um período de 21 dias. Nas duas avaliações semanais subsequentes o maior volume manteve-se superior aos demais, mesmo não atingindo níveis satisfatórios de proteção. Eficácia residual acima de 95% contra *C. f. felis* foi obtida por até 35 dias pelos três volumes testados. Apesar das eficácias pulgicidas inferiores a 95% obtidas no quadragésimo segundo dia após o tratamento, os volumes de 2,68mL e 5,36mL apresentaram-se superiores ao volume de 1,34mL. Conclui-se, portanto, que o aumento do volume aplicado de solução pour-on de fipronil em cães, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo, elevou significativamente sua eficácia residual contra *C. f. felis* e *R. sanguineus*, evidenciando que simples alterações nas formulações ectoparasiticidas tópicas podem alterar de forma significativa o grau de proteção fornecido.

**Palavras-chave:** Fenilpirazole. Volume. Eficácia.



## ABSTRACT

SILVA, Diego Dias da. **Influence of the volume of a pour-on formulation of fipronil on the effectiveness against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs.** 2014. 59p. Dissertation (Master Science in Veterinary Sciences,). Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Given the relationship between various components of a formulation can positively or negatively interfere with the action of the active ingredient, the present study aimed to evaluate the influence of the volume of pour-on formulation containing fipronil used in dogs, maintaining the recommended dose of active ingredient, on the effectiveness against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*. For this purpose, 24 dogs were divided into four groups: control, which remained untreated, and treated groups A, B and C, medicated with 1.34 mL, 2.68 mL and 5.36 mL of a topical solution containing 10.7%, 5.3% and 1.8% fipronil, respectively. Each dog was infested two days before treatment and weekly after that with 100 samples of non-fed adult *C. f. felis* and 50 non-fed adults of *R. sanguineus*, keeping for both, equal sex ratio. The evaluation of immediate efficacy occurred two days after treatment and residual efficacy assessments were performed weekly, always 48 hours after each infestation. To this purpose, was proceeded the removal and counting of fleas and ticks, by manual grooming and/or by comb- test method, and the calculation of the efficacy made by Abbott's formula. The group treated with 5.36 mL of 1.8% fipronil solution showed efficacy against *R. sanguineus* greater than 90% for 28 days, higher than groups treated with 1.34 mL and 2.68 mL of 10,7% and 5,3% fipronil solutions, which presented protection against re-infestation for 21 days period. In the two subsequent weekly assessments the highest volume remained superior to the others, although not reaching satisfactory levels of protection. Residual efficacy above 95% against *C. f. felis* was obtained up to 35 days by the three tested volumes. Despite fleacide efficacy less than 95% obtained in the 42° day after the treatment by all tested volumes, the 2.68 mL and 5.36 mL volumes were superior than 1.34 ml volume. It is concluded that the increased volume of topically solution of fipronil applied in dogs, maintaining the recommended dose of the active ingredient, increased its residual efficacy against *C. f. felis* and *R. sanguineus*, showing that simple changes in ectoparasiticide topical formulations may significantly modify the degree of protection provided.

**Key words:** Phenylpyrazole. Volume. Efficacy.

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Fórmula das soluções de fipronil empregadas no experimento.....	18
<b>Tabela 2.</b> Divisão dos cães nos grupos de acordo com o peso, sexo e contagem preliminar de carrapatos. Concentração e volume de solução de fipronil recebido por cada grupo.....	19
<b>Tabela 3.</b> Teor de fipronil das soluções teste empregadas no estudo em análise realizada em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	21
<b>Tabela 4.</b> Dose de fipronil esperada e recebida por cada cão.....	23
<b>Tabela 5.</b> Contagens individuais de pulgas ( <i>Ctenocephalides felis felis</i> ), adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, dos animais dos grupos controle e tratados com os diferentes volumes em teste ao longo do período experimental.....	26
<b>Tabela 6.</b> Contagens individuais de carrapatos ( <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ), adultos, vivos e fixados, recuperados através do método “comb-test” e pela coleta manual, dos animais dos grupos controle e tratados com os diferentes volumes em teste ao longo do período experimental.....	29

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1:</b> Fases de desenvolvimento de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	3
<b>Figura 2.</b> Estágios Imaturos e Adulto de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> não alimentados	5
<b>Figura 3.</b> Estrutura Química do Fipronil. A: fórmula esquelética; B: fórmula de bolas e varetas. Adaptado de Jackson et al. (2009).....	12
<b>Figura 4.</b> Modo de ação do fipronil. Adaptado de Beugnet e Franc (2012).....	12
<b>Figura 5.</b> A: Migração do fipronil a partir do local de aplicação; B: Distribuição das moléculas de fipronil na glândula sebácea e sobre a pele e pelos. Adaptado de Fischetti (2001).....	13
<b>Figura 6.</b> Tubo de vidro, fechado com TNT, contendo 50 casais de <i>Ctenocephalides felis felis</i> apoiados em tira de papel filtro.....	16
<b>Figura 7.</b> Seringa de plástico vedada com rolha de algodão contendo 25 casais de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	17
<b>Figura 8.</b> Seringas plásticas com a quantidade administrada das soluções teste. A: 1,34 mL de fipronil 10%; B: 2,68 mL de fipronil 5%; C: 5,36 mL de Fipronil 2,5%.....	17
<b>Figura 9.</b> Cronograma do tratamento, das infestações e avaliações de eficácia das soluções teste contra <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	20
<b>Figura 10.</b> Curva de calibração do padrão obtida através da análise das soluções-padrão de fipronil por cromatografia líquida de alta eficiência.....	21
<b>Figura 11.</b> Distribuição da dose fornecida de fipronil (mg/Kg) por grupo experimental; A área demarcada representa janela terapêutica.....	22
<b>Figura 12.</b> Número médio de pulgas ( <i>Ctenocephalides felis felis</i> ) vivas recuperadas dos animais do grupo controle e dos grupos tratados com diferentes concentrações de fipronil ao longo do período experimental.....	25
<b>Figura 13.</b> Eficácia pulguicida para a espécie <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos diferentes volumes administrados de solução de fipronil em cães.....	27
<b>Figura 14.</b> Número médio de carrapatos ( <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ) adultos, vivos e fixados recuperadas dos animais do grupo controle e dos grupos tratados com diferentes concentração de fipronil ao longo do período experimental.....	28
<b>Figura 15.</b> Eficácia carrapaticida para a espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> dos diferentes volumes administrados de solução de fipronil em cães.....	30

## LISTA DE ABREVIACÕES, SÍGLAS E SÍMBOLOS

BOD	Câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio
CEUA	Comitê de ética de uso animal
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CRs	Complexo <i>Rhipicephalus sanguineus</i>
DAPP	Dermatite Alérgica a Picada de Pulgas
DPA	Departamento de Parasitologia Animal
e.g.	Do latim <i>exempli gratia</i> – Por exemplo
EI	Eficácia imediata
ER	Eficácia residual
FAPUR	Fundação de Apoio à Pesquisa da UFRRJ
FelV	Vírus da Leucemia Felina
g	Gramas(s)
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
i.e.	Do latim <i>id est</i> – Isto é
IV	Instituto de Veterinária
Kg	Quilograma(s)
LQEPV	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
m	Metro
m <sup>2</sup>	Metro(s) quadrado(s)
mg	Miligrama(s)
mL	mililitro(s)
q.s.p.	Quantidade suficiente para
RCA's	Reguladores de crescimento de artrópodes
SRD	Sem raça definida
TNT	Tecido-não-tecido
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UR	Umidade relativa
$\mu$ L	Microlitro

## SUMÁRIO

	Página
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b> 1
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b> 2
2.1	<i>Ctenocephalides felis felis</i> ..... 2
2.2	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> ..... 5
2.3	Controle de Ectoparasitos em animais de companhia..... 8
2.3.1	Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> ..... 9
2.3.1.	Controle de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ..... 9
2.3.3	Inseticidas e acaricidas tópicos usados no controle de ectoparasitos... 10
2.3.3.1	Fipronil..... 11
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b> 15
3.1	Aspectos Éticos..... 15
3.2	Localização do Estudo..... 15
3.3	Seleção, Alojamento e Manejo dos Animais..... 15
3.4	Manutenção das Colônias dos Ectoparasitos Utilizados nos Testes..... 15
3.4.1	Colônia de <i>Ctenocephalides felis felis</i> ..... 15
3.4.2	Colônia de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ..... 16
3.5	Preparo das soluções Experimentais..... 17
3.6	Delineamento Experimental do Teste de Eficácia..... 18
3.7	Análise das Concentrações das Soluções Experimentais..... 20
3.8	Cálculo da Eficácia e Análise de Dados..... 24
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b> 25
4.1	Eficácia das Formulações Sobre <i>Ctenocephalides felis felis</i> ..... 25
4.2	Eficácia das Formulações Sobre <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ..... 28
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b> 31
5.1	Eficácia das soluções-teste contra <i>Ctenocephalides felis felis</i> e <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ..... 31
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b> 35
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> 36
<b>ANEXO</b>	Declaração do Comitê de Ética de Uso Animal..... 47

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os artrópodes que atuam como ectoparasitos do cão doméstico (*Canis familiaris*), destacam-se a pulga *Ctenocephalides felis felis* e o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*.

Além da espoliação sanguínea e do grande incômodo causado pelo prurido que provocam em seus hospedeiros, estes ectoparasitos, geralmente associados à dermatite, comprometem a saúde dos cães em diferentes graus, dependendo da sua nutrição, estado imunológico e intensidade do parasitismo, podendo, em casos extremos, levar à morte do animal.

Adicionalmente, estes ectoparasitos também podem atuar como vetores biológicos, mecânicos e hospedeiros intermediários de agentes patogênicos, transmitindo, através de sua picada, fezes ou ainda pela ingestão do ectoparasita, cestódeos, riquetsias, protozoários, bactérias e vírus, que causam doenças graves não somente em cães, mas também em humanos. Assumem, portanto, papel de grande relevância não somente no âmbito médico veterinário, mas também em saúde pública.

Técnicas empregadas para o controle bem sucedido de pulgas de animais e seus ambientes diferem em alguns aspectos das medidas utilizadas para o controle do carrapato. De modo geral, as estratégias para o tratamento e prevenção de infestações desses parasitos envolvem a utilização ocasional ou regular de drogas antiparasitárias, o que sublinha a necessidade de investigação na procura de novos compostos ou formulações melhoradas que forneçam um maior período de proteção contra reinfestações e redução do potencial de toxicidade para os animais domésticos e para o homem.

Encontram-se disponíveis no mercado diversos grupamentos químicos para o controle de *C. f. felis* e *R. sanguineus*. No entanto, os métodos de controle químico mais corriqueiramente utilizados, e que merecem maior destaque, incluem o emprego dos reguladores de crescimento de artrópodes (RCA's) e/ou substâncias adulticidas com prolongado poder residual nos hospedeiros e no ambiente, tal como o fipronil.

O fipronil é um inseticida/acaricida da classe dos fenilpirazóis, usado extensivamente como praguicida agrícola, tendo sido introduzido no mercado veterinário em meados dos anos 1990. Encontra-se disponível somente sob a forma tópica de administração, sozinho ou aliado a outras classes inseticidas. Ao ser aplicado topicamente, o mesmo é sequestrado pelas glândulas sebáceas e é gradualmente liberado. Devido à sua propriedade lipofílica, a molécula permanece ativa nos animais mesmo quando submetidos a banhos ou expostos à chuva.

Nos produtos à base de fipronil disponíveis no mercado para animais de companhia, a concentração do princípio ativo nas formulações tópicas "spot-on" é constante, havendo diferença somente no volume a ser empregado, ajustando-se de acordo com a faixa de peso do animal a ser tratado.

Tendo em vista que a relação entre diversos componentes de uma formulação podem interferir positiva ou negativamente na ação do princípio ativo contido na mesma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência do volume de uma formulação *pour-on* de fipronil empregado em cães sobre a eficácia contra *C. f. felis* e *R. sanguineus*, mantendo-se, no entanto, a dose preconizada do princípio ativo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Ctenocephalides felis felis*

Vulgarmente conhecidos como pulgas, os insetos pertencentes à ordem Siphonaptera são importantes ectoparasitos que acometem mamíferos e aves. Dentre as mais de 2500 espécies e subespécies conhecidas, 62 já foram descritas no Brasil, com destaque às espécies do gênero *Ctenocephalides*, que apresentam a maior distribuição mundial e elevada prevalência em cães e gatos (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI; GUIMARÃES, 2000; RUST, 2005; DURDEN; HINKLE, 2009; LINARDI, 2011).

Morfologicamente estes ectoparasitos são ápteros, pequenos (2,0 - 3,0 mm em média), de coloração castanha, achatados lateralmente, com as pernas posteriores adaptadas ao salto e o corpo revestido por cerdas voltadas para trás. A maior parte das espécies conhecidas apresenta ctenídios (do grego “*ctenos*” que significa ‘pente’) que são cerdas mais robustas e esclerotizadas que auxiliam na fixação e locomoção das pulgas entre os pelos dos hospedeiros (LINARDI, 2011).

Das 13 espécies e subespécies pertencentes ao gênero *Ctenocephalides*, apenas *C. canis* e *C. f. felis* são encontradas no continente sul-americano. No entanto, *C. f. felis* aparenta ser mais adaptável que *C. canis*, pois infesta uma maior variedade de hospedeiros, tendo por isso, distribuição mais ampla. (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

No Brasil, *C. f. felis* já foi relatada parasitando bovinos, cães domésticos, cachorros-do-mato, lobos-guará, iraras, gatos domésticos, jaguatiricas, gatos-do-mato, raposas, quatis, onças, guaxinins, gambás, cuícas, lebres, furões, macacos, ratos, preás, porquinhos-da-índia, capivaras, esquilos, tatús, tamanduás, corujas, caprinos e inclusive o homem (BEZERRA et al., 2010; LINARDI; SANTOS, 2012). Fora do Brasil, existem ainda relatos do seu parasitismo em cavalos, pôneis, ursos, lince, galinhas, ovinos, coalas e lagartos (DRYDEN; RUST, 1994; YERUHAM; ROSEN; BRAVERMAN, 1996; SIAK; BURROWS, 2013).

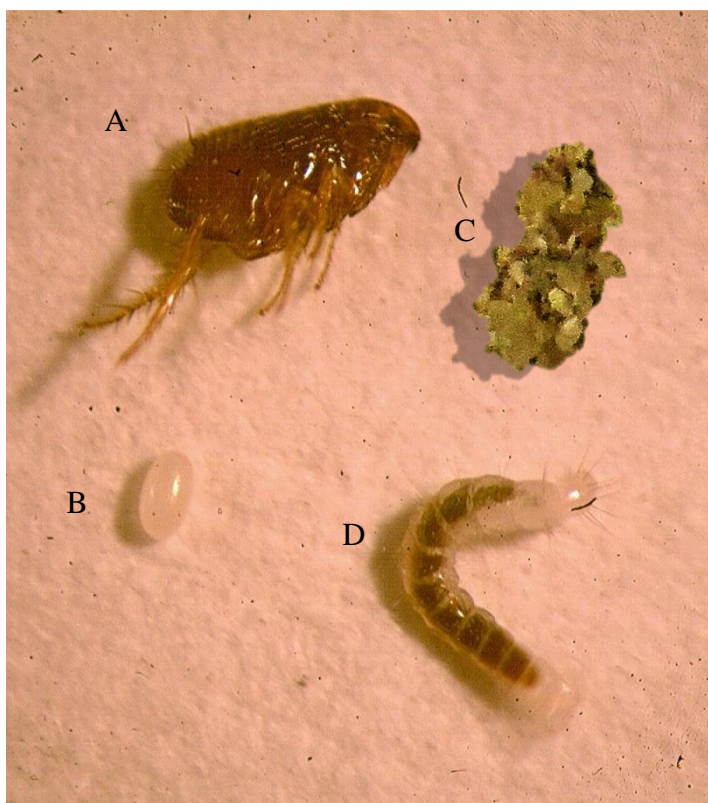
Biologicamente, *C. f. felis*, bem como as demais pulgas, podem ser classificados como holometábolos (i.e. realizam metamorfose completa), apresentando hábitos hematófagos somente na fase adulta. O aparelho bucal dos adultos é do tipo sugador-pungitivo, com o repasto sanguíneo sendo exercido por ambos os sexos, sendo nas fêmeas, importante não somente para a nutrição, como também para a maturação ovariana e posterior oviposição (LINARDI, 2011).

O ciclo biológico de *C. f. felis* compreende as seguintes fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1).

Os ovos, de coloração branco-perolada, após serem depositados pelas fêmeas sobre os hospedeiros, caem no substrato, acumulando-se nas áreas onde estes animais costumam dormir ou descansar (BYRON, 1987; DRYDEN; RUST, 1994). Após um período de incubação, que varia de um a seis dias dependendo da temperatura e umidade relativa, eclodem as larvas, vermiformes, esbranquiçadas e ápodas (LINARDI, 2011). Com aparelho bucal mastigador, desenvolvem-se se alimentando de detritos orgânicos, fezes e ovos de pulgas adultas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

As larvas apresentam vida livre, porém são extremamente sensíveis ao calor e dissecação, permanecendo protegidas sob as fibras de carpetes ou ainda sob a grama, galhos e pedras. Nestas condições, passam por duas mudas num período de cinco a onze dias, antes de entrarem em um curto estágio denominado pré-pupa. Neste estágio, o terceiro instar larvar produz uma seda esbranquiçada e pegajosa, a qual se reveste de detritos do ambiente (e.g. areia, pelos e poeira), formando um casulo, no qual ocorre a metamorfose para a fase de pupa

e posteriormente, para a fase adulta (DRYDEN; RUST, 1994; BLAGBURN; DRYDEN, 2009).



Legenda: A: adulto; B: ovo; C: Pupa; D: larva

**Figura 1:** Fases de desenvolvimento de *Ctenocephalides felis felis*.

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

As pulgas adultas podem sobreviver por vários dias antes de realizarem seu primeiro repasto sanguíneo, sendo o tempo de sobrevivência diretamente proporcional à umidade relativa (DRYDEN, GAAFAR, 1991).

As pulgas iniciam sua alimentação segundos após subirem no seu hospedeiro vertebrado. A cópula, no entanto, ocorre entre oito e 24 horas após o início do repasto sanguíneo. Cada pulga fêmea pode consumir 13,6  $\mu\text{L}$  de sangue por dia, o que equivale a 15,15 vezes o seu próprio peso (DRYDEN; GAAFAR, 1991). Enquanto se alimentam, as pulgas adultas excretam grande quantidade de sangue parcialmente digerido, formando pellets, que ao caírem no substrato, servem de fonte nutricional às larvas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Entre 24 e 36 horas após o início da alimentação, as pulgas fêmeas iniciam a produção de ovos. Cada fêmea pode produzir até 50 ovos por dia, chegando a ovipôlar mais de 1300 em um intervalo de 50 dias, podendo a produção de ovos perdurar por mais de 100 dias. A maioria dos ovos é liberada no final da escotofase (i.e. período escuro de um ciclo claro/escuro), coincidindo em geral com as horas de sono da maioria dos hospedeiros (DRYDEN, 1989; RUST, 1992).



O ciclo biológico de *C. f. felis* pode ser completado tão rápido quanto 12 dias, bem como prolongado por mais de 174 dias, a depender das condições ambientais, principalmente da temperatura e umidade relativa. Entretanto, sob as condições normalmente encontradas no ambiente doméstico, este ciclo leva em torno de três a oito semanas (SILVERMAN; RUST, 1985; BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os hospedeiros podem adquirir a infestação ao passar em locais onde há a presença de formas imaturas e conseqüentemente de adultos recém-emergidos. Podem ainda contraí-la através de transferência horizontal de exemplares adultos entre hospedeiros, através da proximidade, seja por frequentarem o mesmo ambiente ou ainda pela predação de um hospedeiro infestado. Em ambas as formas supracitadas, as pulgas podem atuar como vetores de patógenos a seus hospedeiros, inclusive aos humanos, tendo, portanto, sua importância atribuída não somente na Medicina Veterinária, como também em saúde pública (RUST, 1994).

As três maneiras conhecidas de transmissão de patógenos por pulgas são: pela inoculação, através de regurgitação de refeições de sangue (e.g. *Rickettsia felis*), pela via fecal, através da inoculação de fezes de pulgas contaminadas através de abrasões da pele (e.g. *Bartonella henselae*) ou ainda pela ingestão de pulgas infectadas (e.g. *Dipylidium caninum*) (BITAM et al., 2010).

De acordo com a ecologia dos patógenos que transmite, *C. f. felis* desempenha diferentes papéis como vetor. Ele serve como um vetor biológico para espécies como *R. felis*, que pode ser naturalmente mantido dentro de uma população de pulgas por transmissão vertical (WEDINCAMP; FOIL, 2002), ou como um vetor mecânico para espécies como *B. henselae*, que parecem estar restrito ao lúmen do intestino das pulgas. Esta diferença também se reflete nos mecanismos pelos quais os patógenos são transmitidos para os mamíferos, com a transferência de espécies de *Rickettsia* que ocorre diretamente pela inoculação através da picada da pulga, enquanto *B. henselae* é transferido indiretamente pela inoculação de fezes de pulgas infectadas através de abrasões da pele. Pode ainda transmitir patógenos das quais são o hospedeiro intermediário, tal como *Dipylidium caninum*, quando ingeridas pelo hospedeiro definitivo (e.g. cães e gatos) (FOIL et al., 1998; SHAW et al., 2004).

Dentre os agentes etiológicos que podem ser transmitidos aos animais e/ou humanos por *C. f. felis*, destacam-se o filarídeo *Acanthocheilonema reconditum*, os cestóides *D. caninum* e *Hymenolepis nana*, e as bactérias *Rickettsia typhi* (agente de tifo murino), *R. felis* (agente da rickettsiose felina), *Bartonella* spp. (incluindo *B. henselae*, o agente doença da arranhadura do gato), *Mycoplasma haemofelis* (agente da micoplasmose felina) e *Yersinia pestis* (agente da peste bubônica) (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). São ainda incriminadas como possíveis transmissores do Vírus da Leucemia Felina (FelV) (VOBIS et al., 2003a, 2003b).

Foram também descritos diversos endossimbiontes (e.g. Amebas, Gregarinas, *Wolbachia* sp., *Leishmania chagasi*, *Dirofilaria immitis*, *Leptomonas ctenocephali*, *Nolleria pulicis*, *Nosema ctenocephali*, *Rickettsia burnetii*, *Spirochaeta ctenocephali* e *Trypanosoma lewisi*), sendo alguns deles patogênicos ao homem e/ou animais, assinalando que mais estudos devem ser realizados para elucidar o papel de *C. f. felis* na transmissão destes agentes (AVELAR et al., 2007).

Além da possibilidade de transmissão de patógenos, picadas de pulgas adultas levam a reação de hipersensibilidade e irritação da pele em decorrência da inoculação de material antigênico proveniente das glândulas salivares do parasito (DRYDEN; RUST, 1994; SIAK; BURROWS, 2013). Ao redor de cada picada, surgem pápulas e o início do prurido ocorre em minutos. A exposição a repetidas picadas induz, em cães e gatos suscetíveis, uma condição denominada Dermatite Alérgica a Picada de Pulgas (DAPP), sendo a afecção dermatológica veterinária mais comum no mundo (SOUZA, 1997; SIAK; BURROWS, 2013). Cães que

desenvolvem DAPP podem apresentar, dentre outros sinais clínicos, alopecia, eritema, escoriações, pápulas, crostas e intenso prurido, que em muitos casos pode culminar com autotraumatismo (TRAVERSA, 2013).

Uma intensa infestação pode ainda levar a quadros de anemia ferropriva, principalmente quando ocorre em filhotes ou animais de pequeno porte, já tendo sido relatada em cães, gatos, bezerros, cordeiros e cabritos (DRYDEN; RUST, 1994).

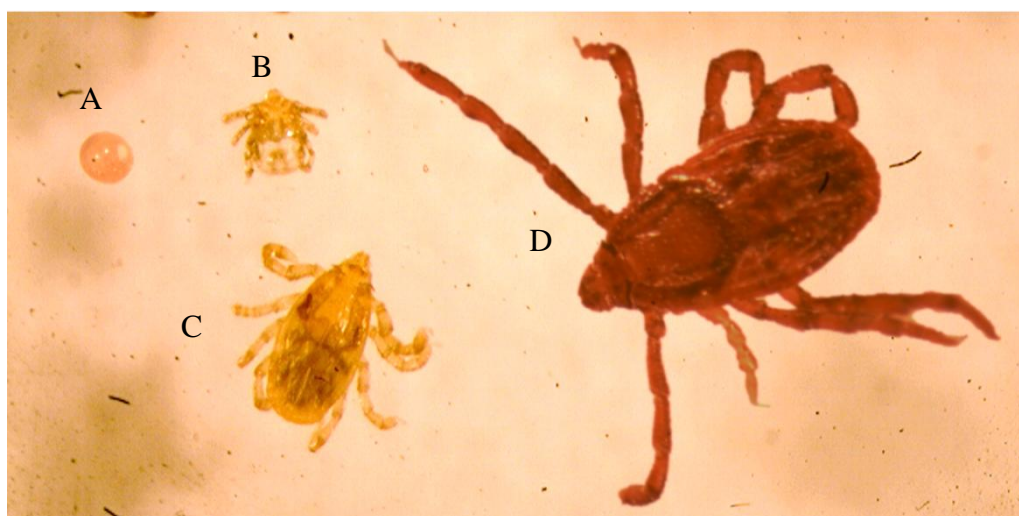
Finalmente, tendo em vista que o clima quente e úmido é um fator benéfico para o desenvolvimento de pulgas, sugere-se que o aquecimento global modifique a distribuição deste ectoparasito, bem como das doenças por ele transmitidas, principalmente em direção às zonas temperadas (BYGBJERG; SCHIØLER; KONRADSEN, 2009).

## 2.2 *Rhipicephalus sanguineus*

São reconhecidas, atualmente, 899 espécies de carrapatos, incluídas em três famílias: Nuttalliellidae, Argasidae e Ixodidae, sendo estas compostas por uma, 195 e 703 espécies respectivamente (BARKER; MURRELL, 2004; DANTAS-TORRES et al., 2012). O Brasil conta com uma fauna de 65 espécies, das quais 21 pertencem à família Argasidae e 44 à família Ixodidae (DANTAS-TORRES, et al., 2012; MARTINS et al., 2014). O gênero *Rhipicephalus*, dentre os membros da família Ixodidae assume posição de destaque, principalmente por sua distribuição cosmopolita, elevada capacidade vetorial e significativas perdas econômicas decorrentes do seu parasitismo (DANTAS-TORRES, 2008).

Devido sua relevância em medicina veterinária e importância em saúde pública, *R. sanguineus* (Figura 3) é um dos ixodídeos mais bem estudados. Além disso, é o carrapato mais difundido no mundo, sendo encontrado desde a latitude 50° Norte até a 35° Sul (DANTAS-TORRES, 2008).

Originalmente foi chamado de *Ixodes sanguineus* por Latreille (1806), que o descreveu como "Vermelho sangue, pontilhado, com três linhas impressas posteriormente; sem nenhum ponto anterodorsal de distinção torácica", em tradução livre. Segundo Walker, Keirans e Horak (2000), *R. sanguineus* compreende um complexo de espécies que possuem características morfológicas e ecológicas intra e interespecíficas muito semelhantes, chamado de Complexo *Rhipicephalus sanguineus* (CRs), cujo posicionamento taxonômico ainda é muito difícil de ser determinado por características fenotípicas.



**Legenda:** A: ovo; B: larva; C: ninfã; D: adulto.

**Figura 2:** Estágios Imaturos e Adulto de *R. sanguineus* não alimentados

Vulgarmente chamado de “carrapato marrom do cão” ou “carrapato dos canis”, *R. sanguineus* tem como principal hospedeiro o cão, embora já tenha sido descrito parasitando outras espécies, tais como: capivaras, coelhos domésticos, camelos, gatos, bovinos, búfalos, jumentos, cavalos, cervos, ouriços, quatis, coiotes, lobo-guará, cachorro-do-mato, caprinos, ovinos, leões, hienas, javalis, girafas, porcos-da-terra, zebras, avestruzes, lebres, lagartos e inclusive o homem (WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000; GUIMARÃES et al., 2001; MILLER et al., 2001; LABRUNA, 2004; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006; DANTAS-TORRES et al., 2010). Pode ainda parasitar aves que se alimentam no solo (e.g. pombos), as quais podem assumir um importante papel na disseminação mecânica deste ectoparasito, sobretudo em ambientes urbanos (SZABÓ et al., 2008; LUZ et al., 2012; SZABÓ et al., 2012).

De origem africana, foi recentemente descrito mumificado fixado a um cão, datado entre o século IV a.C. e IV d.C., encontrado em escavações realizadas no sítio de El Deir, no Egito (HUCHET et al., 2013). Foi introduzido no continente americano durante a colonização, juntamente a seu principal hospedeiro (SZABÓ et al., 2005).

No Brasil, *R. sanguineus sensu stricto* é o único representante do CRs e segundo Aragão (1936), apresentava distribuição limitada a alguns estados brasileiros no início do século XX, tendo distribuição cosmopolita já na década de 30. Atualmente, ocorre em toda a região neotropical, sobretudo nas áreas urbanas e acometendo aproximadamente 30% dos cães (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006; GUGLIELMONE et al., 2010).

Biologicamente, *R. sanguineus* tem desenvolvimento do tipo trifásico, ditrópico, sendo as formas adultas exofílicas e as imaturas endofílicas, evoluindo habitualmente nos locais onde os hospedeiros se refugiam. Todavia, em ambientes urbanos e peri-urbanos, onde vivem em estrita dependência de seu hospedeiro canino, o ciclo alimentar manifesta-se essencialmente de forma monotrópica e endofílica, alojando-se tanto as formas imaturas quanto as adultas nos canis ou próximas a estes (SILVA et al, 2006).

O ciclo biológico de *R. sanguineus* compreende as seguintes fases de desenvolvimento: ovo, larva, ninfa e adulto, sendo as três últimas ativas e dependentes do repasto sanguíneo para desempenho pleno de suas funções biológicas (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006).

Os ovos, após depositados por fêmeas adultas ingurgitadas, passam por um período de incubação que pode variar entre seis e 23 dias, originando larvas que quando eclodidas, buscam avidamente por um hospedeiro (DANTAS-TORRES, 2008), podendo sobreviver no ambiente por aproximadamente 250 dias (GODDARD, 1987). Ao se fixar em um hospedeiro, as larvas, bem como as ninfas e adultos, alimentam-se, sobretudo de sangue, mas também de linfa e restos tissulares da derme e/ou epiderme, por um período de três a sete dias (LABRUNA, 2004). Uma vez ingurgitadas, as larvas se desprendem do hospedeiro, preferencialmente no período diurno (PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008), realizando no ambiente, dentro de cinco a 15 dias, a ecdise para o estágio de ninfa (DANTAS-TORRES, 2008).

As ninfas não alimentadas, as quais podem sobreviver no ambiente por até seis meses (GODDARD, 1987), sobem em um novo hospedeiro, alimentando-se por um período entre três e onze dias. Posteriormente desprendem-se, quando ingurgitadas, realizando assim como as larvas, a muda no ambiente, em período que varia entre nove e 47 dias (DANTAS-TORRES, 2008).

Os adultos surgem da ecdise de ninfas ingurgitadas, os quais são os únicos a apresentar dimorfismo sexual (LABRUNA, 2004) e que podem sobreviver por até 19 meses sem alimentação (GODDARD, 1987). Estes, ao encontrarem um novo hospedeiro, podem passar de cinco a 21 dias se alimentando, período no qual ocorre a cópula (DANTAS-TORRES, 2008).

Os machos permanecem sobre o hospedeiro por vários dias ou semanas, não aumentam nitidamente de tamanho, e podem fertilizar várias fêmeas durante este período (LABRUNA, 2004). Segundo Dantas-Torres (2010), sugere-se que os machos desempenhem outro papel além do reprodutivo, uma vez que há descrição desses machos aumentando o desempenho alimentar de estágios imaturos, mais especificamente, os das ninfas (RECHAV; NUTTALL, 2000).

Após alimentadas e fertilizadas, as fêmeas ingurgitadas, ao desprenderem-se do hospedeiro, buscam no ambiente locais seguros para passar pelo período de pré-oviposição, que pode durar entre três a 14 dias (DANTAS-TORRES, 2008). Ninfas e fêmeas adultas alimentadas destacam-se de seus hospedeiros predominantemente no período noturno (PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008), coincidindo, em geral, com o período de sono do hospedeiro.

Uma fêmea ingurgitada pode chegar a pesar 250 mg e ovipor entre 2.000 e 4.000 ovos em postura ininterrupta que dura até 18 dias (GODDARD, 1987; DANTAS-TORRES, 2008). O número de ovos está diretamente correlacionado com o peso da fêmea (KOCH, 1982). Os ovos são depositados em locais escondidos, como rachaduras e fendas nas paredes, entre as rochas e, por vezes, em buracos no solo (DANTAS-TORRES, 2010).

As fêmeas necessitam de um abrigo para proteger a si mesmas e suas descendências, já que representam uma presa fácil para predadores, tais como alguns artrópodes (SAMISH; ALEKSEEV, 2001) e aves (GUGLIELMONE; MOSA, 1990). Geralmente, tais abrigos encontram-se próximos aos locais de descanso do hospedeiro, sendo este um comportamento estratégico que facilita o encontro entre as larvas recém-eclodidas e seu primeiro hospedeiro. Ao completar a oviposição, a fêmea morre (DANTAS-TORRES, 2008).

Em condições laboratoriais, o ciclo biológico de *R. sanguineus* pode ser completado entre 63 e 91 dias. A campo, a duração deste ciclo depende das condições ambientais, ocorrendo menos de duas gerações/ano em algumas regiões enquanto em outras, como na região centro-oeste brasileira, podem ocorrer mais de quatro gerações/ano (LOULY et al., 2007; DANTAS-TORRES, 2008).

*Rhipicephalus sanguineus* exibe, segundo Dantas-Torres (2010), um comportamento de caça a seu hospedeiro, muito embora possa utilizar-se de estratégias de emboscada para alcançar sua vítima. Segundo este mesmo autor, tal comportamento é derivado da coevolução sofrida por ambas as espécies envolvidas na relação parasito-hospedeiro.

Recentemente, foi demonstrado que *R. sanguineus* se utiliza de substâncias eliminadas pelo hospedeiro, também chamadas de cairomônios (e.g. CO<sub>2</sub>) ou até mesmo de sons de latido na busca de seus hospedeiros (LOULY et al., 2007). Mais recentemente, Louly et al. (2010) relataram diferenças no comportamento de caça de *R. sanguineus* expostos à cairomônios de diferentes raças caninas.

A intensidade de infestação, assim como a prevalência de *R. sanguineus* em cães pode variar amplamente, tanto geográfica como sazonalmente (DANTAS-TORRES, 2010). Soares et al. (2006), em estudo realizado em Minas Gerais, encontraram maior prevalência e intensidade média de infestação em cães criados em quintais gramados, quando comparados a cães criados em apartamento. Outros estudos revelam ainda maior infestação por *R. sanguineus* em cães durante a estação seca ou ainda em cães de áreas urbanas, quando comparados àqueles de área rural (LABRUNA et al., 2005; SILVEIRA; PASSOS; RIBEIRO, 2009).

Outro fator que pode influenciar a intensidade de infestação é a idade do hospedeiro (DANTAS-TORRES et al., 2009). O prejuízo causado pelo parasitismo tende a ser mais intenso em cães jovens, podendo estes desenvolver anemia severa, especialmente se albergarem algum agente transmitido por carrapatos, como por exemplo, *Babesia canis* (KORDICK et al., 1999). Infestações maciças por *R. sanguineus* podem ainda culminar com a

inoculação de neurotoxinas nos cães parasitados, originando quadros de paralisia por carrapatos (OTRANTO et al., 2012).

Além do incômodo e da espoliação sanguínea que podem acarretar a seus hospedeiros, *R. sanguineus* é responsável ainda pela transmissão de uma gama de agentes infecciosos aos cães. Segundo Chomel (2011), o carrapato é o principal transmissor de agentes infecciosos aos animais. A prática do hematofagismo em diferentes hospedeiros, em cada fase evolutiva, aliado a capacidade de transmissão transtadial e transovariana de patógenos, é o que permite a transmissão de agentes infecciosos de um hospedeiro a outro. Além disso, *R. sanguineus* adultos podem ainda trocar de hospedeiro mesmo após iniciada a alimentação, favorecendo ainda mais a sua capacidade vetorial (LITTLE; HOSTETLER; KOCAN, 2007). Ao alimentarem-se, os carrapatos provocam uma ação traumática, lesando tecidos e vasos sanguíneos, não somente ingerindo sangue, mas também regurgitando grande quantidade de saliva, sendo esta a principal via de inoculação de patógenos (MASSARD; FONSECA, 2004).

Diversos agentes infecciosos podem ser transmitidos por *R. sanguineus* aos animais, incluindo *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. massiliae*, *B. canis vogeli*, *Theileria equi*, *T. annulata*, *Acanthocheilonema* spp. e *Hepatozoon canis* (DANTAS-TORRES, 2008; CHOMEL, 2011; DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012). Recentemente tem sido investigado o papel de *R. sanguineus* na transmissão da leishmaniose visceral canina, causada por *Leishmania* spp. (COUTINHO et al., 2005; PAZ et al., 2010), no entanto, segundo Dantas-Torres (2008), mais estudos são necessários para confirmar tal suspeita.

Aos humanos, existe a possibilidade de transmissão de *R. rickettsii* e *R. conorii*, agentes etiológicos da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas e do Mediterrâneo, respectivamente (ROZENTAL et al., 2002). Uma condição essencial para tal situação é o parasitismo humano por este carrapato, já relatado no Brasil e ocasionalmente em outras partes do mundo, especialmente no sul da Europa, Estados Unidos da América e América Central (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006). Segundo Uspensky (2009), *R. sanguineus* pode demonstrar, sob determinadas circunstâncias, agressividade aos humanos.

Estudos sugerem a influência do aquecimento global no comportamento dos carrapatos, favorecendo a ocorrência de casos de parasitismo humano e, por conseguinte, a transmissão de patógenos (PAROLA et al., 2008).

### **2.3 Controle de Ectoparasitos em Animais de Companhia**

Os programas que visam à eliminação bem sucedida de pulgas e carrapatos de animais de estimação e seus ambientes diferem em alguns aspectos e geralmente envolvem uma combinação de diferentes estratégias (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

As medidas de controle de ectoparasitos devem basear-se no conhecimento sobre a biologia e ecologia dos mesmos (FOURIE; KOK; PETER, 2000). Portanto, A adoção de medidas utilizando-se produtos químicos no animal e/ou no ambiente somente deve ser empregada após utilização de métodos de prevenção cujo objetivo é criar condições desfavoráveis ao desenvolvimento de populações de pulgas e carrapatos (PEREIRA, 2012).

Deste modo, um programa eficiente de controle de pulgas e carrapatos deve visar não somente a eliminação dos parasitos dos animais de estimação, mas também do ambiente. Segundo Dantas-Torres (2010), a população de carrapatos fora do hospedeiro é muito maior que aquela encontrada sobre ele. Quanto às pulgas, estima-se que 95% da população encontrem-se no ambiente, enquanto que somente 5% estão efetivamente sobre os animais (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

### 2.3.1 Controle de *Ctenocephalides felis felis*

Tradicionalmente, acredita-se que um controle eficaz de pulgas deve envolver não somente o tratamento do animal infestado, mas também o de todos os animais contactantes, bem como a realização de um completo controle ambiental, seja química ou mecanicamente. Os lugares onde o animal passa a maior parte de seu tempo terão o maior número de ovos depositados e por este motivo, as medidas de controle devem ser concentradas nesses locais.

Cabe ressaltar, dentro desse contexto, que sem a eliminação das fases imaturas em desenvolvimento e das pulgas recém-emergidas no meio ambiente, é improvável que qualquer programa de controle seja bem sucedido (DRYDEN; NEAL; BENNETT, 1989). Para tanto, a adoção de medidas tais como limpeza constante do ambiente, uso de aspiradores de pó nos tapetes, almofadas, móveis e lavagem da cama utilizada pelos animais poderá diminuir a população de formas imaturas e eventualmente de adultos recém-emergidos de *C. f. felis* (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Além disso, pode-se fazer uso de pentes apropriados ou ainda da catação manual para o controle mecânico das pulgas adultas (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Segundo Dryden e colaboradores (1989), nos ambientes, o controle mecânico deve preceder o uso de qualquer inseticida. Vários compostos podem ser utilizados para o tratamento ambiental, porém, sua eficácia vai depender de fatores tais como temperatura, umidade, taxas de aplicação, formulação, material da superfície a ser tratada e cepa da pulga. No entanto, de acordo com Rust (2005), com a descoberta e introdução no mercado de novos compostos inseticidas, ocorrida nos últimos anos, somente o tratamento do animal infestado pode ser suficiente para um completo controle de *C. f. felis*.

### 2.3.2 Controle de *Rhipicephalus sanguineus*

Da mesma forma que ocorre com as pulgas, falhas nos programas de controle de *R. sanguineus* são atribuídas, muitas vezes, a uma compreensão inadequada da biologia e ecologia do parasito (DRYDEN, 2009).

O controle de carrapatos e das doenças a eles associadas é complexo, devido à capacidade destes parasitarem múltiplas espécies, à permanência de fases imaturas no ambiente e à sua alta capacidade reprodutiva. As infestações podem ser controladas pela utilização de acaricidas, visando eliminar larvas ninfas e adultos dos hospedeiros e de seus recintos (DRYDEN; PAYNE, 2004).

O controle mecânico de carrapatos, com a remoção manual dos mesmos, só é eficaz se o animal apresentar poucos parasitos sobre o corpo (HABIF, 1996). Enquanto que a eliminação eficaz de grandes populações de carrapatos exige uma estratégia de controle integrado, de modo a proporcionar uma queda efetiva das populações-alvo, com o uso de abordagem que incluem o uso de métodos químicos e não-químicos (DANTAS-TORRES, 2008).

Como somente 5% dos carrapatos encontram-se sobre o hospedeiro, o uso de acaricidas no ambiente, no qual o cão vive, faz-se, muitas vezes, necessário. Todavia, a eficácia do tratamento ambiental dependerá de fatores, tais como: grau de infestação, a presença de infestações em áreas vizinhas, o efeito residual do acaricida e das condições ambientais (DANTAS-TORRES, 2008).

Para o tratamento de cães, estão disponíveis no mercado diversos grupamentos químicos, nas mais variadas formas de aplicação, tais como sprays, sabonetes, shampoos, coleiras impregnadas, imersões, e formulações em pó e “spot-on” (GARRIS, 1991). Em

geral, o uso de ectoparasiticidas em cães é eficaz para eliminar as infestações e para evitar reinfestações durante um determinado período de tempo. Portanto, a frequência necessária de tratamento vai depender do grau de infestação e da duração do efeito residual do acaricida (DANTAS-TORRES, 2008).

Diversos estudos apontam para uma nova perspectiva no controle de *R. sanguineus*. Dentre eles estão o uso de produtos naturais (e.g. extrato de nim) ou ainda controle biológico através de fungos entomopatogênicos (e.g. *Metarhizium* sp.) (GARCIA; MONTEIRO; SZABÓ, 2004; KIRKLAND; WESTWOOD; KEYHANI, 2004; DE LA FUENTE; KOCAN, 2006; DE LA FUENTE et al., 2006; FERNANDES et al., 2010; FERNANDES; BITTENCOURT; ROBERTS, 2012; PERINOTTO et al., 2012).

O desenvolvimento de vacinas efetivas contra *R. sanguineus*, no entanto, progride lentamente (NUTTALL et al., 2006). Segundo Dantas-Torres (2008), isto se deve a aparente inabilidade dos cães em desenvolver imunidade contra carrapatos e ao elevado custo do desenvolvimento deste tipo de pesquisa.

### **2.3.3 Inseticidas e acaricidas tópicos usados no controle de ectoparasitos em animais de companhia**

O tratamento e prevenção de infestações por ectoparasitas em animais de companhia envolvem o uso ocasional ou regular de antiparasitários tópicos. Este é considerado o principal segmento do mercado farmacêutico pet, movimentando bilhões de dólares anuais (ROTHEN-WEINHOLD; DAHN; GURNY, 2000; CAPANEMA et al., 2007).

Historicamente, as formulações para o controle de ectoparasitas (i.e. xampus, talcos, spray, etc), atuavam por, no máximo, alguns dias, já que eram inevitavelmente removidos pelos animais (e.g. pelo fato de se lamberem) ou ainda lavados pela chuva ou banho. No entanto, nas últimas décadas, foram desenvolvidos novos métodos para prolongar a liberação de agentes terapêuticos por maiores períodos de tempo, sendo estes produtos, em sua maioria, destinados aos animais de companhia (ROTHEN-WEINHOLD; DAHN; GURNY, 2000).

Aos grandes animais, esta tecnologia é encontrada sob a forma de brincos impregnados. Dentre as apresentações disponíveis para animais de companhia, os produtos que apresentam maior eficácia residual são as coleiras impregnadas e os produtos “spot-on”. As coleiras possuem como vantagens a fácil aplicação e longo período de eficácia, dependendo do ativo utilizado. A base principal desta tecnologia é a incorporação de uma substância ativa numa matriz plástica. A incompatibilidade entre o plástico e o fármaco, líquido e/ou sólido, força a substância ativa a migrar para a superfície da coleira, permitindo que seja disponibilizada na pele e no pelo do animal, eliminando assim os parasitas. A principal desvantagem deste tipo de produto é a necessidade de dias para se obter uma alta eficácia (ROTHEN-WEINHOLD; DAHN; GURNY, 2000; ESTRADA-PEÑA; RÈME, 2005).

Por sua vez, os produtos “spot-on” consistem em pequenos volumes de uma solução com elevada concentração, aplicados diretamente sobre o dorso do animal e que fornecem proteção por pelo menos um mês. A capacidade de permanência destes produtos depende exclusivamente das propriedades das substâncias ativas e dos excipientes que promovem a aderência do fármaco à pele, resistindo inclusive à chuva e banhos. As vantagens dos produtos “spot-on” incluem a velocidade com que iniciam sua atividade ectoparasiticida e a facilidade de aplicação (ROTHEN-WEINHOLD; DAHN; GURNY, 2000; TANCREDI, 2009; BEUGNET; FRANC, 2012)

Os medicamentos ectoparasiticidas evoluíram não somente na forma com que são aplicados, mas também a partir da descoberta de novos princípios ativos. Grupos

químicos tradicionais (e.g. organofosforados e carbamatos) foram superados por novos compostos, que incluem os neonicotinóides, oxadiazinas, spinosinas e os RCA's (TAYLOR, 2001; BEUGNET; FRANC, 2012). Estes novos grupos proporcionam não somente uma atividade inseticida/acaricida satisfatória, mas também apresentam menor toxicidade aos mamíferos, sendo por isso, considerados mais seguros (HOVDA; HOOSER, 2002).

Dentre os novos grupamentos, encontram-se os fenilpirazóis, uma classe inseticida/acaricida conhecida desde 1985 (SALGADO; SCHNATTERER; HOLMES, 2012). Sua atividade inseticida foi descoberta independentemente pela Bayer Ag e pela May&Baker, uma subsidiária da Rhône-Poulenc Ag Company (posteriormente Bayer CropScience), responsável pelo lançamento do fipronil, como praguicida agrícola em 1993. Desde 2003, no entanto, a BASF detém os direitos sobre a patente para a produção e venda de produtos a base de fipronil em muitos países. Contudo, no Brasil, pode ser encontrado em produtos ectoparasiticidas disponibilizados pela Merial (e.g. Frontline®, Topline®) e pela CEVA Santé Animale (Fiprolex®) (SCHNATTERER, 2012; TINGLE et al., 2003).

Seu uso agrícola está licenciado para uso em culturas de algodão, arroz, eucalipto, soja, amendoim, cevada, feijão, milho, pastagens, sorgo, trigo, cana-de-açúcar e batata (BRASIL, 2012a), sendo encontrado em produtos praguicidas ofertados pela BASF (Regent® 800 WG e Standak® Top), Ourofino (SingularBR®), Nortox (Fipronil Nortox® 800 WG), dentre outras. Tem ainda aplicação domissanitária, sendo comercializadas sob a forma de iscas formicidas, por empresas tais como a BASF (Blitz® NA) e Citromax (Formixax®) ou ainda como preservantes de madeira, pela BASF (Plydor® 200 SC e Termidor® 25 CE).

O piriprol, outra molécula da classe dos fenilpirazóis, foi recentemente inserida no mercado brasileiro, destinado à animais de companhia, pela Novartis (Prac-tic®). O grupo dos fenilpirazóis conta ainda com outras moléculas, tais como Etiprole, Vaniliprole, Acetoprole, Pirafluprole e Flufiprole, das quais somente a primeira encontra-se no mercado brasileiro (Curbix® 200 SC - Bayer CropScience), sendo, no entanto, destinada ao combate de pragas em culturas de cana-de-açúcar e arroz, estando as demais ainda em fase de pesquisa e desenvolvimento (SCHNATTERER, 2012).

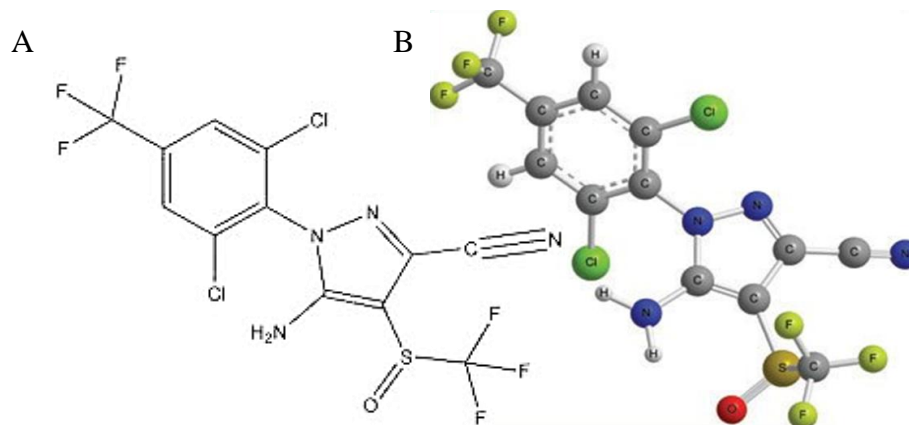
### 2.3.3.1 Fipronil

O fipronil (5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluormetil) fenil]-4-[(trifluormetil) sulfinil]-1Hpirazol-3-carbonitrila) é a mais reconhecida e importante molécula do grupo dos fenilpirazóis (TINGLE et al., 2003). Sua estrutura química encontra-se representada na Figura 3.

Trata-se de um inseticida e acaricida de largo espectro, comercializado para uso no controle de pragas agrícolas (e.g. lepidópteros, ortópteros, coleópteros, etc), baratas, formigas, e para o controle de ectoparasitos de animais domésticos e de produção (e.g. pulgas, carrapatos, piolhos e ácaros) (TINGLE et al., 2003).

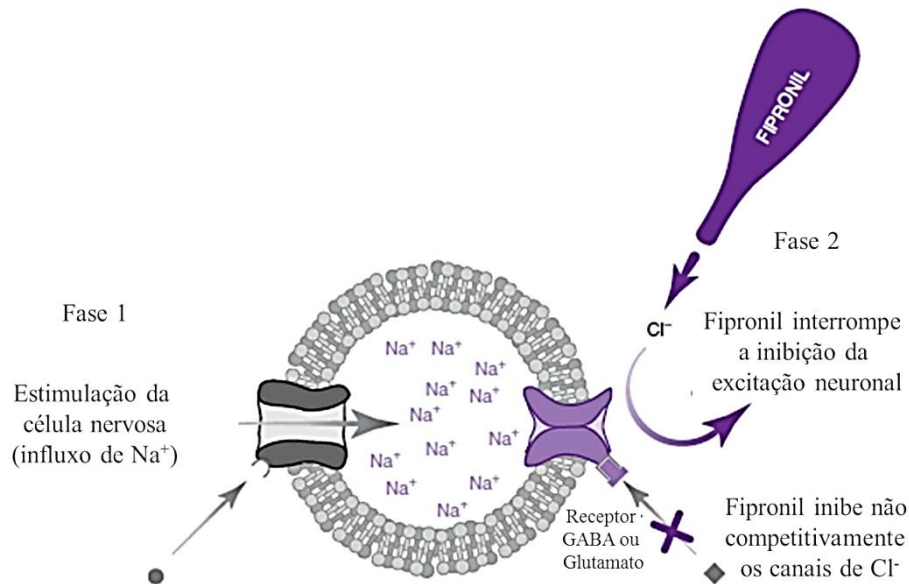
Seu modo de ação não segue as mesmas vias bioquímicas dos ectoparasiticidas clássicos (e.g. bloqueadores de canais de sódio e inibidores da colinesterase), aos quais já houve desenvolvimento de resistência (AAJOURD; RAVANEL; TISSUT, 2003; GUNASEKARA; TROUNG, 2007). Ele atua interferindo nos canais de cloro conectados a receptores do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central de insetos e mamíferos. Ao inibir não-competitivamente a ligação deste neurotransmissor, bloqueia consequentemente a abertura dos canais e influxo do íons cloreto (Cl<sup>-</sup>) nos nervos (Figura 4). Tal ação acarreta em excitação neural excessiva, paralisia severa e morte do artrópode (BLOOMQUIST, 1996, 2003; AAJOURD; RAVANEL; TISSUT, 2003; BEUGNET; FRANC, 2012;; CASIDA; DURKIN, 2013).





**Figura 3:** Estrutura Química do Fipronil. A: fórmula esquelética; B: fórmula de bolas e varetas. Adaptado de Jackson et al. (2009).

Quando aplicado sobre os animais para controle de ectoparasitos, o fipronil possui ampla margem de segurança clínica. Devido, principalmente a diferenças estruturais entre receptores GABA de invertebrados e mamíferos, exibe especificidade bem maior pelos receptores de insetos, sendo, portanto, bem menos tóxico para seus hospedeiros. Além disso, sua biodisponibilidade no plasma, quando aplicado topicamente, atinge um máximo de 5%, devido à permeabilidade limitada através do estrato córneo. Isso significa que a hipótese de toxicidade sistêmica é reduzida (HAINZL; CASIDA, 1996; PAYNE et al., 2001; HOVDA; HOOSER, 2002; BRAYDEN, 2003).



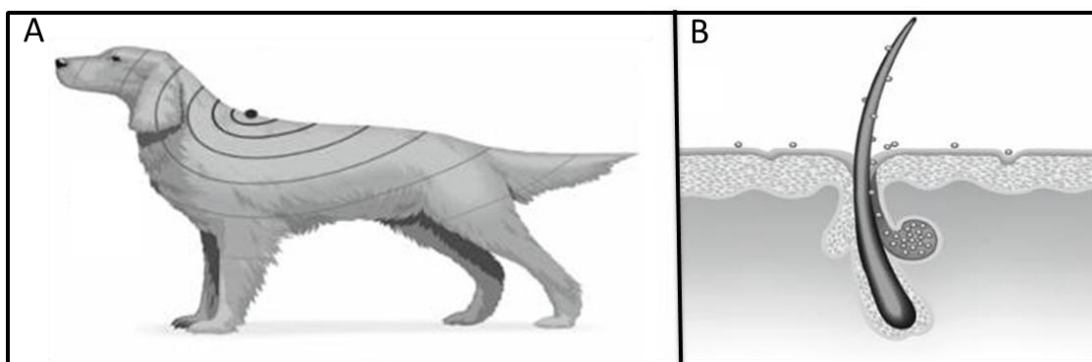
**Figura 4.** Modo de ação do fipronil. Adaptado de Beugnet e Franc (2012).

Mais recentemente foi descoberto que o fipronil inibe também a abertura dos canais de cloro vinculados a receptores de glutamato, os quais estão presentes nos invertebrados, porém não nos mamíferos, o que também pode explicar a maior toxicidade desta molécula aos insetos quando comparada a seus hospedeiros vertebrados (RAYMOND; SATTELLE, 2002; NARAHASHI et al., 2010).

Existem no mercado brasileiro alguns produtos à base de fipronil destinados ao controle de ectoparasitos em animais domésticos. Dentre eles destacam-se o Frontline® Top Spot™, Frontline® Spray™ (Merial), Effipro® (Virbac Saúde Animal) e Fiprolex® Drop Spot™ (CEVA Santé Animale), destinados a cães e/ou gatos. Existe disponível também em associação com outras bases, como um análogo do hormônio juvenil dos insetos, o metoprene (Frontline® Plus Top Spot™: Merial), assim como na união deste último com uma formamidina, o amitraz (Certifect™: Merial). Ainda não disponível no mercado nacional, existe ainda em combinação com a permetrina, uma molécula com elevado poder repelente, pertencente à classe dos piretróides (Effitix® Topical Solution for Dogs™: Virbac Animal Health).

Os produtos “spot-on” contendo fipronil utilizam um sistema de disponibilização de droga altamente sofisticado, com base no princípio de liberação controlada para o meio de dispersão (i.e. secreções sebáceas). A droga é sequestrada pelas glândulas sebáceas na pele do animal (Figura 5B), sendo gradualmente liberada a partir destes reservatórios, durante um período de tempo, em concentrações suficientemente elevadas para matar os ectoparasitos (DENENBERG; BUNCH, 2000; BRAYDEN, 2003; DRYDEN).

Em um estudo utilizando fipronil marcado radioativamente, aplicado em cães beagle via tópica (“spot-on”), Cochet et al. (1997) provaram que este se concentra na camada de queratinócitos e ainda que foi possível detectar sua presença em locais distantes do local de aplicação, o que confirma a baixa biodisponibilidade e indica a propagação da droga através da superfície corporal do animal. A difusão do fipronil a partir de seu local de aplicação (Figura 5A) é atribuída a um processo chamado translocação, que consiste numa difusão passiva através das secreções sebáceas presentes nos pelos e na pele (TANNER et al., 1997).



**Figura 5.** A: Migração do fipronil a partir do local de aplicação; B: Distribuição das moléculas de fipronil na glândula sebácea e sobre a pele e pelos. Adaptado de FISCHETTI (2001).

Numerosos estudos realizados em diversas partes do mundo apontam a elevada eficácia pulicida e carrapaticida do fipronil quando aplicado topicamente em cães.

Em estudo realizado a campo, com cães naturalmente infestados por *C. felis felis*, visando comparar a eficácia entre fipronil e imidacloprid no controle de pulgas, Dryden, Denenberg e Bunch (2000) obtiveram eficácia superior à 95% por um período de até 90 dias com o tratamento *spot-on* a base de fipronil à 10%.

Em 2004, Young, Jeannin e Boeckh compararam a eficácia adulticida de soluções contendo fipronil (10%), metoprene (9%) ou a combinação de ambos contra *C. felis* em cães experimentalmente infestados com 200 exemplares adultos. Eficácias residuais superiores à 95% foram obtidas por ambas as soluções que continham fipronil por até cinco semanas.

A influência do banho sobre a eficácia residual do fipronil contra *C. felis felis* e *R. sanguineus* foi avaliada por Tancredi (2009), ao submeter cães experimentalmente infestados e tratados com fipronil à banho único ou semanal. Não foi evidenciada influência negativa do banho sobre a eficácia pulicida e carrapaticida por um período de 21 dias no grupo banhado semanalmente e por até 42 dias no grupo submetido à banho único.

Bonneau et al. (2010) compararam a eficácia contra *C. f. felis* de dois produtos comerciais (Effipro® e Frontline®), ambos na forma “spot-on” contendo 10% de fipronil em suas formulações, diferindo apenas nos veículos empregados nas formulações (não especificados pelos autores). O Effipro® manteve níveis satisfatórios (>95%) de ER por um período de 14 dias a mais que o Frontline®, sendo este de 93 e 79 dias, respectivamente.

Em 2011, um estudo realizado por Beugnet et al. visando comparar a eficácia da associação de fipronil com metoprene com o tratamento oral a base de spinosad demonstrou que a eficácia pulicida (*C. f. felis*) da associação do fipronil com metoprene foi de 100% por até seis semanas, sendo superior a eficácia do tratamento oral com spinosad, o qual apresentou eficácia satisfatória somente até o vigésimo segundo dia pós-tratamento.

Mais recentemente, Tiawsirisup et al. (2013) realizaram estudo na Tailândia visando mensurar a eficácia do fipronil aplicado topicamente contra a cepa local de *R. sanguineus*, obtendo ER acima de 90% por até 28 dias em cães experimentalmente infestados.

Em estudo realizado com cães naturalmente infestados da região amazônica brasileira, Fischer et al. (2013) obtiveram 42 dias de eficácia residual superior à 90% contra *R. sanguineus* com o tratamento tópico com solução de fipronil à 10%.

Em estudo realizado simultaneamente na África do Sul e na Irlanda, comparando-se a eficácia do Frontline® com uma nova formulação comercial a base de fipronil, o Eliminall®, no controle de diversos ectoparasitos em cães sem raça definida (SRD), Kužner et al. (2013) obtiveram ER satisfatória (>95%) para pulgas (*C. felis*) por até oito semanas, para ambos os produtos.

Coelho (2012) verificou ainda que não houve diferença significativa na eficácia do fipronil administrado topicamente, entre cães infestados com 100 ou 300 exemplares de *C. f. felis*, sugerindo a não interferência da carga parasitária sobre a eficácia ectoparasiticida residual do fipronil.

A eficácia de uma formulação oral de fipronil foi avaliada por Melo et al. (2012), para o controle de *C. f. felis* e *R. sanguineus* em cães. Os resultados indicaram não haver eficácia do fipronil fornecido oralmente contra carrapatos. Contudo, para pulgas, uma eficácia superior a 95% foi verificada, tendo sido alcançada, no entanto, somente até o sétimo dia pós-tratamento.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Aspectos Éticos

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

### 3.2 Localização do Estudo

O presente estudo foi executado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado às margens da BR-465, Km 07, dentro do município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

### 3.3 Seleção, Alojamento e Manejo dos Animais

Foram selecionados 24 cães (*Canis familiaris*), pertencentes à raça beagle, sendo 16 machos e oito fêmeas, com peso variando entre dez e 16 quilogramas e idade superior a um ano. Todos os animais foram submetidos a exames clínicos e laboratoriais para avaliação do estado sanitário, sendo incluídos no ensaio somente animais hígidos. Todos estavam devidamente vacinados e foram vermifugados antes do início do experimento. Para identificação, cada animal recebeu um “transponder”, implantado no tecido subcutâneo na região entre as escápulas.

Cada animal permaneceu alojado em baia individual de alvenaria com piso cimentado, medindo 2,25m<sup>2</sup> e 2,00m de altura, cobertos com telha de amianto e de PVC transparente, permitindo a entrada de luz solar. As baias foram lavadas diariamente e semanalmente submetidas à vassoura de fogo, visando manter o ambiente limpo e livre de formas evolutivas de parasitos, respectivamente. Cada cão recebeu diariamente 300g de ração comercial<sup>1</sup> e água *ad libitum* em comedouros e bebedouros individuais de plástico, higienizados diariamente com água e sabão neutro.

### 3.4 Manutenção das Colônias dos Ectoparasitos Utilizados nos Testes

#### 3.4.1 Colônia de *Ctenocephalides felis felis*

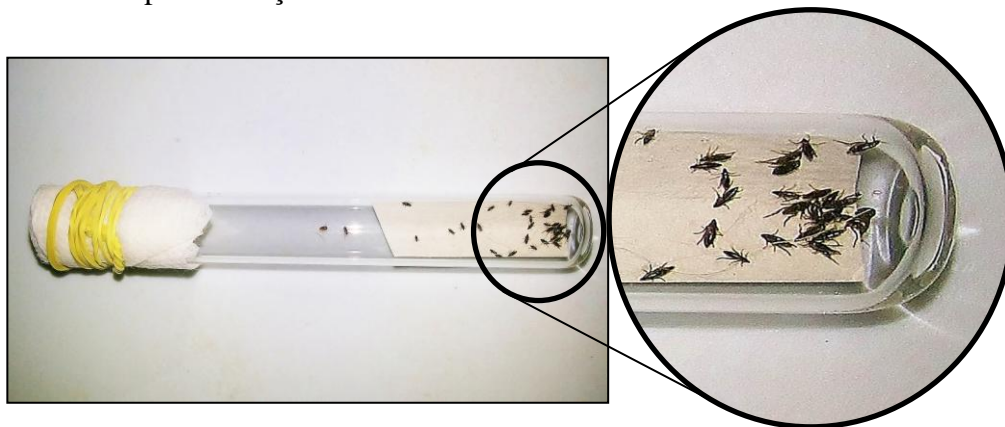
Os exemplares adultos da pulga *C.felis felis* e do carrapato *R. sanguineus* utilizados no ensaio foram provenientes de colônias mantidas a mais de uma década nas dependências do LQEPV, sem a reintrodução externa de ectoparasitos oriundos do ambiente e/ou outros animais.

A colônia de pulgas é mantida utilizando-se gatos domésticos (*Felis catus*) infestados semanalmente com 50 casais de pulgas adultas não alimentadas. Nos gatos, as pulgas adultas se alimentam, acasalam-se, e os ovos originados caem sobre uma bandeja localizada no fundo das gaiolas. Diariamente, com auxílio de um pincel, o material retido nas bandejas (areia, pelos, fezes de pulgas adultas e os ovos) é retirado das bandejas, peneirado e colocado em

---

<sup>1</sup> Spike® Carne, Frango e Vegetais, Cães Adultos, Farmina.

potes plásticos adaptados para manutenção das formas imaturas de pulgas mantidos em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.), a  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $75\pm 10\%$  de umidade relativa (UR). A partir de 30 dias as pulgas adultas podem ser retiradas desses potes e separadas em tubos de ensaio vedados com tecido não tecido (TNT) (Figura 6), sendo destinadas a infestação dos gatos da colônia, para manutenção da mesma, ou para infestação dos animais em experimentação.



**Figura 6.** Tubo de ensaio, fechado com TNT, contendo 50 casais de *Ctenocephalides felis felis* apoiados em tira de papel filtro.

### 3.4.2 Colônia de *Rhipicephalus sanguineus*

A colônia de carrapatos por sua vez é mantida segundo metodologia proposta por Cunha (1978) e Neitz et al. (1971), utilizando-se coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) como hospedeiros das fases imaturas. Após o repasto sanguíneo ocorrido durante as fases de larva e ninfa, os carrapatos se destacam do hospedeiro sendo então coletados e acondicionados em seringas lacradas com rolha de algodão em B.O.D. com temperatura de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $75\pm 10\%$ , para que realizem a muda.

Após acasalamento e repasto sanguíneo realizado na fase adulta, as fêmeas ingurgitadas, denominadas teleóginas, destacam-se do hospedeiro, sendo coletadas e acondicionadas em placas de petri mantidas em B.O.D., nas condições descritas acima, para que realizem a postura dos ovos. Após a postura, as teleóginas morrem e os ovos são pesados e acondicionados em seringas mantidas em B.O.D. até a eclosão das larvas, que podem então ser usadas para continuidade da manutenção da colônia.

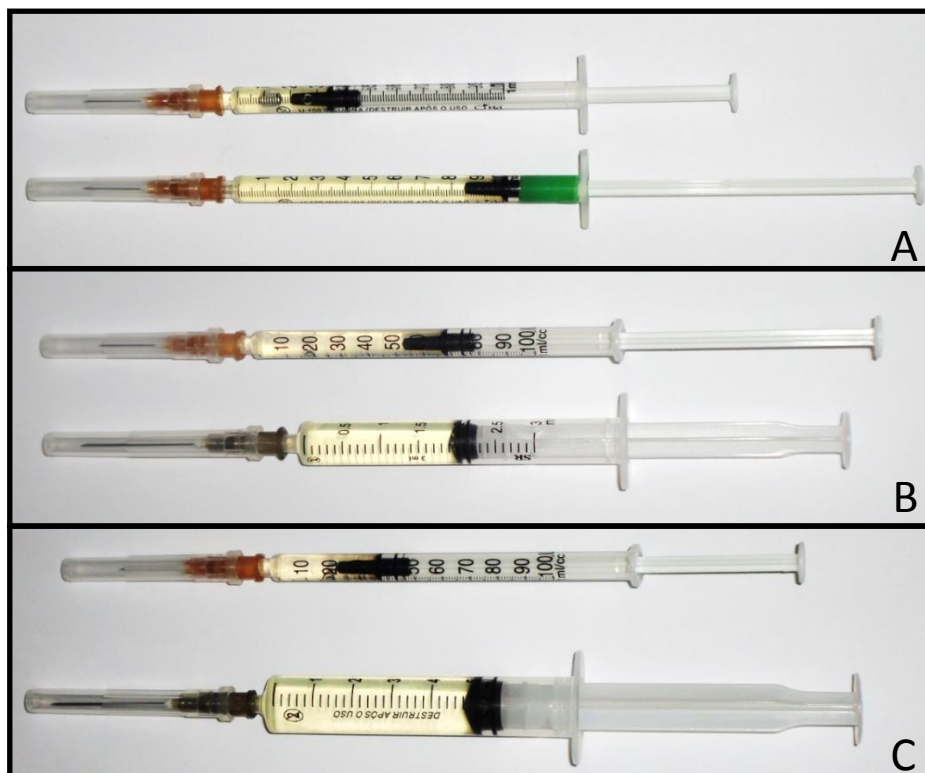
Para as infestações realizadas nos ensaios de eficácia, são utilizados carrapatos adultos não alimentados, oriundos de seringas onde ninfas ingurgitadas realizaram muda. Para cada animal a ser infestado foram separados manualmente 25 casais, sendo acondicionadas em seringas com rolha de algodão (Figura 7) até o momento da infestação.



**Figura 7.** Seringa de plástico vedada com rolha de algodão contendo 25 casais de *Rhipicephalus sanguineus*.

### 3.5 Preparo das Soluções Experimentais

No dia do tratamento (dia 0), as soluções de fipronil testadas foram manipuladas no Setor de Farmacomетria do LQEPV, pelos farmacêuticos responsáveis. Os excipientes utilizados foram baseados em uma formulação<sup>2</sup> à base de fipronil disponível no mercado brasileiro. As concentrações de cada ingrediente utilizado nas soluções encontram-se disponíveis na Tabela 1. Para a mensuração dos ingredientes foi utilizada balança analítica<sup>3</sup>, devidamente calibrada e para completa solubilização dos mesmos foi utilizado banho ultrassônico<sup>4</sup>. Após preparadas, as formulações foram distribuídas em seringas plásticas estéreis, em volume correspondente ao grupo experimental (Figura 8).



**Figura 8.** Seringas plásticas com a quantidade administrada das soluções teste. **A:** 1,34 mL de fipronil 10%; **B:** 2,68 mL de fipronil 5%; **C:** 5,36 mL de Fipronil 2,5%.

<sup>2</sup> Frontline® Topspot™, Merial Saúde Animal - Brasil

<sup>3</sup> Tecnal. Modelo: B-TEC-210A

<sup>4</sup> Unique. Modelo: USC-2800

**Tabela 1.** Fórmula das soluções de fipronil empregadas no experimento.

Ingrediente	Soluções-Teste		
	A	B	C
Fipronil	10%	5%	2,5%
Polivinilpirrolidona	5%	5%	5%
Polissorbato 80	5%	5%	5%
Butilhidroxitolueno	0,00875%	0,00875%	0,00875%
Álcool Isopropílico	q.s.p.100%	q.s.p.100%	q.s.p.100%

### 3.6 Delineamento Experimental do Teste de Eficácia

Catorze dias antes do tratamento com as soluções teste (dia -14), os cães selecionados foram submetidos a exame clínico geral para verificação do estado de saúde dos mesmos. Foram coletadas amostras de sangue para realização de exames laboratoriais. Nesta mesma data, os animais foram banhados com xampu neutro, vermifugados<sup>5</sup> e alojados nas baias de alvenaria para que se adaptassem ao ambiente experimental.

No dia -7 todos os cães sofreram uma inspeção minuciosa para constatar a ausência de pulgas e carrapatos. Eventuais ectoparasitos encontrados foram retirados e fixados em álcool 70°GL. Após constatar a ausência de ectoparasitos, cada cão foi infestado com 25 casais de *R. sanguineus* adultos não alimentados. Quarenta e oito horas após (dia -5) todos os animais foram novamente inspecionados, com a retirada e contagem dos carrapatos.

Posteriormente os animais foram distribuídos nos grupos experimentais, com base em três critérios: o número de carrapatos recuperados na contagem preliminar, o sexo e o peso dos cães, de modo que não houvesse diferença significativa ( $p>0,05$ ), por Análise de Variância, entre os grupos, nas médias destes parâmetros. A divisão dos grupos, bem como os dados referentes aos itens utilizados para tal encontram-se na Tabela 4.

Quarenta e oito horas antes do tratamento, cada animal foi infestado com 50 casais de *C.felis felis* e 25 casais de *R. sanguineus*, e cada cão foi contido manualmente por cerca de dez minutos após a infestação para assegurar que os parasitos pudessem fixar-se firmemente à pele e/ou pelos do animal, evitando que fossem removidos mecanicamente pelos mesmos.

No dia zero procedeu-se o tratamento dos animais com as soluções-teste formuladas. Cada animal, de acordo com seu grupo experimental, recebeu a formulação via *pour-on*, sendo esta aplicada no dorso do cão diretamente sobre a pele, no sentido contrário ao pelo, numa linha entre o pescoço e o espaço interescapular. O grupo controle não sofreu qualquer tipo de tratamento. As concentrações e volumes das soluções de fipronil administradas nos cães de cada grupo experimental encontram-se na Tabela 2.

Quarenta e oito horas após o tratamento (dia +2) e após cada infestação subsequente foi realizada a avaliação da eficácia imediata (EI) das formulações, realizadas através da remoção e contagem dos ectoparasitos dos animais. A retirada das pulgas se deu com o auxílio de pente fino próprio (método “comb test”), com aproximadamente 13 dentes por centímetro linear. Enquanto para remoção dos carrapatos, além do método “comb test” lançou-se mão da inspeção visual e remoção manual. Todos os ectoparasitos removidos foram

<sup>5</sup> Drontal® Plus Cães, Bayer Saúde Animal. Dose: 66mg/Kg.

fixados em álcool 70°GL. Para o cálculo da eficácia residual (ER) das formulações teste, foram realizadas infestações semanais (dias +5, +12, +19, +26, +33 e +40), com as avaliações sendo realizadas sempre após 48 horas (dias +7, +14, +21, +28, +35 e +42).

**Tabela 2.** Divisão dos cães nos grupos de acordo com o peso, sexo e contagem preliminar de carrapatos. Concentração e volume de solução de fipronil recebido por cada grupo.

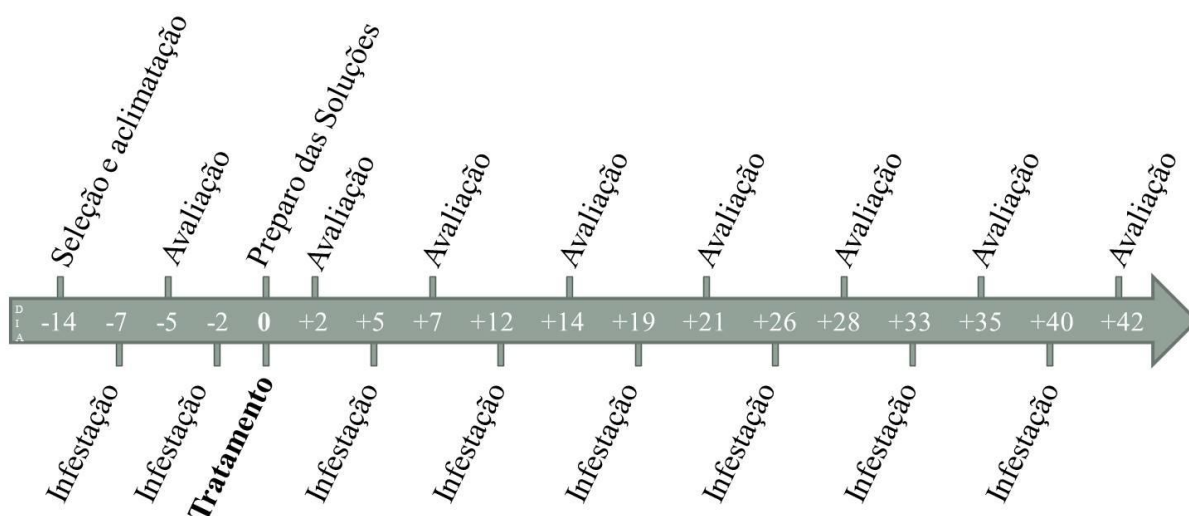
Grupo/Animal	Sexo	Peso (Kg)	Contagem <sup>1</sup>	Concentração de Fipronil	Volume (mL)
<b>Grupo Controle</b>					
420437	M <sup>2</sup>	15,50	29	-	-
594131	M	14,80	36	-	-
019140	F <sup>3</sup>	11,55	36	-	-
605101	F	10,50	40	-	-
393776	M	14,00	39	-	-
066646	M	11,40	27	-	-
<b>Média<sup>4</sup> ± DP<sup>5</sup></b>		<b>12,96<sup>a</sup> ± 2,07</b>	<b>34,50<sup>a</sup> ± 5,32</b>		
<b>Grupo Tratado A</b>					
044450	M	11,30	38	10 %	1,34
394675	M	13,45	35	10 %	1,34
604916	M	11,60	43	10 %	1,34
595878	F	11,90	31	10 %	1,34
044298	F	10,10	36	10 %	1,34
249437	M	13,05	29	10 %	1,34
<b>Média ± DP</b>		<b>11,90<sup>a</sup> ± 1,22</b>	<b>35,33<sup>a</sup> ± 5,01</b>		
<b>Grupo Tratado B</b>					
405662	M	12,30	32	5 %	2,68
425403	M	11,90	41	5 %	2,68
415998	F	12,65	43	5 %	2,68
604590	F	10,05	31	5 %	2,68
044103	M	12,30	35	5 %	2,68
235920	M	11,25	36	5 %	2,68
<b>Média ± DP</b>		<b>11,74<sup>a</sup> ± 0,96</b>	<b>36,33<sup>a</sup> ± 4,80</b>		
<b>Grupo Tratado C</b>					
044210	M	12,40	41	2,5 %	5,36
419834	F	11,70	32	2,5 %	5,36
103476	F	14,20	45	2,5 %	5,36
274848	M	13,30	36	2,5 %	5,36
035750	M	11,10	33	2,5 %	5,36
250590	M	11,85	32	2,5 %	5,36
<b>Média ± DP</b>		<b>12,42<sup>a</sup> ± 1,14</b>	<b>37,67<sup>a</sup> ± 5,09</b>		

<sup>1</sup>Número de *R. sanguineus* vivos e fixados recuperados na contagem realizada cinco dias antes do tratamento; <sup>2</sup>Macho; <sup>3</sup>Fêmea; <sup>4</sup>Média Aritmética; <sup>5</sup>Desvio Padrão; <sup>a</sup> Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si pela Análise de Variância (p>0,05).

Toda metodologia empregada nos testes de eficácia foi baseada nos guias da Associação Mundial para Avanço da Parasitologia Veterinária (MARCHIONDO et al., 2007, 2013).

O cronograma de atividades relacionadas ao tratamento, às infestações e avaliações da eficácia pode ser visualizado na Figura 9.





**Figura 9.** Cronograma do tratamento, das infestações e avaliações de eficácia das soluções teste contra *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*.

### 3.7 Análise das Concentrações das Soluções Experimentais

Inicialmente, a partir de uma substância química de referência adquirida comercialmente, foram preparadas cinco soluções-padrão de fipronil, com diferentes concentrações (1, 10, 50, 100 e 150 µg/mL). Estas soluções foram submetidas à análise em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência<sup>6</sup> (CLAE) e os resultados obtidos de cada solução (área sobre a curva) possibilitaram a obtenção de uma curva de calibração, cuja fórmula permitiu calcular a concentração das soluções-teste.

De cada solução-teste preparada foi separada uma amostra destinada à análise laboratorial para confirmação da concentração de fipronil. As análises foram realizadas por CLAE no setor de farmacometria do LQEPV.

Para minimizar a possibilidade de erros e desvios, cada amostra foi dividida em três alíquotas, cada qual foi submetida à análise em duplicata.

A Figura 10 representa a curva de calibração obtida por meio da análise das soluções-padrão. A equação da reta obtida foi  $y = 0.3635x + 0.8865$  e o coeficiente de correlação  $r = 0,9981$ . O coeficiente de correlação “ $r$ ” pode variar de -1 a 1. Valores próximos a 1 indicam alta correlação positiva, valores próximos a -1 indicam alta correlação negativa, enquanto valores próximos a zero sugerem total falta de correspondência. Visto isso, o valor de correlação obtido ( $r = 0,9981$ ) indica que a equação obtida através da análise de soluções-padrão foi adequada para a análise das soluções.

Com a determinação da curva de calibração, foi possível calcular a concentração de uma amostra desconhecida, no caso, as soluções-teste A, B e C. Os resultados referentes às

<sup>6</sup>Sistema Cromatográfico: CLAE Dionex Ultimate 3000

Coluna: Sunfire – C18 (5µm) 150 x 4,6 mm

Fase móvel: Acetonitrila: Água (60:40, v/v)

Comprimento de onda: 220 nm

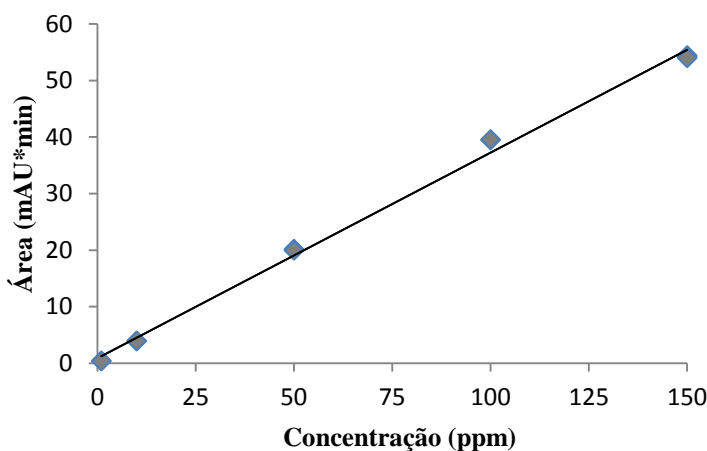
Fluxo: 1,40 mL/min

Volume de injeção: 10 µL

Temperatura: 25°C

Tempo de corrida: 10 minutos

análises realizadas por CLAE, frente à curva de calibração (Figura 10) encontram-se na Tabela 3.



**Figura 10.** Curva de calibração do padrão obtida através da análise das soluções-padrão de fipronil por cromatografia líquida de alta eficiência.

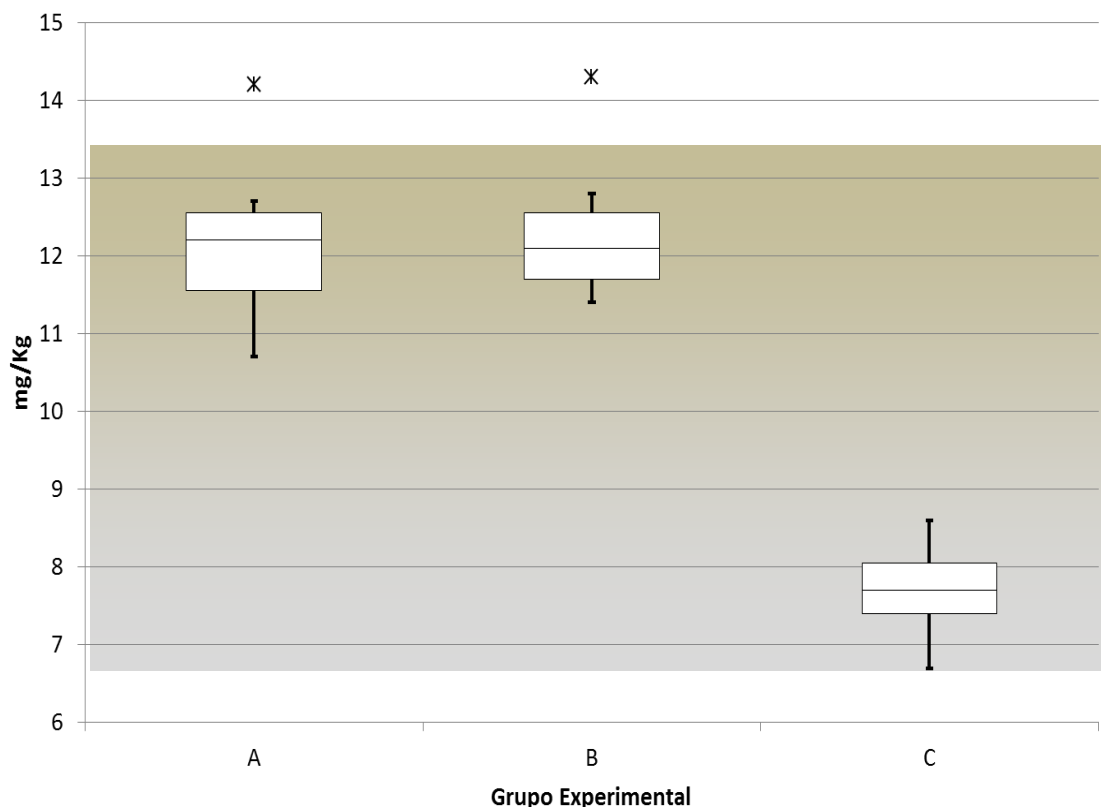
As soluções-teste A e B evidenciaram teores próximos aos almejados. A solução-teste C, no entanto, demonstrou ter somente 70,9% da concentração de fipronil esperada. Corrigidas pelos teores obtidos nas análises, as concentrações das soluções-teste A, B e C foram respectivamente: 10,74%, 5,36% e 1,77%.

**Tabela 3.** Teor de fipronil das soluções teste empregadas no estudo em análise realizada em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Solução-Teste	Alíquota	Repetição	Concentração (mg/mL)	Concentração Média (mg/mL)	Desvio Padrão	Teor (%)
<b>A (10%)</b>	1	1	98,50	107,37	6,91	<b>107,4</b>
		2	100,44			
	2	1	108,57			
		2	117,37			
	3	1	109,86			
		2	109,45			
<b>B (5%)</b>	1	1	51,44	53,62	3,76	<b>107,2</b>
		2	52,72			
	2	1	58,65			
		2	58,04			
	3	1	50,45			
		2	50,39			
<b>C (2,5%)</b>	1	1	14,46	17,71	2,89	<b>70,9</b>
		2	14,82			
	2	1	17,59			
		2	17,31			
	3	1	21,45			
		2	20,64			

As soluções-teste A (10% de fipronil) e B (5% de fipronil) evidenciaram teores próximos aos desejados (107,4% e 107,2% respectivamente), encontrando-se dentro dos limites de aceitação estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), segundo aponta o Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (FNFB) (BRASIL, 2012b), onde relata que os produtos farmacêuticos devem conter de 90% a 110% do teor esperado do princípio ativo. A solução-teste C (2,5% de Fipronil), no entanto, demonstrou ter somente 70,9% da concentração de fipronil almejada. Corrigidas pelos teores obtidos nas análises, as concentrações das soluções-teste A, B e C foram respectivamente: 10,7%, 5,3% e 1,8%.

Com estes valores, foram calculadas as doses de fipronil recebidas por cada cão, de modo a verificar se todos os animais tratados receberam a dose mínima recomendada na literatura, que é de 6,7 mg/Kg. Os resultados encontram-se na Tabela 4 e demonstram que a dose recebida por cada cão dos grupos tratados encontrava-se adequada, considerando-se o intervalo de doses da janela terapêutica do fipronil para cães (6,7mg/Kg – 13,4mg/Kg), apesar do teor menor que o esperado apresentado pela solução-teste C. A distribuição das doses recebidas pelos cães de cada grupo tratado encontram-se na Figura 11.



**Figura 11.** Distribuição da dose fornecida de fipronil (mg/Kg) por grupo experimental; A área demarcada representa janela terapêutica.

**Tabela 4.** Dose de fipronil esperada e recebida por cada cão.

<b>Grupo/Animal</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Dose Esperada (mg/Kg)</b>	<b>Teor do Produto</b>	<b>Dose Recebida (mg/Kg)</b>
<b>Grupo Controle</b>				
<b>420437</b>	15,50	-	-	-
<b>594131</b>	14,80	-	-	-
<b>19140</b>	11,55	-	-	-
<b>605101</b>	10,50	-	-	-
<b>393776</b>	14,00	-	-	-
<b>066646</b>	11,40	-	-	-
<b>Grupo Tratado A</b>				
<b>044450</b>	11,30	11,86		12,7
<b>394675</b>	13,45	9,96		10,7
<b>604916</b>	11,60	11,55	107,40%	12,4
<b>595878</b>	11,90	11,26		12,1
<b>044298</b>	10,10	13,27		14,2
<b>249437</b>	13,05	10,27		11,0
<b>Média:</b>	<b>11,90</b>	<b>11,36</b>		<b>12,2</b>
<b>Grupo Tratado B</b>				
<b>405662</b>	12,30	10,89		11,7
<b>425403</b>	11,90	11,26		12,1
<b>415998</b>	12,65	10,59	107,20%	11,4
<b>604590</b>	10,05	13,33		14,3
<b>044103</b>	12,30	10,89		11,7
<b>235920</b>	11,25	11,91		12,8
<b>Média</b>	<b>11,74</b>	<b>11,48</b>		<b>12,3</b>
<b>Grupo Tratado C</b>				
<b>044210</b>	12,40	10,81		7,7
<b>419834</b>	11,70	11,45		8,1
<b>103476</b>	14,20	9,44	70,90%	6,7
<b>274848</b>	13,30	10,08		7,1
<b>035750</b>	11,10	12,07		8,6
<b>250590</b>	11,85	11,31		8,0
<b>Média</b>	<b>12,43</b>	<b>10,86</b>		<b>7,7</b>

### 3.8 Cálculo da Eficácia e Análise de Dados

Para cada grupo medicado e para cada dia experimental, as eficácias pulguicida e carrapaticida foram calculadas com base na fórmula desenvolvida por Abbott (1925):

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{(m_c - m_t)}{m_c} \times 100$$

Onde:

$m_c$  = Número médio de pulgas vivas/carrapatos vivos e fixados recuperados no grupo controle;

$m_t$  = Número médio de pulgas vivas/carrapatos vivos e fixados recuperados no grupo tratado.

Para análise dos resultados dos ensaios de eficácia controlados, os números de pulgas e carrapatos recuperados nas avaliações foram transformados em  $\log_{10}(x + 1)$  e submetidos à análise de variância seguido do Teste de Tukey, quando as variâncias mostraram-se desiguais. O nível de significância considerado foi de 95% ( $p \leq 0,05$ ) (SAMPAIO, 1998). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico computacional BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2007).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Eficácia das Formulações Sobre *Ctenocephalides felis felis*

Os resultados referentes ao número de pulgas adultas vivas recuperadas nos animais durante o período experimental encontram-se na Tabela 6 e representados na Figura 12.

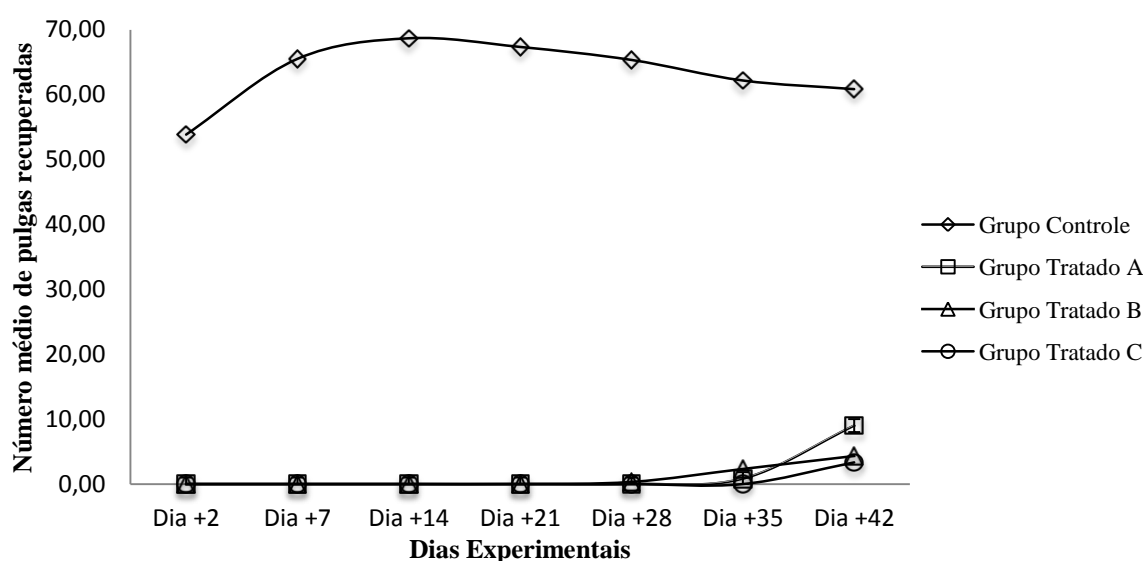
Na avaliação da EI e nas três avaliações subsequentes de ER, isto é, dias +2, +7, +14 e +21 pós-tratamento, não foram encontradas pulgas vivas nos três grupos tratados.

O grupo tratado A permaneceu isento de pulgas na quarta avaliação de ER (dia +28), tendo sido encontrada média inferior a uma pulga e superior à oito pulgas na quinta (dia +35) e sexta (dia +42) avaliações de ER, respectivamente. Foi encontrado número médio crescente de pulgas no grupo tratado B a partir do dia +28, recuperando-se mais de quatro por cento das pulgas depositadas na última avaliação de ER (dia +42). O grupo tratado C permaneceu isento de pulga até a quinta (dia +35) avaliação de ER, sendo encontrada média inferior a quatro pulgas por cão na última avaliação (dia +42).

Em todos os dias após o tratamento as médias dos grupos tratados diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) da média do grupo controle. Quando comparadas as médias entre os grupos tratados, as mesmas só diferiram significativamente na última avaliação (dia +42), quando o grupo tratado A e tratado C diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ). Os grupos tratado A e tratado B não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si em nenhum dia experimental.

A eficácia pulgicida do grupo tratado A permaneceu em 100% até o dia +28, caindo para 98,66% e 85,48% nos dias +35 e +42, respectivamente. O grupo tratado B apresentou 100% de eficácia pulgicida até o dia +21 e 99,49%, 96,25% e 92,88% nos dias +28, +35 e +42, respectivamente. O grupo tratado C manteve 100% de eficácia até o dia +35, apresentando eficácia contra *C. f. felis* de 94,52% no dia +42 pós-tratamento.

O ensaio de eficácia pulgicida foi interrompido no dia +42, quando os valores máximos de eficácia obtidos nos grupos tratados (Figura 13) foram menores que 95%, valor considerado mínimo para um produto ser considerado eficaz contra pulgas (EMEA, 2007).

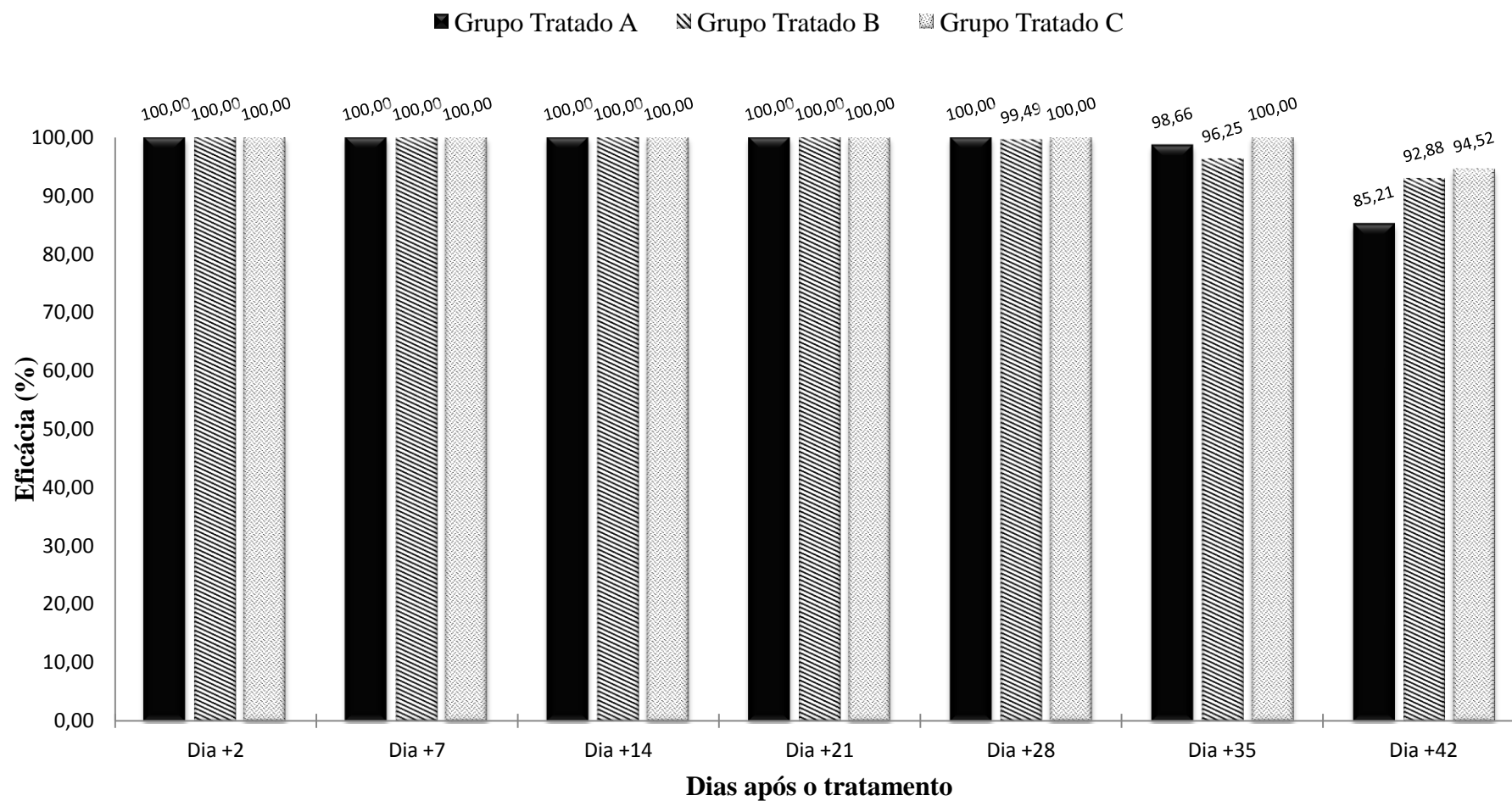


**Figura 12.** Número médio de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*) vivas recuperadas dos animais do grupo controle e dos grupos tratados com diferentes volumes de solução de fipronil ao longo do período experimental.

**Tabela 5.** Contagens individuais de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*), adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, dos animais dos grupos controle e tratados com os diferentes volumes em teste ao longo do período experimental.

Grupo/Animal	Número de pulgas adultas e vivas recuperadas						
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42
<b>Controle</b>							
420437	57	62	75	78	79	67	59
594131	69	84	81	70	64	72	86
019140	59	79	76	70	68	54	52
605101	42	57	59	54	54	65	46
393776	43	49	49	69	62	62	60
066646	53	62	72	63	65	53	62
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>53,83<sup>a</sup></b>	<b>65,50<sup>a</sup></b>	<b>68,67<sup>a</sup></b>	<b>67,33<sup>a</sup></b>	<b>65,33<sup>a</sup></b>	<b>62,17<sup>a</sup></b>	<b>60,83<sup>a</sup></b>
<b>DP<sup>2</sup></b>	<b>9,35</b>	<b>12,20</b>	<b>11,09</b>	<b>7,39</b>	<b>7,48</b>	<b>7,47</b>	<b>13,69</b>
<b>Grupo Tratado A</b>							
044450	0	0	0	0	0	0	9
394675	0	0	0	0	0	0	16
604916	0	0	0	0	0	0	6
595878	0	0	0	0	0	2	6
044298	0	0	0	0	0	3	9
249437	0	0	0	0	0	0	8
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,83<sup>b</sup></b>	<b>9,00<sup>b</sup></b>
<b>DP</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1,33</b>	<b>3,69</b>
<b>Eficácia</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>98,66%</b>	<b>85,21%</b>
<b>Grupo Tratado B</b>							
405662	0	0	0	0	0	0	0
425403	0	0	0	0	0	2	6
415998	0	0	0	0	0	1	4
604590	0	0	0	0	0	0	2
044103	0	0	0	0	2	9	4
235920	0	0	0	0	0	2	10
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,33<sup>b</sup></b>	<b>2,33<sup>b</sup></b>	<b>4,33<sup>bc</sup></b>
<b>DP</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,75</b>	<b>3,39</b>	<b>3,44</b>
<b>Eficácia</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>99,49%</b>	<b>96,25%</b>	<b>92,88%</b>
<b>Grupo Tratado C</b>							
044210	0	0	0	0	0	0	2
419834	0	0	0	0	0	0	3
103476	0	0	0	0	0	0	5
274848	0	0	0	0	0	0	4
035750	0	0	0	0	0	0	5
250590	0	0	0	0	0	0	1
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>3,33<sup>c</sup></b>
<b>DP</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1,63</b>
<b>Eficácia</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>94,52%</b>

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio padrão; <sup>Aa</sup> Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey (p>0,05).



**Figura 13.** Eficácia pulgicida para a espécie *Ctenocephalides felis felis* dos diferentes volumes administrados de solução de fipronil em cães.



## 4.2 Eficácia das Formulações Sobre *Rhipicephalus sanguineus*

Os números de carrapatos adultos, vivos e fixados recuperados de cada cão, em cada dia experimental encontram-se na Tabela 7 e as médias representadas na figura 14.

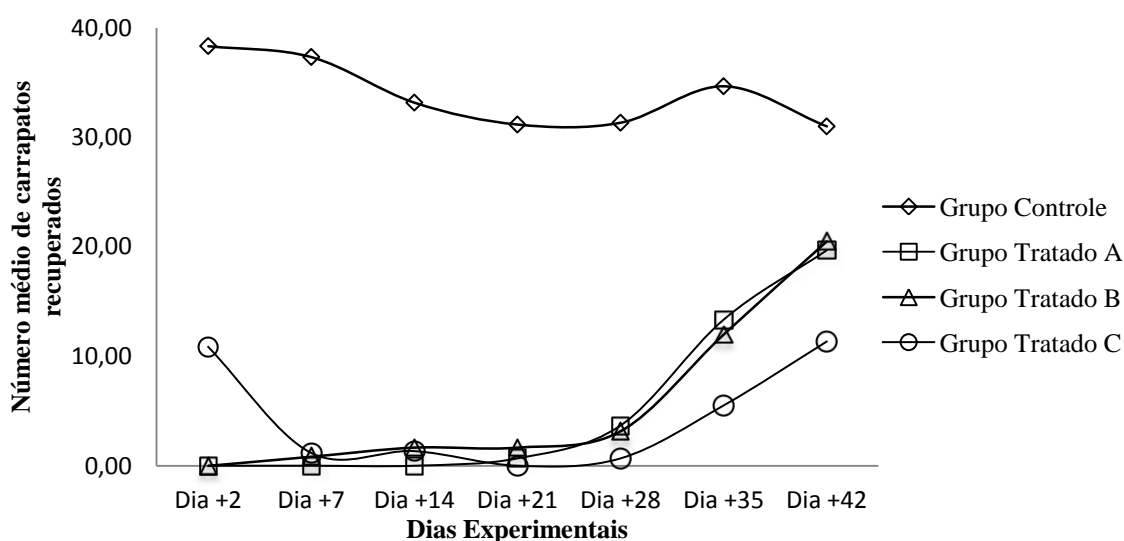
Os grupos tratados A e tratado B demonstraram 100% de EI, enquanto o grupo tratado C apresentou 71,74% de eficácia na mesma avaliação (dia +2).

A ER do grupo tratado A foi de 100% nos dias +7 e +14 após o tratamento, reduzindo-se gradativamente para 97,86%; 88,30%; 61,54% e 36,56% nos dias +21, +28, +35 e +42, respectivamente. O grupo tratado B apresentou ER de 97,78% no dia +7, decaindo para 94,97%; 94,65%; 89,89%; 65,38% e 33,87% nos dias +14, +21, +28, +35 e +42, respectivamente.

No entanto, o grupo tratado C, cuja EI foi a menor dentre os grupos tratados (71,74%), apresentou aumento da eficácia na segunda avaliação (dia +7), atingindo neste dia 96,87% de ER. Os níveis elevados de eficácia mantiveram-se nas avaliações subsequentes, apresentando 95,98% no dia +14; 100% no dia +21 e 97,87% no dia +28. A queda na eficácia iniciou no dia +35, quando o grupo apresentou 84,13% de ER, atingindo 63,44% de ER no dia +42.

Quando comparados os grupos tratados com o grupo controle, as médias do número de carrapatos adultos vivos e fixados recuperados diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) até o dia +28. No dia +35 a média do grupo tratado A não diferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) do grupo controle. No dia +42, somente a média do grupo tratado C diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) da média do grupo controle.

Comparando-se os grupos tratados, pode-se observar que nos dias +7 e +35 não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos. No dia +14 os grupos tratados B e C diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos tratados A e tratado B nas avaliações subsequentes. No entanto, o grupo tratado C diferiu ( $p \leq 0,05$ ) do grupo tratado B no dia +21 e do grupo tratado A no dia +28. Na última avaliação de ER (dia +42) o grupo tratado C diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais.

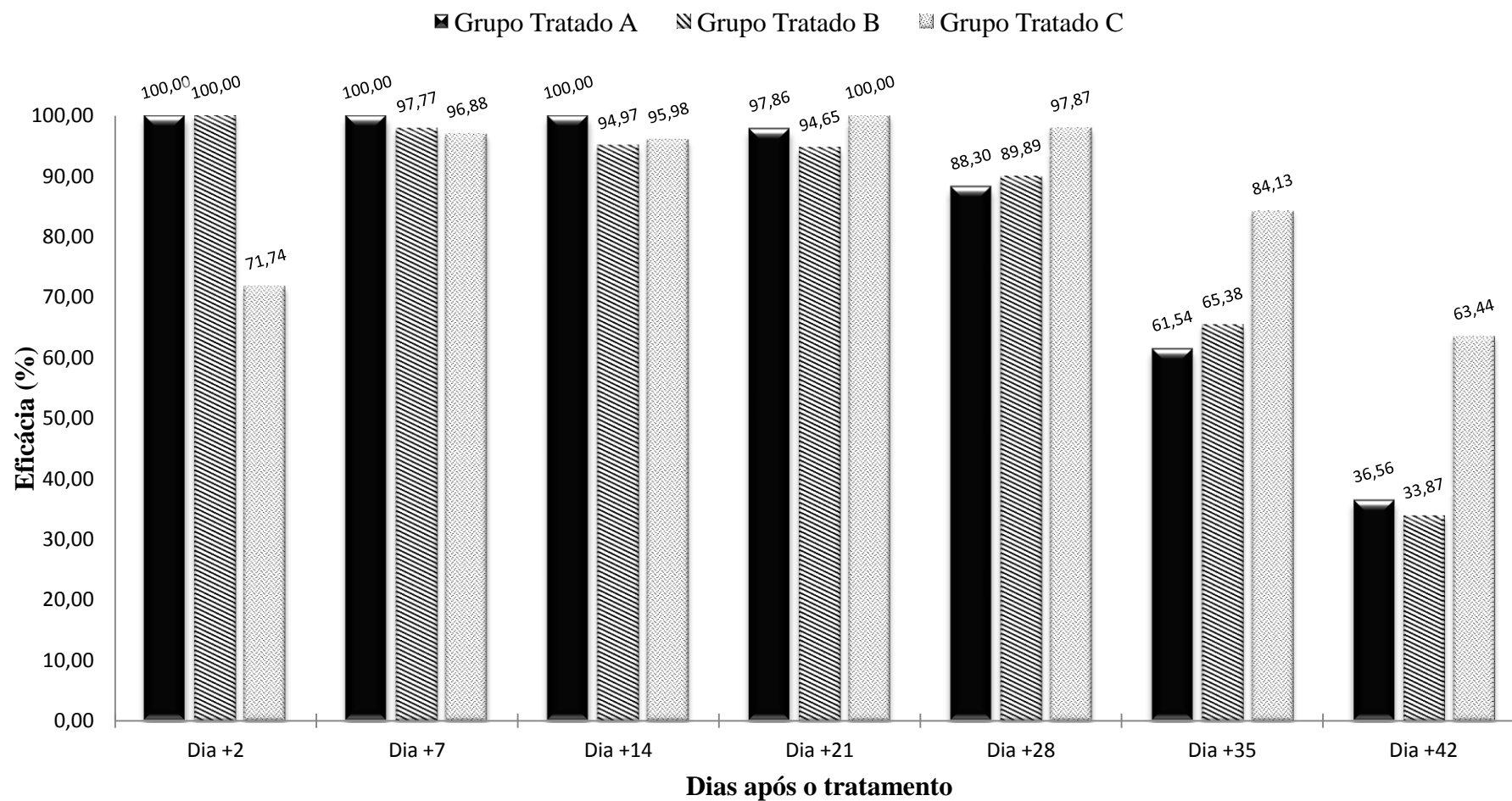


**Figura 14.** Número médio de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) adultos, vivos e fixados recuperadas dos animais do grupo controle e dos grupos tratados com diferentes volumes de solução de fipronil ao longo do período experimental.

**Tabela 7.** Contagens individuais de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*), adultos, vivos e fixados, recuperados através de coleta manual, dos animais dos grupos controle e tratados com os diferentes volumes em teste ao longo do período experimental.

Grupo/ Animal	Número de carrapatos adultos, vivos e fixados recuperados						
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42
<b>Controle</b>							
420437	33	44	34	40	30	36	29
594131	34	35	37	29	29	35	31
019140	43	37	35	37	28	34	31
605101	44	36	27	27	35	43	36
393776	41	35	35	24	32	31	30
066646	35	37	31	30	34	29	29
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>38,33<sup>a</sup></b>	<b>37,33<sup>a</sup></b>	<b>33,17<sup>a</sup></b>	<b>31,17<sup>a</sup></b>	<b>31,33<sup>a</sup></b>	<b>34,67<sup>a</sup></b>	<b>31,00<sup>a</sup></b>
<b>DP<sup>2</sup></b>	<b>4,46</b>	<b>3,09</b>	<b>3,29</b>	<b>5,58</b>	<b>2,56</b>	<b>4,84</b>	<b>2,61</b>
<b>Grupo Tratado A</b>							
044450	0	0	0	1	6	2	11
394675	0	0	0	0	1	8	27
604916	0	0	0	1	2	22	22
595878	0	0	0	0	5	24	22
044298	0	0	0	0	6	7	20
249437	0	0	0	2	2	17	16
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,67<sup>bc</sup></b>	<b>3,67<sup>b</sup></b>	<b>13,33<sup>ab</sup></b>	<b>19,67<sup>a</sup></b>
<b>DP</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,75</b>	<b>2,05</b>	<b>8,94</b>	<b>5,54</b>
<b>Eficácia</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>97,86%</b>	<b>88,30%</b>	<b>61,54%</b>	<b>36,56%</b>
<b>Grupo Tratado B</b>							
405662	0	0	0	1	0	21	25
425403	0	1	2	4	5	9	17
415998	0	0	0	0	0	6	19
604590	0	1	3	2	2	3	15
044103	0	3	2	1	5	22	31
235920	0	0	3	2	7	11	16
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,83<sup>b</sup></b>	<b>1,67<sup>c</sup></b>	<b>1,67<sup>b</sup></b>	<b>3,17<sup>bc</sup></b>	<b>12,00<sup>b</sup></b>	<b>20,50<sup>a</sup></b>
<b>DP</b>	<b>0</b>	<b>1,07</b>	<b>1,25</b>	<b>1,25</b>	<b>2,67</b>	<b>7,85</b>	<b>6,25</b>
<b>Eficácia</b>	<b>100%</b>	<b>97,78%</b>	<b>94,97%</b>	<b>94,65%</b>	<b>89,89%</b>	<b>65,38%</b>	<b>33,87%</b>
<b>Grupo Tratado C</b>							
044210	6	0	0	0	1	2	5
419834	10	0	2	0	0	3	7
103476	12	1	1	0	1	0	11
274848	19	2	2	0	0	6	10
035750	15	4	2	0	1	8	21
250590	3	0	1	0	1	14	14
<b>Média</b>	<b>10,83<sup>c</sup></b>	<b>1,17<sup>b</sup></b>	<b>1,33<sup>c</sup></b>	<b>0,00<sup>c</sup></b>	<b>0,67<sup>c</sup></b>	<b>5,50<sup>b</sup></b>	<b>11,33<sup>b</sup></b>
<b>DP</b>	<b>5,34</b>	<b>1,46</b>	<b>0,75</b>	<b>0</b>	<b>0,47</b>	<b>5,05</b>	<b>5,68</b>
<b>Eficácia</b>	<b>71,74%</b>	<b>96,87%</b>	<b>95,98%</b>	<b>100%</b>	<b>97,87%</b>	<b>84,13%</b>	<b>63,44%</b>

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio padrão; <sup>a</sup> Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey (p>0,05).



**Figura 15.** Eficácia carrapaticida para a espécie *Rhipicephalus sanguineus* dos diferentes volumes administrados de solução de fipronil em cães.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Eficácia das soluções-teste contra *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus*

Com base nos resultados encontrados, pode-se verificar que as três soluções testadas mostraram-se eficazes no controle imediato (EI) de *C. f. felis*, demonstrando também elevadas e equivalentes ER's (i.e. proteção contra reinfestações) até a quinta semana pós-tratamento (dia +35). A solução-teste C, aplicada em maior volume, no entanto, diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das demais na sexta semana pós-tratamento (dia +42) conferindo, portanto, uma semana a mais de proteção contra reinfestações por pulgas. Os resultados apontam, portanto, maior ER da solução-teste C quando comparada as demais, sugerindo haver influência positiva entre o volume de excipientes de uma solução “spot-on” de fipronil e seu tempo residual de eficácia contra *C. f. felis*.

O protocolo recomendado para o controle de pulgas em cães com fipronil institui a necessidade tratamentos mensais para a obtenção de melhores resultados (DRYDEN; DENENBERG; BUNCH, 2000) . Entretanto, a solução-teste C demonstrou eficácia por até seis semanas, o que indica que o intervalo de tratamento poderia ser aumentado utilizando-se formulações menos concentradas, porém, com o mesmo conteúdo de princípio ativo, estando os cães protegidos contra reinfestações mesmo com atrasos no tratamento mensal preconizado.

Os resultados de eficácia contra *R. sanguineus* obtidos demonstram que os volumes de 1,34mL (equivalente a formulação referência) e de 2,68mL apresentaram elevada EI (100%). A solução aplicada em maior volume (5,36mL), no entanto, diferiu significativamente das demais, apresentando somente 71,74% de EI.

Quanto à ER carrapaticida, observou-se que nas três primeiras semanas, os três volumes foram equivalentes. Uma ER de 100% foi alcançada pelos volumes de 1,34mL e 5,36mL, respectivamente nas duas primeiras e terceira semana pós-tratamento. A partir da quarta semana, a solução aplicado em maior volume foi a única a apresentar ER satisfatória (>90%) (MARCHIONDO et al., 2007; 2013), apresentando-se significativamente mais eficaz e mantendo níveis elevados de ER por pelo menos uma semana a mais. A partir da quinta semana pós-tratamento, a eficácia da solução aplicada em volume de 5,36mL apresentou-se inferior a 90%, porém, ainda assim muito acima das ER's dos demais volumes. Na quarta, quinta e sexta semanas pós-tratamento a eficácia da solução menos concentrada (C) foi cerca de 10%, 20% e 30% mais eficaz que as demais, respectivamente.

Existem na literatura, diversos estudos cujo objetivo foi a avaliação da eficácia de produtos a base de fipronil, porém, todos utilizando produtos comerciais com fipronil na concentração de 10% e cuja recomendação de aplicação é de 1,34mL para cães entre 10kg e 20Kg.

Em estudo realizado simultaneamente na África do Sul e na Irlanda, comparando-se a eficácia do Frontline® com uma nova formulação comercial a base de fipronil, o Eliminall®, no controle de diversos ectoparasitos em cães sem raça definida (SRD), Kužner et al. (2013) obtiveram ER satisfatória (>95%) para pulgas (*C. felis*) por até oito semanas, para ambos os produtos. O resultado obtido por eles demonstrou pelo menos três semanas a mais de ER pulguicida que o presente estudo. Cabe ressaltar, no entanto, que além da utilização de diferentes raças caninas nos estudos, as colônias das quais as pulgas utilizadas eram provenientes foram de diferentes origens, o que pode implicar na diferença de susceptibilidade das mesmas ao fipronil. A ER contra *R. sanguineus* por sua vez, não diferiu entre ambos os estudos, conseguindo-se aproximadamente 30 dias de proteção contra reinfestações superior à 90%. Ao comparar as eficácias obtidas por Kužner et al. (2013) com

àquelas obtidas neste estudo, utilizando-se 5,36 mL de solução de fipronil à 1,8%, constata-se que a última obteve melhores resultados na quarta semana de tratamento (97,87% contra 95% e 92,5%). Com isso, os resultados de ambos os estudos reafirmam a necessidade de tratamentos mensais para prevenção de infestações por *R. sanguineus*. Entretanto, tal intervalo de tratamento pode ser aumentado quando se deseja combater somente infestações por *C. f. felis*, conforme resultados encontrados.

Bonneau et al. (2010) compararam a eficácia contra *C. f. felis* de dois produtos comerciais (Effipro® e Frontline®), ambos na forma “spot-on” contendo 10% de fipronil em suas formulações, diferindo apenas no veículo empregado na formulação. O Effipro® manteve níveis satisfatórios (>95%) de ER por 14 dias a mais que o Frontline®, sendo este de 93 e 79 dias, respectivamente. Para ambos os produtos, no entanto, a ER persistiu por mais tempo que no presente estudo, em que se obteve ER acima de 95% por até 35 dias. Tal fato pode estar relacionado à utilização de diferentes raças caninas nos estudos, bem como à cepa de pulgas utilizada no estudo de Bonneau et al. (2010), a qual poderia ser mais sensível à molécula de fipronil. Ressalta-se, no entanto, que assim como no presente estudo, observou-se que alterações na formulação de produtos ectoparasiticidas “spot-on” podem alterar significativamente sua eficácia.

Em estudo realizado por Dryden, Denenberg e Bunch (2000), visando comparar a eficácia entre fipronil e imidacloprid no controle de pulgas, os autores observaram ER superior a 95% por até 90 dias para ambas as moléculas. No entanto, cabe ressaltar que diferentemente do presente estudo, tais pesquisadores realizaram uma investigação a campo, onde a pressão de reinfestação costuma ser menor quando comparada com ambiente laboratorial, onde as infestações são semanais e com elevado número de parasitos.

Young, Jeannin e Boeckh (2004) obtiveram excelente ER (>95%) para pulgas por até cinco semanas, em estudo realizado sob condições controladas, comparando-se a atividade do fipronil 10% com a associação de fipronil 10% com metoprene 9%. Tais resultados corroboram aqueles obtidos no presente estudo, onde a ER também perdurou acima de 95% pelo mesmo período, em todos os grupos experimentais.

No estudo realizado por Young e colaboradores (2004), não houve diferença significativa entre as ER's do fipronil com e sem associação com metoprene, o que é esperado, tendo em vista que o metoprene é um análogo do hormônio juvenil de insetos e sua atividade não é esperada sobre as formas adultas de pulgas. Assim sendo, é plausível a comparação entre estudos realizados com fipronil, utilizando-se ou não associação com RCA's (e.g. metoprene, fluazuron, etc).

Em 2011, um estudo realizado por Beugnet et al. demonstrou que a eficácia pulicida (*C. f. felis*) da associação do fipronil com metoprene foi de 100% por até seis semanas. Tais resultados superam os obtidos neste estudo para todos os grupos tratados, onde a ER de 100% foi observada somente até a quarta semana os grupos que receberam 1,34mL e 2,68mL e até a quinta semana para o grupo que recebeu 5,36mL. Tais diferenças se devem, provavelmente, à cepa de pulga utilizada, bem como à diferença das condições ambientais entre os locais de estudo.

Para *R. sanguineus*, ER acima de 90% foi obtida por até quatro semanas (dia +28) nos grupos A (1,34mL) e B (2,68mL), enquanto somente no grupo tratado com o maior volume de solução de fipronil (C: 5,36ml) obteve-se ER satisfatória por até cinco semanas (dia +35). Resultado semelhante a este último foi encontrado por Brianti et al. (2010), em estudo de campo onde cães de diferentes raças, pesos e idades, naturalmente infestados foram tratados com a combinação de fipronil (10%) com metoprene (9%).

Otranto et al. (2005) comparam a eficácia de duas associações acaricidas contra *R. sanguineus* em cães. A associação de fipronil (10%) com metoprene (9%) demonstrou menor eficácia quando comparada à associação de imidacloprid (10%) com permetrina (50%), não

sendo atingida eficácia acima de 95% nos primeiros 28 dias de estudo quando utilizada a primeira combinação. Todas as concentrações testadas no presente estudo apresentaram-se, portanto, mais eficazes pelos primeiros 28 dias. Vale salientar, todavia, que ao contrário do presente estudo, no qual cães beagle foram submetidos a condições ambientais controladas, Otranto et al. (2005) utilizaram cães de diferentes raças expostos a diferentes condições de alojamento, o que pode ter influenciado de forma negativa na eficácia obtida. Em um segundo tratamento com a associação de fipronil com metoprene, no entanto, Otranto et al. (2005) obtiveram ER acima de 99% pelos 28 dias subsequentes, demonstrando um aumento nos níveis de proteção quando o produto testado era reaplicado mensalmente. Ressalta-se porém, que aliado ao fato de não realizarem reinfestações semanais, o produto por eles utilizado continha um regulador de crescimento de artrópodes (metoprene), o que contribui para a prevenção de reinfestações naturais, uma vez que atua sobre as formas imaturas dos ectoparasitos.

Melo et al. (2012) ao avaliarem a atuação ectoparasiticida do fipronil administrado oralmente em cães artificialmente infestados, observaram eficácia pulicida superior à 95% por 14 dias. A eficácia carrapaticida, contudo, não ultrapassou os 44% em nenhum dia experimental, demonstrando que, apesar da biodisponibilização e consequente ingestão da droga pelos ectoparasitas hematófagos, o rápido sequestro e eliminação da droga pelos cães limitam sua eficácia. Os níveis de eficácia pulgicida e carrapaticida obtidos aqui em todos os dias experimentais foram superiores àqueles obtidos por Melo et al. (2012). Quando disponibilizado por via tópica, como no presente estudo, o fipronil encontra-se prontamente disponível ao contato pelos ectoparasitos, hematófagos ou não, atuando, portanto, de forma mais eficaz que quando administrado oralmente.

Mais recentemente, Tiawsirisup et al. (2013) obtiveram ER acima de 90% por até 28 dias contra *R. sanguineus*, utilizando o fipronil à 10% aplicado topicamente (“spot-on”) em cães artificialmente infestados. Todavia, os níveis de ER por eles obtidos nas últimas semanas de avaliação foram menores quando comparados àqueles conseguidos no presente estudo, utilizando-se o fipronil em maior diluição.

Em estudo realizado com cães na região amazônica brasileira, Fischer et al. (2013) obtiveram 42 dias de eficácia residual contra *R. sanguineus* superior à 90% com o tratamento tópico com solução de fipronil à 10%, sendo este resultado superior aquele obtido neste estudo em todos os volumes testados. Tal discrepância pode se dever a diferentes fatores, dentre eles o fato do desafio oferecido no presente estudo ter sido bem maior, com infestações semanais, enquanto que Fischer e colaboradores utilizaram cães naturalmente infestados, sem reinfestação artificial semanal. Além da disparidade de condições ambientais entre os testes, a cepas de *R. sanguineus* das duas regiões podem ainda apresentar diferentes graus de resistência ao fipronil tal como assinalado por Soares (2008), que encontrou diferenças genéticas entre cepas de *R. sanguineus* das diferentes regiões brasileiras. Segundo ele, estas distinções podem implicar em diferenças na biologia destes ixodídeos, inclusive no que tange à susceptibilidade aos acaricidas.

Em geral, a solução aplicada em maior volume (C), isto é, aquela onde a dose preconizada de fipronil encontrava-se mais diluída nos excipientes, apresentou maior ER, quando comparada às soluções aplicadas em menores volumes (A e B), tanto para pulgas quanto para carrapatos. Fato este ocorrido mesmo com a dose média de fipronil recebida pelo grupo C sendo em média 37% menor que a dose média dos demais grupos tratados (Figura 11). Supõe-se que tal ocorrência se deva a uma melhor dispersão do produto pelo corpo do animal como resultado de um maior volume de excipientes utilizados na diluição do princípio ativo.

Com exceção do fipronil, a quantidade de todos os demais ingredientes foi proporcionalmente aumentada (de acordo com o grupo experimental). O aumento da

proporção entre qualquer um destes compostos em relação ao fipronil, como ocorreu na solução-teste C, pode ter alterado a lipossolubilidade deste último, de modo a permitir uma melhor dispersão pela secreção sebácea. Pode ainda, ter permitido que o sequestro da molécula pelas glândulas sebáceas fosse mais forte, ou ainda que fosse alterada a permeabilidade da epiderme, permitindo que o fipronil se depositasse em camadas mais profundas, de modo que a liberação à superfície da pele ocorresse de forma mais lenta, porém em concentrações suficientemente elevadas para matar os ectoparasitos.

Não foram encontrados na literatura pesquisada estudos semelhantes ao realizado neste trabalho, no qual se compara a eficácia de diferentes volumes de soluções tópicas de ectoparasiticidas aplicados em cães, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo. Contudo, Endris et al. (2002) avaliaram a eficácia carrapaticida e pulicida de diferentes volumes de permetrina a 65% em cães com mais de 30 Kg, alterando contudo, a dose do princípio ativo, proporcionalmente ao volume. Na ocasião os autores observaram que quando os cães receberam as maiores doses, a ER contra pulgas e carrapatos apresentava-se significativamente maior. Resultado semelhante ao encontrado neste estudo, no qual, contudo, ao contrário do realizado por Endris et al. (2002), foram alterados o volume e a concentração das soluções entre os diferentes grupos, de modo que todos os animais tratados recebessem doses equivalentes do princípio ativo.

## 6 CONCLUSÃO

A aplicação de maiores volumes de solução pour-on de fipronil em cães, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo, proporcionou maior tempo de eficácia residual contra *R. sanguineus* e *C. f. felis*.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAJOUND, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1347–52, 2003.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 4, p. 759-843, 1936.
- AVELAR, D.M.; BUSSOLOTTI, A.S.; RAMOS, M.C.A.; LINARDI, P.M. Endosymbiontes of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera:Pulicidae) obtained from dogs captured in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 94, n. 2, p. 149-152, 2007.
- AYRES, M.; AYRES, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. dos S. **BioEstat 5.3: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.
- BARKER, S. C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 15–36, 2004.
- BEUGNET, F.; DOYLE, V.; MURRAY, M.; CHALVET-MONFRAY, K. Comparative efficacy on dogs of a single topical treatment with the pioneer fipronil/(S)-methoprene and an oral treatment with spinosad against *Ctenocephalides felis*. **Parasite**, v. 18, n. 4, p. 325-331, 2011.
- BEUGNET, F.; FRANC, M. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 7, p. 267–79, 2012.
- BEZERRA, A. D. S.; SOARES, H. S.; VIEIRA, L. D. S.; AHID, S. M. M. Ectoparasitos em caprinos e ovinos no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 110–116, 2010.
- 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, n. 6, p.1173–1200, 2009.
- BLOOMQUIST, J. R. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 54, n. 4, p. 145–56, 2003.
- BLOOMQUIST, J. R. Ion channels as targets for insecticides. **Annual Review of Entomology**, v. 41, p. 163–90, 1996.

BONNEAU, S.; FOURIER, J. J.; ROUSSEAU, C.; CADIERGUES, M. C. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental flea infestations (*Ctenocephalides felis*) in dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 16 - 20, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução MS-ANVISA-RE nº 5.238, de 12 dez. 2012 (DOU de 13/12/12)**. Inclui as culturas de amendoim, na monografia do ingrediente ativo F43 - FIPRONIL, na relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira.). Seção 1, p. 201, nº 24. 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012b.

BRAYDEN, D. Novel drug delivery strategies in veterinary medicine. **Irish Veterinary Journal**, v. 56, n. 6, p. 310–318, 2003.

BRIANTI, E.; PENNISI, M. G.; BRUCATO, G.; RISITANO, A. L.; GAGLIO, G.; LOMBARDO, G.; MALARA, D.; FOGLIAZZA, A.; GIANNETTO, S. Efficacy of the fipronil 10%+(S)-methoprene 9% combination against *Rhipicephalus sanguineus* in naturally infested dogs: Speed of kill, persistent efficacy on immature and adult stages and effect of water. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 1, p. 96-103, 2010.

BYGBJERG, I. C.; SCHIØLER, K. L.; KONRADSEN, F. Climate-and vector-borne diseases. **Ugeskrift for Laeger**, v. 171, n. 44, p. 3175, 2009.

BYRON, D. W. **Aspects of the biology, behavior, bionomics, and control of immature stages of the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouché) in the domiciliary environment**. 1987. Tese de Doutorado - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.

CAPANEMA, L.; VELASCO, L.; SOUZA, J.; NOGUTI, M. Panorama da indústria farmacêutica veterinária. **BNDES Setorial**, v. 25, p. 157–174, 2007.

CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 99–117, 2013.

CHOMEL, B. Tick-borne infections in dogs-an emerging infectious threat. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 4, p. 294–301, 2011.

COCHET, P.; BIRCKEL, P.; BROMET-PETIT, M.; BROMET, N.; WEIL, A. Skin distribution of fipronil by microautoradiography following topical administration to the beagle dog. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 22, p. 211–216, 1997.

COELHO, C. N. **Eficácia *in vivo* do fipronil sobre diferentes cargas parasitárias de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) em cães**. 2012. 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica.

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

CUNHA, D. **Estudos da toxicidade de alguns carrapatos comumente encontrados no Brasil (Acarina: Ixodidae)**. 1978. 96 p. Dissertação - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Itaguaí.

DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites and Vectors**, v. 3, p. 26, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; FERREIRA, D. R.; MELO, L. M.; LIMA, P. A.; SIQUEIRA, D. B.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L. C.; MELO, A. V.; RAMOS, J. A. Ticks on captive and free-living wild animals in northeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, n. 2, p. 181-189, 2010.

DANTAS-TORRES, F. D.; MELO, M. F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of São Vicente Férrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 03, p. 75–77, 2009.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 173–85, 2008

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases : a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437–446, 2012.

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

DANTAS-TORRES, F.; VENZAL, J. M.; BERNARDI, L. F. O.; FERREIRA, R. L.; ONOFRIO, V. C.; MARCILI, A.; BERMÚDEZ, S. E.; RIBEIRO, A. F.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Description of a new species of bat-associated argasid tick (Acari: Argasidae) from Brazil. **The Journal of Parasitology**, v. 98, n. 1, p. 36–45, 2012.

DE LA FUENTE, J.; ALMAZÁN, C.; BLAS-MACHADO, U.; NARANJO, V.; MANGOLD, A. J.; BLOUIN, E. F.; GORTAZAR, C.; KOCAN, K. M. The tick protective antigen, 4D8, is a conserved protein involved in modulation of tick blood ingestion and reproduction. **Vaccine**, v. 24, n. 19, p. 4082–95, 2006.

DE LA FUENTE, J.; KOCAN, K. M. Strategies for development of vaccines for control of ixodid tick species. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 7, p. 275–83, 2006.

DRYDEN, M. W. Flea and tick control in the 21st century: challenges and opportunities. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 5-6, p. 435–440, 2009.

DRYDEN, M. W. Host association, on-host longevity and egg production of *Ctenocephalides felis felis*. **Veterinary Parasitology**, v. 34, n. 1-2, p. 117–122, 1989.

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

DRYDEN, M. W.; 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.; PAYNE, P. A. Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. **Veterinary Therapeutics**, v. 5, p. 139–154, 2004.

DRYDEN, M. W.; RUST, M. K. The cat flea: biology, ecology and control. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 1-2, p. 1–19, 1994.

DRYDEN, M.W.; NEAL, J.; BENNETT, G. Concepts of flea control. **Companion Animal Practice**, v. 19, n. 4 - 5, p. 11–20, 1989.

DURDEN, L. A.; HINKLE, N. C. Fleas (Siphonaptera). In **Medical and Veterinary Entomology**. 2nd edition. (Ed.)MULLEN, G. R.; DURDEN, L. A. San Diego, USA: Academic Press; 2009:115–136.

EMA. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CMPV). **Guideline for the testing and evaluation of the efficacy of antiparasitic substances for the treatment and prevention of tick and flea infestation in dogs and cats**. p. 1–16, 2007.

ENDRIS, R. G.; HAIR, J. A.; KATZ, T. L.; ZOBRE, E.; PENNINGTON, R. G.; MEYER, J. A. Efficacy of three dose volumes of topically applied 65% permethrin against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* on dogs weighing 30 kg or more. **Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine**, v. 3, n. 4, p. 435, 2002

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

FACCINI, J. L. H.; BARROS-BATTESTI, D. M. Aspectos gerais da biologia e identificação e carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. 1 ed. São Paulo: Instituto Butantan, 2006. cap. 2, p. 05-12.

FERNANDES, É. K. K.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ROBERTS, D. W. Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 3, p. 300–305, 2012.

FERNANDES, J. I.; CORREIA, T. R.; RIBEIRO, F. A.; CID, Y. P.; TAVARES, P. V.; SCOTT, F. B. Eficácia *in vitro* do nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Rhipicephalus*

*sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari : Ixodidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, s.1, p. 64–68, 2010.

FISCHER, V. L.; HEIDMANN, M. J.; FARIA, E. F.; RIZZI, V. G.; BRAGAGLIA, G. N.; NASCIMENTO, C. G.; CASTRO, B. G. Acaricidal efficacy of topical formulation of fipronil in naturally infested dogs in Amazonic region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 186-188, 2013.

FISCHETTI, M. Killer Drops. **Scientific American**, v. 285, n. 3, p. 92, 2001.

FOIL, L.; ANDRESS, E.; FREELAND, R. L.; ROY, A. F.; RUTLEDGE, R.; TRICHE, P. C.; OREILLY, K. L. Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) feces. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 625–628, 1998.

FOURIE, L. J.; KOK, D. J.; PETER, R. J. Control of immature stages of the flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in carpets exposed to cats treated with imidacloprid. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 71, n. 4, p. 219–21, 2000.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C. SZABÓ, M. P. J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1513-1518, 2004.

GARRIS, G. I. Control of ticks. **The Veterinary Clinics of North America. Small animal practice**, v. 21, n. 1, p. 173, 1991.

GODDARD, J. **Ticks of medical importance occurring in the Western Hemisphere**. 1987. USAF School of Aerospace Medicine Brooks, Texas.

GUGLIELMONE, A. A.; MOSA, S. G. Predation of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) group and *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888)(Acari: Ixodidae) by *Nothura temminck*, 1815 (Aves: Tinamidae) in Salta, Argentina. **Folia Parasitologica**, v. 38, n. 2, p. 114, 1990.

GUGLIELMONE, A.; ROBBINS, R.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G.; SHAO, R.; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Experimental and Applied Acarology**, v. 28, n. 1-4, p. 27-54, 2002.

GUIMARÃES, J. H; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. 1ª edição, Ed. Plêiade / FAPESP, São Paulo. 218p., 2001.

GUNASEKARA, A. S.; TROUNG, T. Environmental Fate of Fipronil. **Environmental Monitoring Branch**, 2007.

HABIF, T. P. Infestations and bites. **Clinical Dermatology**. 3d ed. St. Louis: Mosby, p. 463-75, 1996.

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

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

HUCHET, J.; CALLOU, C.; LICHTENBERG, R.; DUNAND, F. The dog mummy, the ticks and the louse fly: Archaeological report of severe ectoparasitosis in Ancient Egypt. **International Journal of Paleopathology**, p. 1–11, 2013.

JACKSON, D.; CORNELL, C. B.; LUUKINEN, B.; BUHL, K.; STONE, D. 2009. **Fipronil Technical Fact Sheet**. National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. Disponível em: <http://npic.orst.edu/factsheets/fiptech.html>. Acesso em 02 jan. 2014.

KIRKLAND, B. H.; WESTWOOD, G. S.; KEYHANI, N. O. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to ixodidae tick species *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodes scapularis*, **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 4, p. 705-711, 2004.

KOCH, H. G. Oviposition of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) in the laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 75, n. 5, p. 583–586, 1982.

KORDICK, S. K.; BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; SOUTHWICK, K. L., COLITZ, C. M., HANCOCK, S. I., MACCORMACK, J. N. Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 8, p. 2631-2638, 1999.

KUŽNER, J.; TURK, S.; GRACE, S.; SONI-GUPTA, J.; FOURIE, J. J.; MARCHIONDO, A. A.; RUGG, D. Confirmation of the efficacy of a novel fipronil spot-on for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 193, p. 245–251, 2013.

LABRUNA, M. B. Biologia-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. supl I, p. 123-124, 2004.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A.; JÁCOMO, A. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; FERRO, C.; PEREZ, S. A.; SILVEIRA, L.; SANTOS JR, T. S. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, n. 1-2, p. 149–163, 2005.

LATREILLE, P. A. *Genera crustaceorum et insectorum secundum ordinem naturalem in familias disposita, iconibus exemplisque plurimis explicata*. Parisiis et Argentorati: Amand Koenig, bibliopolam; 1806.

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

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

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

LITTLE, S. E.; HOSTETLER, J.; KOCAN, K. M. Movement of *Rhipicephalus sanguineus* adults between co-housed dogs during active feeding. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 1-2, p. 139-45, 2007.

LOULY, C. C. B.; SOARES, S. F.; DA NÓBREGA SILVEIRA, D.; GUIMARÃES, M. S.; BORGES, L. M. F. Differences in the behavior of *Rhipicephalus sanguineus* tested against resistant and susceptible dogs. **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, n. 4, p. 353-362, 2010.

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

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; LANDULFO, G. A.; BERTO, B. P.; FERREIRA, I. Bird ticks in an area of the Cerrado of Minas Gerais State, southeast Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, n. 1, p. 89-99, 2012.

MARCHIONDO, A. A.; HOLDSWORTH, P. A.; GREEN, P.; BLAGBURN, B. L.; JACOBS, D. E. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3, p. 332-344, 2007.

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

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, n. 1, p. 121-128, 2014.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, v. 135, n. 1, p. 15-23, 2004.

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

- MILLER, R. J.; GEORGE, J. E.; GUERRERO, F.; CARPENTER, L.; WELCH, J. B. Characterization of Acaricide Resistance in *Rhipicephalus sanguineus* ( Latreille ) ( Acari : Ixodidae ) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center , Panama. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 2, p. 298-302, 2001.
- NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; IKEDA, T.; SALGADO, V. L.; YEH, J. Z. Glutamate-activated chloride channels : Unique fipronil targets present in insects but not in mammals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, n. 2, p. 149–152, 2010.
- NEITZ, W. O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. Laboratory investigations on the life-cycle of the Karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 3, p. 215, 1971.
- NUTTALL, P. A.; TRIMNELL, A R.; KAZIMIROVA, M.; LABUDA, M. Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 4, p. 155–63, 2006.
- OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; TARALLO, V. D.; RAMOS, R. A. N.; STANNECK, D.; BANETH, G.; DE CAPRARIIS, D. Apparent tick paralysis by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 3-4, p. 325–9, 2012.
- PAROLA, P.; SOCOLOVSCHI, C.; JEANJEAN, L.; BITAM, I.; FOURNIER, P.-E.; SOTTO, A.; LABAUGE, P.; RAOULT, D. Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 11, p. e338, 2008.
- PAYNE, P. A.; DRYDEN, M. W.; SMITH, V.; RIDLEY, R. K. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, n. 4, p. 331–40, 2001.
- PAZ, G. F.; LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C. Ritmo de queda de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de cães artificialmente infestados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3, p.139-144, 2008.
- PAZ, G. F.; RIBEIRO, M. F. B.; MICHALSKY, É. M.; DA ROCHA, A. C. V. M.; FRANÇA-SILVA, J. C.; BARATA, R. A.; FORTES-DIAS, C. L.; DIAS, E. S. Evaluation of the vectorial capacity of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the transmission of canine visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 106, n. 2, p. 523–528, 2010.
- PEREIRA, M. C. In VILELA, M. Pequeno Perigo. **Cães e Gatos**, ed. 161, p. 42–49, 2012.
- PERINOTTO, W. M. S.; ANGELO, I. C.; GOLO, P. S.; QUINELATO, S.; CAMARGO, M. G.; SÁ, F. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Susceptibility of different populations of ticks to entomopathogenic fungi. **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 3, p. 257–60, 2012.
- RAYMOND, V.; SATTELLE, D. B. Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels. *Nature reviews*. **Drug Discovery**, v. 1, n. 6, p. 427–36, 2002.



RECHAV, Y.; NUTTALL, P. A. The effect of male ticks on the feeding performance of immature stages of *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 7, p. 569–578, 2000.

ROTHEN-WEINHOLD, A.; DAHN, M.; GURNY, R. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 3, n. 7, p. 222-231, 2000.

ROZENTAL, T.; BUSTAMANTE, M. C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; LEMOS, E. R. S. DE. Evidence of spotted fever group rickettsiae in state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 3, p. 155–8, 2002.

RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 5, p. 232–6, 2005.

RUST, M. K. Influence of photoperiod on egg production of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) infesting cats. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 242–245, 1992.

RUST, M. K. Interhost Movement of Adult Cat Fleas (Siphonaptera: Pulieidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 486–489, 1994.

SALGADO, V. L.; SCHNATTERER, S.; HOLMES, K. A. **Modern Crop Protection Compounds**. In: W. KRÄMER; U. SCHIRMER (Eds.); *Modern crop protection compounds*, 3 volume set. John Wiley & Sons Ltd, 2012.

SAMISH, M.; ALEKSEEV, E. Arthropods as Predators of Ticks (Ixodoidea). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 1-11, 2001.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecina, 1998.

SCHNATTERER, S. Phenylpyrazole-Containing Fiprole Inseticides. In: C. LAMBERTH; J. DINGES (Eds.); **Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Pharmaceuticals**. p.239–250, 2012.

SHAW, S. E.; KENNY, M. J.; TASKER, S.; BIRTLES, R. J. Pathogen carriage by the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) in the United Kingdom. **Veterinary Microbiology**, v. 102, n. 3-4, p. 183–8, 2004.

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

SILVA, M. M.; SANTOS, A. S.; FORMOSINHO, P.; BACELLAR, F. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, n. 1, p. 39-48, 2006.

SILVEIRA, J. A G.; PASSOS, L. M. F.; RIBEIRO, M. F. B. Population dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 3-4, p. 270–5, 2009.

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

SOARES, A. O.; SOUZA, A. D.; FELICIANO, E. A.; RODRIGUES, A. F.; D'AGOSTO, M. A. R. T. A.; DAEMON, E. R. I. K. Avaliação ectoparasitológica e hemoparasitológica em cães criados em apartamentos e casas com quintal na cidade de Juiz de Fora, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, p. 13-16, 2006.

SOARES, L. B. **Estudo da variabilidade genotípica de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae) de diferentes regiões geográficas do Brasil**. 2008. 35 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica.

SOUZA, C. D. M. V. Fleas, flea allergy, and flea control: a review. **Dermatology Online Journal**, v. 3, n. 7, 1997.

SZABÓ, M. P. J.; MANGOLD, A. J.; JOÃO, C. F.; BECHARA, G. H.; GUGLIELMONE, A. A. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 130, n. 1-2, p. 131–140, 2005.

SZABÓ, M. P. J.; ROSSI, G. F.; CABRAL, D. D.; MARTINS, M. M.; GERARDI, M.; AMORIM, M. P.; TSURUTA, S. A. Experimental evaluation of birds as disseminators of the cosmopolitan tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari : Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 389–393, 2012.

SZABÓ, M.; PASCOLI, G.; MARÇAL JÚNIOR, O.; FRANCHIN, A.; TORGA, K. Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Ciência Rural**, n. 34, p. 2–4, 2008.

TANCREDI, M. F. **Eficácia e Segurança Clínica Comparativa de Duas Formulações De Aplicação Tópica Contendo 10% De Fipronil No Controle de Ectoparasitos Em Cães e Gatos**. 2009. 76 p. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

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

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

TIAWSIRISUP, S.; THANSIRIKHUN, K.; THANADUMKERNG, K.; PASTARAPATEE, N.; TRIRATTANANUWONG, N.; RATTANATAYAROM, W. Antiparasitic Efficacy of 10% w/v Fipronil spot-on (Fiproline spot-on) against Experimental Tick (*Rhipicephalus sanguineus*) Infestations on Dogs. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 43, n. 2, p. 279-284, 2013.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. In: Ware, G. W. (Ed.);

**Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 176, New York: Springer-Verlag. p.1–66, 2003.

TRAVERSA, D. Fleas infesting pets in the era of emerging extra-intestinal nematodes. **Parasites and Vectors**, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2013.

USPENSKY, I. Attachment of nymphal *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) to a human in an urban area followed by severe adverse reaction shortly before drop-off. **Folia Parasitologica**, v. 56, n. 1, p. 67–9, 2009.

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

VOBIS, M.; D'HAESE, J.; MEHLHORN, H.; MENCKE, N. The feline leukemia virus (FeLV) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, 2003b.

WALKER, K. Cat flea (*Ctenocephalides felis felis*). Pests and Diseases Image Library - PaDIL. 2007. Disponível em: PaDIL - <http://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/Pest/Main/136559#>. Acesso em: 12 nov. 2013.

WALKER, J. B.; KEIRANS, J. E.; HORAK, I. G. **The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world**. Cambridge: University Press, 2000.

WENDINCAMP, J.; FOIL, L.D. Vertical transmission of *Rickettsia felis* in the cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché). **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 1, p. 96-101, 2002.

YERUHAM, I.; ROSEN, S.; BRAVERMAN, Y. *Ctenocephalides felis* flea infestation in horses. **Veterinary Parasitology**, v. 62, n. 3-4, p. 341–3, 1996.

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



Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ

Seropédica 11 de setembro de 2013

### DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo intitulado “**INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO CONCENTRAÇÃO/VOLUME NA EFICÁCIA DE FORMULAÇÕES TÓPICAS DE FIPRONIL SOBRE *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE) E *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) EM CÃES** “ encaminhado pelo Aluno (a) de Mestrado do Departamento Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, Diego Dias da Silva . Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-FAPUR realizada no dia 11 de setembro de 2013, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Coordenador da CEUA-FAPUR

Fabio Barbour Scott

Coordenador CEUA-FAPUR