

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

**DISSERTAÇÃO**

**Eficácia da Associação Fluazuron E Fipronil Sobre**  
***Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em Cães**  
**Artificialmente Infestados**

**ROSÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS**

2015



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

**EFICÁCIA DA ASSOCIAÇÃO FLUAZURON E FIPRONIL  
SOBRE *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)  
EM CÃES ARTIFICIALMENTE INFESTADOS**

**Rosângela Rodrigues dos Santos**

*Sob a Orientação dos Professores*  
**Laerte Grisi / Fabio Barbour Scott**

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 2015

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S788e Santos, Rosângela Rodrigues dos, 1977-  
Eficácia da Associação Flusazuron E Fipronil Sobre  
Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari:  
Ixodidae) em Cães Artificialmente Infestados /  
Rosângela Rodrigues dos Santos. - Rio de Janeiro, 2015.  
61 f.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, PPGCV, 2015.

1. Reguladores de Crescimento de Insetos. 2.  
Rhipicephalus sanguineus. 3. Controle de Parasitos do  
cão. 4. Fenilpirazoles. I. Scott, Fabio Barbour, 1966  
, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. PPGCV III. Título.

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

ROSÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2015



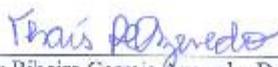
---

Fabio Barbour Scott, Ph.D., UFRRJ



---

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



---

Thaís Ribeiro Corrêa Azevedo, Dr<sup>a</sup>, UFRRJ

## DEDICATÓRIAS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por sua presença em todos os momentos abençoando minhas escolhas.

Ao meu pai Altair José dos Santos por seu apoio silencioso em todos os momentos, a minha mãe Aurora Rodrigues dos Santos e ao meu avô Aderbal Rodrigues por me guiarem mesmo na ausência.

Aos meus irmãos Roberto Borges dos Santos, Ronaldo Borges dos Santos, Robson Borges dos Santos e Silvia Regina Rodrigues dos Santos pela presença silenciosa ou não e aos meus cunhados Elza da Silva Baptista Gomes, Renata Romualdo dos Santos e Wladimir Camargo da Silva. E os sobrinhos Roberto, Leonardo, Eduardo, Pedro e Mariana

A minha Tia Maria da Graça e aos primos Elen Tatiane e Emerson pelos ouvidos sempre abertos, os conselhos bem-vindos e os desentendimentos que me levaram a continuar e repensar as escolhas da vida

Ao meu querido orientador Laerte Grisi que fez de sua vida acadêmica um exemplo e dedicou suas orientações em inspirar profissionais a procura da excelência na profissão de Médico Veterinário. Obrigado pela oportunidade de aprender todos os dias sobre dedicação e alegria com o trabalho. A sua imagem estará no meu coração e no coração de todos aqueles que tiveram o privilégio de conviver com sua humildade e sabedoria. Serei sempre grata pela oportunidade de ter convivido e aprendido com você.

Ao meu segundo orientador Fábio Barbour Scott por me acolher tornando possível esta conquista.

Aos meus orientadores não oficiais Julio Israel Fernandes, Thaís Ribeiro Correia Azevedo pelo aprendizado em todos os dias de convivência e a paciência para as perguntas.

Aos colegas do LQEPV Barbara Rauta Avelar, Diefrey Ribeiro Campos, Diego Dias da Silva, Monique Moraes Lambert, Renata Quintela Assad a convivência com vocês tornou todos os dias mais divertidos. E todos aqueles que de alguma forma ajudaram nesta conquista: Cássio, Cristiane, Fernando, Lílian, Maria Clara, Maria Nathalia, Nathalia, Pedro Ivan.

Ao corpo docente do curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, pelos ensinamentos e apoio durante o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo financeiro na modalidade de bolsista de Mestrado.

À minha amiga Camilla Viana Martins Ribeiro pelo apoio nos piores dias de faculdade, sem você eu não teria chegado neste dia. Obrigado pelas lágrimas e risadas compartilhadas nos papos de cozinha.

A todos os docentes do Colégio Técnico da UFRRJ que se dedicam a transformar adolescentes assustados em profissionais responsáveis

E a todos que em algum momento me incentivaram ou torceram por mim silenciosamente durante todos os meus anos de Rural. Mesmo não sendo citados nominalmente o apoio de vocês ajudou em cada passo.

Muito Obrigada!

## BIOGRAFIA

Rosângela Rodrigues dos Santos filha de Altair José dos Santos e Aurora Rodrigues dos Santos, nascida no dia 19 de setembro de 1977 na cidade do Rio de Janeiro. Estudou todo o ensino fundamental na Escola Municipal Coronel Corsino do Amarante e o Ginásio na Escola Municipal Gil Vicente. Em 1994 ingressou no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR) no curso Técnico em Agropecuária. Aprovada no vestibular da UFRRJ do ano de 2000 para o segundo semestre no curso de Veterinária e diplomada no ano de 2006. No ano de 2009 se especializou em Saúde Pública na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Entre os anos de 2008 e 2012 cursou Residência na UFRRJ na área de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais e no ano de 2013 foi admitida no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias para o nível de Mestrado na mesma instituição que se formou Médica Veterinária.

## RESUMO

SANTOS, Rosângela Rodrigues dos. **Eficácia da associação fluazuron e fipronil sobre *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em cães artificialmente infestados.** 2015. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

O objetivo do ensaio foi avaliar a eficácia e a ação de uma nova formulação de uso tópico contendo fluazuron e fipronil no controle do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. O ensaio foi realizado com quatro grupos experimentais para a avaliação *in vivo* da atividade de uma formulação sobre os diferentes estágios de *R. sanguineus*, sua eficácia na interrupção do processo de muda de larva para ninfa e de ninfa para adulto e a eficácia reprodutiva associadas a uma formulação contendo a associação de fipronil 12% e fluazuron 10%. Foram utilizados 12 cães da raça Beagle, onde cada grupo experimental foi composto por três cães divididos em quatro grupos, sendo um grupo controle, um tratado com fipronil, outro com fluazuron e o quarto com a formulação teste fipronil + fluazuron. Os cães foram infestados com 25 casais, 250 ninfas e 2500 larvas de *R. sanguineus*. A eficácia carrapaticida da associação fipronil e fluazuron teve uma ação larvicida com efeito imediato de 93,8% no dia 0 se mantendo em altos níveis de eficácia até chegar no dia +68 com 89,5%. Para ninfas a ação imediata foi de 79,8% no dia 0 e 89,5% no dia +68, já para adultos esta eficácia foi de 46,9%, porém ao final do ensaio a eficácia alcançou 95,2% mesmo após 68 dias do tratamento. Para a observação da eficácia na interrupção do processo de muda, os dados foram divididos em dois onde se observou a interrupção no processo de muda de larva para ninfa de 100% no dia 0 se mantendo assim até o dia +30, e terminando em 94,3% no dia + 68 e a média em todo o ensaio ficando em 98%. Quando se observou a muda de ninfa para adulto do dia 0 a eficácia também foi de 100% se mantendo assim até o dia experimental +47 declinando para 32% no dia final do experimento (dia +68), com média de 85%. A eficácia inibitória do processo reprodutivo da associação fipronil e fluazuron para o dia 0 foi de 97,31% e se mantendo em 100% a partir do dia +30 até o encerramento do ensaio no dia +69, demonstrando assim a eficácia da associação e constância nos dados comprovando que mesmo com um tempo grande decorrido seu uso controla muito bem a infestação por *R. sanguineus* em cães.

**Palavras-chave:** reguladores de crescimento de artrópodes, fenilpirazoles, carrapato do cão

## ABSTRACT

SANTOS, Rosângela Rodrigues dos. **Efficacy of the association on fipronil and fluazuron *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) in dogs artificially infested.** 2015. 60p. Dissertation (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

The objective of the test was to evaluate the efficacy and action of a new formulation for topical use in control of the tick *Rhipicephalus sanguineus*. The test was conducted with four groups for the evaluation of the activity in vivo of a test formulation on all instars of *R. sanguineus*, its effectiveness in interruption of the seeding larvae to nymph and progress of nymph to adult and reproductive effectiveness associated with a formulation containing association of fipronil 12% + fluazuron 10%. Were used 12 beagle dogs in the investigation, where each experimental group consisted of three dogs divided into four groups, one control group, other treated with fipronil, another with fluazuron and the forth with the test formulation fipronil + fluazuron. The dogs were infested with 25 couples, 250 nymphs and 2500 larvae of *R. sanguineus*. The efficacy acaricide of the association fipronil + fluazuron had a larvicidal action with immediate effect of 93.8% at day 0 remained at high efficiency levels up day +68 to reach 89.5%, for immediate efficiency action over nymphs was 79.8% at day 0 and 89.5% on day +68., while for adults this efficacy was 46.9%, which is considered low. However, at the end of the test the efficacy reached 95.2% even after 68 days of treatment. To observe the effect of changes in the switching process, the data were divided into two where the observed changes in the process of switching larva to nymph was 100% at day 0, thus keeping until day 30 and ending on 94.3% at day +68 on the average and the assay being around 98%. When we observed the changes from nymph to adult day 0 was also 100% remained so until the day +47 declining abruptly to 32% at the end of the experiment (day 68), with an average of 85%. The inhibitory efficacy of the reproductive process of fipronil association with fluazuron for the day 0 was 97.31% and remained at 100% from day 30 until the end of the test on day 69, demonstrating the effectiveness of the association and constancy in the data proving that even with a great time elapsed its use controls very well the infestation by *R. sanguineus* in dogs.

**Keywords:** arthropod growth regulators, phenylpyrazoles, dog tick

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos experimentais, sexo, idade dos cães e volume da substância empregado nos animais envolvidos no estudo de eficácia da associação de fluazuron com fipronil. ....	16
Tabela 2 Número médio de larvas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil .....	21
Tabela 3 Número médio de ninfas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil .....	22
Tabela 4 Número médio de fêmeas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil .....	24
Tabela 5 Percentual de larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas que mudaram para ninfas.....	25
Tabela 6. Percentual de ninfas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas que mudaram para adultos.....	27
Tabela 7 Peso médio de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 0.....	28
Tabela 8. Peso médio de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 14.....	28
Tabela 9. Peso médio de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 30.....	28
Tabela 10 Peso médio de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 47.....	29
Tabela 11. Percentual de eclosão das larvas oriundas dos ovos obtidos das teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas dos cães tratados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil e controle. ....	30

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre as larvas de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados .....	21
Figura 2. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre as ninfas de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados .....	23
Figura 3. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre os adultos de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados .....	24
Figura 4. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre o processo de muda de larva para ninfa de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados .....	26
Figura 5. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre o processo de muda de ninfa para adulto de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados .....	27
Figura 6. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil na inibição da eficiência reprodutiva de <i>R. sanguineus</i> desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados.....	30
Figura 7. Número total de larvas usadas no dia 0, aplicando a eficácia da inibição do processo de muda de larva p ninfa daí de ninfa para adulto, e a eficácia adulticida da associação, e aplicado a inibição da eficiência reprodutiva. <b>Erro! Indicador não definido.</b>	

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1.	Biologia e Importância de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	2
2.2	Controle de Ectoparasitos.....	5
2.3	Controle Químico dos Ectoparasitos .....	6
2.3.1	Fipronil.....	9
2.3.2	Fluazuron .....	11
2.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
2.5	Local do Estudo.....	14
2.6	Origem dos Carrapatos .....	14
2.7	Seleções dos Animais .....	15
2.8	Tratamento e Infestações.....	16
2.9	Avaliação in vivo da Atividade das Formulações Sobre os Diferentes Instares de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	18
2.10	Análise dos Resultados.....	19
3	RESULTADOS .....	20
3.1	Eficácia Carrapaticida .....	20
3.1.1	Eficácia Carrapaticida para Larva.....	20
3.1.2	Eficácia Carrapaticida para Ninfa .....	22
3.1.3	Eficácia Carrapaticida para Adulto .....	23
3.2	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda .....	24
3.2.1	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Larva para Ninfa.....	25
3.2.2	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Ninfa para Adulto .....	26
3.3	Eficácia Sobre a Inibição da Eficiência Reprodutiva.....	27
4	DISCUSSÃO .....	32
4.1	Eficácia da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil .....	32
4.1.1	Eficácia larvicida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil.....	32
4.1.2	Eficácia ninficida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil .....	32
4.1.3	Eficácia adulticida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil.....	33
4.2	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda .....	34
4.2.1	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Larva para Ninfa .....	34
4.2.2	Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Ninfa para Adulto .....	35
4.3	Eficácia Sobre a Inibição da Eficiência Reprodutiva.....	37
5	CONCLUSÃO .....	39
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

# 1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos constituem um grupo de grande importância em medicina veterinária, uma vez que podem causar lesões no hospedeiro durante o processo de alimentação além de transmitir agentes patogênicos, tais como protozoários e bactérias, para animais domésticos, silvestres e o homem (KAUFMAN, 1989; JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Os carrapatos da subordem Ixodida são os mais importantes grupos de vetores de patógenos do Filo Arthropoda. Estes carrapatos são responsáveis pela manutenção e transmissão de muitos patógenos que afetam a animais domésticos e a humanos, incluindo várias espécies de bactérias, helmintos, protozoários e vírus (JONGEJAN UILENBERG, 2004).

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como “carrapato marrom dos cães” ou “carrapato dos canis”, é originário da África e hoje é encontrado em todos os países do continente americano, sendo, provavelmente, a espécie de ixodídeo mais prevalente no mundo (PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008).

*R. sanguineus* é conhecido também como os carrapatos duros dos cães. Esta ação espoliativa é responsável pela transmissão de patógenos importantes para os animais e seres humanos parasitados e frequentemente leva a reações alérgicas ao animal picado, por isso a necessidade de se desenvolver produtos voltados para o controle destes ixodídeos.

Os reguladores de crescimento usados no controle de outros artrópodes estão sendo utilizados para o controle dos ixodídeos já que apresentam a característica de terem ação na quitinização da cutícula, e conseqüente fragilidade do estágio evolutivo do parasito.

Vale ressaltar a necessidade de utilização de produtos eficazes que apresentem pouca ou nenhuma ação sobre o organismo do hospedeiro.

Diante disso o objetivo desse trabalho foi avaliar uma formulação de uso tópico para cães constituída de fluazuron e fipronil no controle do carrapato *R. sanguineus*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Biologia e Importância de *Rhipicephalus sanguineus*

Os carrapatos são classificados na classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Parasitiformes, e subordem Ixodida. Existem aproximadamente 878 espécies, divididos em quatro famílias: Nutalliellidae, Laelapidae, sendo os carrapatos das famílias Argasidae (carrapatos de corpo mole) e Ixodidae (carrapatos de corpo duro) os mais abundantes. Os carrapatos de corpo mole são caracterizados por terem o capitulum posicionado subterminal, exceto em larvas, que têm o capitulum em uma posição anterior, um tegumento coriáceo altamente esculpido, e ausente o escudo dorsal. Todas as etapas de alimentação dos carrapatos de corpo duro têm um capitulum em posição anterior, tegumento estriado, e um escudo. Não é incomum para os carrapatos viverem por um ano ou mais, porém passam relativamente curtos períodos de tempo no hospedeiro (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é comumente encontrado no cão, mas pode parasitar outros mamíferos domesticados ou não, tais como capivaras, coelhos domésticos, búfalos, camelos, gatos, bovinos, cervos, caprinos, ovinos, leões, zebras e lebres. Pode ainda parasitar aves que se alimentam no solo, bem como o próprio homem, no qual as formas imaturas alimentam-se mais frequentemente do que previamente se supunha (BELATO, 1995; FERNANDES, 2000; GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; MILLER et al., 2001; MASSARD; FONSECA, 2004).

Podem se fixar em qualquer local do corpo do hospedeiro, tendo suas áreas de preferência: a cabeça (particularmente as orelhas), pescoço, espaços interdigitais, costas, região inguinal e axilas (ROMANO et al., 1998; LABRUNA; PEREIRA, 2001; FERNANDES, 2000; MASSARD; FONSECA, 2004). Porém, larvas, ninfas e adultos podem ser encontradas em qualquer região do corpo (FLECHTMANN, 1985). Embora o gênero *Rhipicephalus* tenha um hipostômio curto e mais superficial em comparação com os outros gêneros (por exemplo, a maioria das espécies de *Amblyomma* e *Ixodes*), eles podem se fixar firmemente à pele do hospedeiro (DANTAS-TORRES, 2010).

Do ponto de vista etológico, a espécie *R. sanguineus* é endofílico (adaptado para a vida interior de habitações), monotrófico (todos os estágios de desenvolvimento e alimentação são nas mesmas espécies hospedeiras), e de três hospedeiros (cada fase da vida requer um novo hospedeiro para se alimentar). No entanto, embora altamente endofílico, também é capaz de sobreviver no ambiente exterior, principalmente se os refúgios (por exemplo, paredes de pedra calcária) estão disponíveis. Além disso, embora monotrófico, este carrapato pode ocasionalmente se alimentar de outros hospedeiros, que não pertencem a sua "cadeia trófica natural". Estes fatos indicam que é um carrapato de hábitos, sendo capaz de adotar diferentes estratégias de sobrevivência, quando necessário (DANTAS-TORRES, 2010).

Sendo originário da África o carrapato *R. sanguineus* hoje é encontrado em todos os países do continente americano, sendo provavelmente, a espécie de ixodídeo mais prevalente no mundo. Muitos deles comumente identificados como *Rhipicephalus sanguineus*, podem representar outras espécies relacionadas (como exemplo a espécie *Rhipicephalus turanicus*). Sua introdução ocorreu no Brasil no início do século XX, sendo encontrado primeiramente em apenas poucos estados e no decorrer dos anos sua distribuição foi sendo amplificada. Estando hoje presente em todos os estados principalmente nas regiões metropolitanas (PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008).

Uma vez fixado no cão, *R. sanguineus* usa suas quelíceras para transfixar a pele e inserir seu hipostômio e as quelíceras na epiderme do hospedeiro, ocasionalmente alcançando as camadas mais superficiais da derme. Durante a fixação o carrapato secreta uma substância cimentante, que forma um cone na superfície da epiderme e se estende até o extrato córneo (SZABÓ, 1999). Enquanto procurando por sangue, capilares e pequenos vasos sanguíneos são lacerados e ocorrem hemorragias, criando uma piscina de alimentação (MANS; NEITZ, 2004), onde o carrapato suga o sangue e outros fluidos (DANTAS-TORRES, 2010).

Com relação ao ciclo biológico, *R. sanguineus* possui quatro estágios, sendo eles: ovo, larva, ninfa e adulto, que pode variar de 104 a 110 dias, em uma situação de temperatura e umidade controladas (SANTOS-SILVA, 1998). Os períodos de alimentação podem variar de dois dias a várias semanas, dependendo da fase evolutiva e hospedeiro. Os machos podem fazer vários repastos sanguíneos. Já foi demonstrado que quando fixados em um cão pode se mudar para outro cão coabitante e se alimentar (LITTLE; HOSTETLE; KOCAN, 2007). Além disso, carrapatos macho podem permanecer por longos períodos de tempo no hospedeiro. Curiosamente, tem-se

observado que a presença de machos podem aumentar o desempenho de alimentação de fases imaturas, particularmente ninfas (RECHAV; NUTTALL, 2000). Este fato sugere que os machos podem ter outras funções biológicas para além da reprodução (DANTAS-TORRES, 2010). Cada estágio, no final do período parasitário, se desprende do hospedeiro para o ambiente para realização da muda, no caso das larvas e ninfas ingurgitadas, e retornam ao hospedeiro (LABRUNA, 2004).

Os adultos somente chegam a maturidade sexual após a alimentação, pois a ingestão de sangue promove a oogênese e espermatogênese. Iniciando logo depois a cópula. A fêmea somente chega à plenitude da ingurgitação após a cópula e ingurgitada desprende-se do hospedeiro indo ao ambiente, onde procura abrigo, como pedras ou material vegetal seco, tábuas de madeira e frestas nas paredes, para realização de uma única postura, por um período de 12 a 14 dias (SANTOS-SILVA, 1998; LABRUNA; PEREIRA, 2001; DANTAS-TORRES, 2010). É necessária temperatura e umidade ótimas para a viabilidade dos ovos, uma vez que estes são extremamente sensíveis à desidratação (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001).

Dentro do ciclo de vida dos carrapatos, o estágio da fêmea ingurgitada é o de maior importância no crescimento da população, pois é o único que poderá dar origem a mais de um indivíduo, ou seja, enquanto uma fêmea poderá dar origem a milhares de larvas, uma larva ou uma ninfa poderá dar origem a apenas uma ninfa ou um adulto, respectivamente. Assim, pode-se inferir que no ambiente onde ocorre um maior desprendimento de fêmeas ingurgitadas do hospedeiro, será encontrada a maior parte das formas de vida livre do carrapato, especialmente as fases de fêmeas em postura, ovos e larvas não alimentadas (PAZ; LABRUNA; LEITE, 2008).

Incidentalmente, *R. sanguineus* tem sido implicado como vetor de muitos patógenos de cães, incluindo *Babesia canis*, *B. gibsoni*, *Cercopithifilaria grassi* (antes conhecida por *Dipetalonema grassi*), *Coxiella burnetti*, *D. dracunculoides*, *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma haemocanis* (antes conhecida por *Haemobartonella canis*) *Hepatozoon canis*, *Rangelia vitalli*, *Rickettsia conorii* e *R. Rickettsii*, (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; DANTAS-TORRES, 2008). Suspeita-se também que esteja envolvido na transmissão de outros patógenos importantes, como *Leishmania (Leishmania) infantum* [syn. *Leishmania (Leishmania) chagasi*], o agente etiológico da leishmaniose visceral (BLANC; CAMINOPETROS, 1930; COUTINHO, 2005). Esses fatos o colocam entre os mais importantes vetores na medicina e na veterinária do

mundo inteiro (DANTAS-TORRES, 2008; OTRANTO; DANTAS-TORRES; BREITSCHWERDT, 2009).

## **2.2 Controle de Ectoparasitos**

Os programas de controle têm como base a combinação harmônica de métodos mecânico/culturais (manejo das condições ambientais) e de métodos químicos (uso adequado de produtos seletivos) (PEREIRA; SANTOS, 1998). O sucesso ou o impacto econômico causado pelos ectoparasitos é usualmente um resultado direto de sua abundância e é frequentemente associado com o rápido aumento em sua densidade populacional. Como consequência o entendimento das forças que determinam a abundância dos ectoparasitos é crucial (COOP et al., 2002).

A prevenção e controle das infestações por carrapatos devem começar com uma compreensão sobre a biologia do parasito. As infestações podem ser evitadas pela diminuição das fases jovens dos carrapatos no hospedeiro e no ambiente através do uso criterioso de acaricidas para eliminar larvas, ninfas e adultos. O controle de carrapatos e das doenças transmitidas por eles é muitas vezes difícil devido à capacidade do ixodídeo de parasitar múltiplas espécies de hospedeiros, apresentar diferenças na duração dos ciclos de vida, alta capacidade de reprodução e permanência de fases imaturas no ambiente (DRYDEN; PAYNE, 2004; DRYDEN, 2009).

No entanto, quando se lida com a maioria dos carrapatos de três hospedeiros, o problema é que a maioria das fases reprodutivas não está sobre os cães ou gatos, mas em seus hospedeiros selvagens. Como de forma geral é limitada a capacidade de gerir carrapatos em animais selvagens, reinfestações são frequentes e uso prolongado de acaricidas de forma preventiva é rotina em muitas áreas. A espécie de carrapato *R. sanguineus* embora seja um carrapato de três hospedeiros, praticamente pode ser dito que se porta como um parasito de um hospedeiro, por preferir se alimentar em cães em todas as fases do seu ciclo de vida. Portanto, tem-se a oportunidade através de rigorosa aplicação de acaricidas de controlar as fêmeas antes de chegar à plenitude do seu ingurgitamento (DRYDEN, 2009).

A consciência crescente do papel dos artrópodes como vetores de doença direta ou indiretamente, levou a uma demanda de agentes de controle eficazes que possam ser

usados com segurança para o tratamento de animais de produção e companhia assim como para casas e estruturas (TAYLOR, 2001; DRYDEN, 2009).

Ao pensar sobre o controle do carrapato, algo deveria ser mantido em mente: apenas aproximadamente cinco por cento dos carrapatos estão no cão e o restante (~ 95%) se encontra no ambiente. Portanto, a eliminação eficaz de populações de carrapatos exigirá uma estratégia de controle integrado, visando a população canina, bem como o meio ambiente. Uma estratégia integrada de controle significa que toda tecnologia adequada e técnicas de gestão devem ser utilizadas, proporcionando uma diminuição efetiva das populações alvo de uma maneira economicamente viável. Esta abordagem inclui tanto a utilização de estratégias químicas e não químicas como a gestão ambiental (DANTAS-TORRES, 2008). Os veterinários devem ter uma compreensão da ecologia dos carrapatos encontrados na área que praticam sua profissão. Estes profissionais devem ser educados sobre os vários aspectos da ecologia dos carrapatos, a transmissão da doença e metodologias de controle para que eles possam, em seguida, educar sua equipe e proprietários de animais de estimação (DRYDEN, 2009).

### **2.3 Controle Químico dos Ectoparasitos**

Devido à grande necessidade de controle dos carrapatos substâncias derivadas de produtos naturais vêm sendo utilizadas desde a antiguidade, porém seu uso era limitado até o século passado. Moléculas orgânicas sintéticas começaram a ser sintetizadas no século XIX, mas seu uso massivo em agricultura, higiene e saúde animal começou na metade do século XX (GRAF, 1993).

Até meados do século XX os meios disponíveis para o controle do carrapato eram limitados, os principais produtos utilizados eram os derivados de arsênio, caracterizados por sua baixa eficácia e efeito residual além de sua elevada toxicidade para os animais. Com a descoberta das propriedades inseticidas do DDT em 1939 e o enorme desenvolvimento posterior dos pesticidas orgânicos, a situação melhorou dramaticamente para os criadores de gado em todo o mundo. O controle do carrapato poderia se beneficiar plenamente com o desenvolvimento da grande gama dos

inseticidas e acaricidas, embora esta evolução tenha sido impulsionada principalmente pelas necessidades da cultura de proteção das plantações (GRAF, 2004).

O mercado pet ectoparasiticida sofreu um enorme desenvolvimento durante os anos 2000, impulsionado principalmente pelo grande aumento na necessidade de controle de pulgas. As vendas de produtos para animais de estimação eram mais destinados ao controle do carrapato. Um setor que era amplamente negligenciado no passado, teve o seu momento quando a indústria de saúde animal tende nessa década a mudar seu foco para produtos voltados para os animais de estimação, que se acredita ser um pouco mais fáceis de desenvolver e mais rentável. Enquanto no passado, parasiticidas foram desenvolvidos para utilização em animais de grande porte e em seguida possivelmente adaptado para usar em animais de estimação, o oposto pode nesse momento não ser observado. Algumas moléculas de muito sucesso no controle de ectoparasitos de animais de companhia não fizeram e provavelmente não vão fazer, por várias razões, o seu caminho para o mercado de grandes animais (GRAF, 2004).

Muitos dos produtos químicos usados para controlar infestações por ectoparasitos de importância veterinária são neurotoxinas seletivas para o sistema nervoso de artrópodes. Recentemente houve uma significativa redução na utilização dessas neurotoxinas principalmente devido ao aparecimento de resistência dos ectoparasitos e um maior interesse humano pela segurança ambiental. Alguns compostos também podem possuir ambas as propriedades, larvicida e adulticida. Em sua maioria os produtos veterinários comerciais contém os dois ativos, inseticidas adulticidas como fipronil, imidacloprida, selamectina e Reguladores do Crescimento de Insetos (RCI), como lufenuron e piriproxifen (COOP et al., 2002).

Os cães podem ser tratados com uma diversidade de formas farmacêuticas como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, aerossóis, coleiras impregnadas, *spot-on*, *strip-on*, *pour-on* (GARRIS, 1991; SCOTT et al., 2002). O uso de acaricidas em cães é geralmente eficaz para eliminar as infestações de carrapatos e prevenir reinfestações durante um certo período de tempo. A frequência do tratamento depende do grau de infestação e a duração do efeito residual do acaricida. Em qualquer caso, as orientações do fabricante devem ser seguidas. Sempre que necessário, o veterinário pode adotar esquemas alternativos, embora cuidados devam ser tomados para evitar o uso inadequado de certos compostos ativos. O tempo exato necessário para o tratamento acaricida para eliminar as infestações pesadas é incerto. Exame físico regular pós-tratamento dos animais pode servir como um indicador do

progresso (isto é, sucesso ou fracasso) do programa de controle do carrapato (DANTAS-TORRES, 2008).

A última década do segundo milênio testemunhou a descoberta, desenvolvimento, e uso de vários novos inseticidas e pesticidas acaricidas tais como fipronil, imidacloprida, lufenuron, nitempiram e selamectina. Estes foram especificamente projetados pelos fabricantes para a morte rápida de pragas bem como a sua segurança para animais e pessoas. Os mecanismos de ação destes praguicidas exploram as diferenças fisiológicas entre os mamíferos e insetos ou carrapatos, resultando em baixa toxicidade. Especificamente, eles impedem o desenvolvimento de ovos de pulga, larvas, pupas e no ambiente. A incidência de toxicidade induzida por pesticidas em cães e gatos relacionadas com a utilização destas moléculas mais recentes parece ser limitada (HOVDA; HOOSER, 2002)

Inseticidas mais seletivos são altamente desejáveis em programas de manejo integrado de pragas por apresentarem modos de ação diferentes dos produtos neurotóxicos de largo espectro. Entre estes inseticidas estão os Reguladores de Crescimento de Insetos (RCI) que afetam a capacidade de crescimento e amadurecimento normal dos insetos. Os RCI's têm sido desenvolvidos devido à sua elevada atividade e seletividade contra insetos com baixa toxicidade para as espécies não-alvos (DARVAS, POLGAR, 1998; SCHNEIDER, SMAGGHE; VIÑUELA, 2003; DHADIALLA; CARLSON, 1998; NASR et al., 2010). Os RCI's estão sendo denominados de reguladores de crescimento de artrópodes (RCA), por agirem eficientemente no controle de artrópodes, como larvas de *R. (Boophilus) microplus*, impedindo a muda para ninfa (GRAF, 1993).

Na maioria dos casos, os RCA's requerem tempo para reduzir as populações de parasitos que parasiticidas convencionais, às vezes, reduzem rapidamente. Este grupo químico não apresenta efeito "knock down", atuando de forma lenta e gradual interferindo no seu crescimento e desenvolvimento. O melhor, é que eles sejam usados em combinação com adulticidas para alcançar o efeito "knock down" imediato (GRAF et al., 2004).

Eles foram divididos de acordo com o seu mecanismo de ação em: análogos do hormônio juvenil, inibidores da síntese de quitina (compostos derivados dos benzoilfeniluréias) e inibidores da deposição de quitina (derivados da triazina e da pirimidina) (GRAF, 1993).

### 2.3.1 Fipronil

O Fipronil (5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluormetil) fenil]-4-[(trifluormetil) sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrila) é um inseticida pertencente à classe dos fenilpirazoles, de segunda geração amplamente utilizada em medicina veterinária (EL-HASSANI et al., 2005, CRAVEDI et al., 2013), sendo utilizado mundialmente para o tratamento e controle de infestações por pulgas e carrapatos em cães e gatos (TAYLOR, 2001). Foi descoberto e desenvolvido pela Rhône-Poulenc, entre 1985 - 1987 e colocado no mercado em 1993 (TINGLE et al., 2003).

A ação do fipronil é focada na função normal do sistema nervoso central do inseto alvo, deprimindo sua função e causando paralisia pela potencialização do Ácido Gama Amino Butírico (GABA). O Sistema receptor de GABA é inibitório e atua de modo a impedir o excesso de estimulação de nervos. O bloqueio dos receptores GABA por ação do fipronil provoca hiperexcitação neural por entrada ativa de íons  $\text{Cl}^-$  e morte do inseto. O Fipronil é mais tóxico para insetos do que para mamíferos por causa da diferença de sensibilidade do receptor do GABA, atua matando pulgas e carrapatos por um mês ou mais, pois se dissolve na oleosidade da pele e se acumula nos folículos pilosos e glândulas sebáceas, o que permite sua contínua liberação. O produto final tem um baixo nível de toxicidade por via cutânea, ou a exposição por inalação ou oral e não é um sensibilizante da pele. Pode provocar irritação da pele e irritação leve aos olhos quando em concentrações elevadas somente. Os efeitos clínicos de produtos veterinários disponíveis no mercado são leves e autolimitantes. A exposição oral pode resultar em sialorréia transitória e vômitos intermitentes (TAYLOR, 2001; HOVDA; HOOSER, 2002; COUTINHO et al., 2005; MATOS; BALTHAZAR, 2008).

Os produtos a base de fipronil para uso veterinário bem como outros produtos de utilização final fipronil têm um baixo nível de toxicidade por via cutânea, ou a exposição por inalação ou oral, e também não é um sensibilizante da pele. A toxicidade cutânea parece ser baixa mesmo para o produto de uso técnico. A exposição oral significativa causará problemas neurológicos, incluindo convulsões. Outros órgãos afetados podem incluir a tireoide e rins (HOVDA; HOOSER, 2002).

Estudos realizados para avaliação da distribuição de fipronil na pele após aplicação de formulação “spot on”, demonstraram que a droga é amplamente distribuída no estrato córneo, epiderme e unidades pilo sebáceas, mas não na derme e hipoderme.

Nas unidades pilossebáceas se localiza preferencialmente nas glândulas sebáceas e ao redor dos pelos, sendo liberado lentamente pelos ductos foliculares. A distribuição do fipronil através da epiderme e das unidades pilossebáceas permite seu armazenamento nas glândulas sebáceas e sua gradual liberação via ductos foliculares. A migração do fipronil é atribuída a um processo chamado translocação, que consiste numa difusão passiva através das secreções sebáceas presentes nos pelos e na pele. Essa particularidade do fipronil garante, independentemente da formulação escolhida, sua persistência em altas concentrações na cobertura pilosa de cães e de gatos (TANNER et al., 1997; TAYLOR, 2001; HOVDA; HOOSER, 2002). Possui excelente atividade terapêutica e persistente contra carrapatos e pulgas quando topicamente administrado em animais domésticos, ele também é eficaz em baixas doses contra numerosos insetos que são pragas de culturas, utilizados assim como pesticida, no entanto é altamente tóxico para os insetos não-alvo, como por exemplo nas abelhas a DL 50 é muito baixa (EL-HASSANI et al., 2005).

O fipronil é resistente a lavagens da pele e a utilização de shampoo, consistindo numa boa indicação para animais que nadam ou precisam de banhos frequentes. Mas como a maior parte dos produtos que são aplicados em uma pequena área, este deve primeiro ser translocado por todo o corpo do animal antes dos parasitos terem contato com o princípio ativo. Este processo leva em torno de 24 horas, mas pode se prolongar caso o animal tenha uma pele muito seca, tiver sido banhado recentemente ou estiver com movimentação limitada (GORTEL, 1997; TANNER et al., 1997; CUNNINGHAM; RYAN, 1999).

O fipronil foi introduzido nos Estados Unidos em 1996 para uso em saúde animal, controle de ambientes internos e comercial para proteção das culturas. Produtos veterinários são rotulados para uso contra pulgas e carrapatos. Os produtos comercializados para uso não veterinário contêm concentrações variadas de fipronil, dependendo da sua finalidade (HOVDA; HOOSER, 2002). A formulação spray elimina os parasitos em até 48 horas, começa a exercer sua ação adulticida por contato, muitos ectoparasitos são mortos antes de se alimentarem, portanto pode ser especialmente útil em casos de dermatite alérgica a picada de pulgas (HUNTER et al., 1994; TANNER et al., 1997; CURTIS, 1999). A luz solar, imersão em água, e o banho não ter um impacto significativo sobre o desempenho do produto contido em composto. (CURTIS, 1999). O fipronil quando administrado por via oral em baixas concentrações possui uma meia vida mais longa, um percentual elevado do produto fica armazenado nos tecidos dos

animais, sendo liberado mais lentamente. Quando fornecido em doses elevadas, um percentual significativo da droga é eliminado pelas fezes e pela urina, o acúmulo nos tecidos é nulo (DEFRA, 1999).

Alguns autores consideram que o fipronil possui uma ampla margem de segurança em virtude da diferença estrutural do receptor GABA dos invertebrados e dos vertebrados, apresentando especificidade bem maior pelos canais dos insetos, sendo bem mais tóxicos para estes parasitos do que para os mamíferos (PAYNE et al., 2001; HOVDA; HOOSER, 2002). Isto justifica sua segurança em vertebrados e a aprovação do seu uso em cadelas e gatas gestantes ou em lactação e, em filhotes a partir de dois dias de vida, na forma de spray. A formulação “spot-on” não deve ser utilizada em filhotes de gatos com menos de três meses de idade e cães com menos de 1kg de peso corporal (ANDRADE; SANTARÉM, 2002).

### **2.3.2 Fluazuron**

Na década de 70, vários fármacos sintéticos que possuíam propriedades reguladoras de crescimento de insetos, foram avaliados em experimentos laboratório e em nível de campo, contra uma variedade de espécies de insetos de importância médica e econômica (ESTRADA; MULLA, 1986). Eles representam uma categoria relativamente nova de agentes para o controle de insetos, que não matam o parasito diretamente, e sim, interfere no seu crescimento e desenvolvimento, agindo principalmente nos estágios imaturos dos parasitos e, como tal, não são adequados ao controle rápido de populações de parasitos adultos já estabelecidas (GRAF, 1993).

Mais recentemente os benzoilfenilureias deram origem a produtos RCA's significativos no controle do carrapato (GRAF, 2004). Estes compostos são capazes de interferir no processo de muda afetando o metabolismo da quitina, ou da produção do hormônio envolvido alterando o crescimento e desenvolvimento do ectoparasito. Afeta os estágios larvais os tornando incapazes de sobreviver à próxima muda, e como ovcida inibindo a deposição de quitina na larva em desenvolvimento (OLIVEIRA et al., 2012; SCOTT et al., 2002).

A quitina é um hidrocarboneto importante na composição do exoesqueleto dos artrópodes e da casca dos ovos dos nematódeos, mas não está presente nos vertebrados. A quitina está sempre associada a proteínas, formando um complexo, a proporção entre

elas bem como a natureza de interação entre esses dois componentes é de importância para as propriedades mecânicas da cutícula e da membrana peritrófica (SPINDLER et al., 1990; GRAF, 1993). A síntese de quitina ocorre durante a embriogênese, ecdise e ingurgitamento de todos os ínstares. Ao empregar um regulador de crescimento de artrópodes a potência dos ductos salivares é comprometida, causando um desequilíbrio na hemolinfa (KEMP et al., 1990). O efeito é tal que as fêmeas de *R. (Boophilus) microplus* que se alimentam em bovinos tratados apresentam diminuição na postura, que resulta em ovos não viáveis, os carrapatos imaturos morrem, visto que eles são incapazes de realizar a muda para o próximo ínstar (BULL et al., 1996).

Os benzoilfenilureias (BFU), compreendem lufenuron, flufenoxuron, triflumuron, diflubenzuron e fluazuron (MILLER et al., 2001; CORREIA, 2003; OLIVEIRA et al., 2012), que impedem a formação da cutícula normal, provocando a mortalidade de insetos imaturos durante as ecdises (MILLER et al., 2001).

Fluazuron (FZN; 1-[4-chloro-3-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2pyridoxyl)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea) uma classe de inibidores da síntese de quitina, interferindo na síntese da quitina dos carrapatos, durante o ingurgitamento e ecdise. O produto Fluazuron foi o primeiro regulador de crescimento a ser registrado para o controle de ixodídeos, mas o seu uso é restrito a poucas espécies (BULL, 1996).

No caso de *R. sanguineus*, poucos estudos sobre o uso deste produto químico no controle do carrapato estão atualmente disponíveis na literatura (OLIVEIRA, 2012). Ele tem sido amplamente utilizado no controle de pulgas em cães e gatos, mas a sua eficácia como acaricida tem sido limitada a poucas espécies. Seu efeito sobre o carrapato *R. sanguineus* é pouco conhecido bem como o seu impacto sobre o seu ciclo biológico (CALLIGARI et al., 2013). Em seu trabalho de 2012 Oliveira teve por objetivo avaliar a susceptibilidade de ninfas de em diferentes doses de fluazuron e determinar as suas doses letais: 95% (LD95) e 50% (DL50).

Logo após sua aplicação, o fluazuron circula no sangue dos animais tratados por cerca de doze semanas, interrompendo o ciclo de vida do carrapato, em diferentes estágios, interferindo na formação da quitina. As larvas e as ninfas que ingerem o fluazuron no sangue do hospedeiro falham no desenvolvimento para o próximo ínstar. As fêmeas transferem o fluazuron para seus ovários e, conseqüentemente para seus ovos, inibindo seu desenvolvimento totalmente ou tornando as larvas recém eclodidas inviáveis, durante aproximadamente duas semanas (TECHNICAL MANUAL ACATAK). Devido à sua elevada especificidade, baixa toxicidade para mamíferos, o

fluazuron é um BFU especialmente promissor como inseticida e acaricida, possuindo atividade em baixas concentrações, com efeito, de longa duração, e potência residual (HINK et al. 1991; GRAF, 1993; HINKLE et al. 1995).

O fluazuron foi desenvolvido inicialmente como um inibidor de desenvolvimento de carrapatos, em especial para *R. (B.) microplus*, não atuando diretamente sobre seus diferentes estágios, mas interferindo no processo de ecdise e eclosão das larvas, além de apresentar atividade sobre outros artrópodes (GRAF, 1993; SLOWIK et al., 2001). Estudos preliminares demonstraram que o fluazuron também tem atividade sobre o carrapato *R. sanguineus* (MELO et al., 2006).

Pouco é conhecido acerca do impacto ambiental dos acaricidas com ingrediente ativo a base de BFU, como o fluazuron, por exemplo. Esses compostos são altamente tóxicos contra carrapatos, além de possuírem considerável ação contra pulgas, piolhos e dípteros, por interferirem na síntese de quitina e interromperem o ciclo de vida em muitos estágios. Como ainda não existe uma resistência generalizada contra BFU, inibidores de síntese de quitina, em populações de insetos, eles estão ganhando considerável popularidade (KRYGER et al., 2007).

## 2.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.5 Local do Estudo

O estudo foi realizado nas instalações do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado no município de Seropédica, a latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste e altitude de 26 metros. Sob aprovação da CEUA número 077/2014, em plenário realizado no dia 1 de agosto de 2014.

### 2.6 Origem dos Carrapatos

Os carrapatos utilizados no procedimento experimental foram provenientes da colônia de *R. sanguineus* mantida no LQEPV e que utiliza coelhos mestiços *Oryctolagus cuniculus* como hospedeiros, conforme metodologia proposta por Neitz et al. (1971).

As larvas de *R. sanguineus* utilizadas foram obtidas a partir de ovos provenientes das fêmeas ingurgitadas recuperadas dos coelhos. Para as infestações, os ovos foram pesados, separados em alíquotas de 100mg e acondicionados em seringas descartáveis adaptadas com a extremidade oposta ao embolo cortada e vedada com algodão. Essas seringas foram mantidas em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio (BOD) durante 10 dias, para ocorrer a eclosão das larvas. Nesta etapa, foi considerado que em cada 100mg dos ovos correspondiam a aproximadamente 2.500 larvas não alimentadas (MELO, 2007).

Para a obtenção das ninfas foram contadas manualmente 200 larvas ingurgitadas de *R. sanguineus*, recuperadas dos coelhos e, posteriormente, foram acondicionadas em seringas adaptadas, como descrito anteriormente para larvas e acondicionadas em BOD.

Para as infestações com adultos de *R. sanguineus*, 25 casais foram contados manualmente e acondicionados em seringas de 10 ml adaptadas do mesmo modo anterior.

Após eclosão das larvas, ecdise das ninfas e adultos, foi respeitado um período de 15 a 21 dias de jejum para endurecimento da quitina, antes de serem empregados nas infestações.

## **2.7 Seleções dos Animais**

Para a avaliação da atividade das formulações em teste, sobre os diferentes instares de *R. sanguineus*, foram selecionados 12 cães da raça Beagle, machos e fêmeas, de um total de 80 cães mantidos no canil experimental do LQEPV, com idade adulta (Tabela 1).

Antes do tratamento, os animais foram infestados com larvas, ninfas e adultos de *R. sanguineus*, e por meio da contagem dos espécimes recuperados de cada instar os animais foram randomizados e sorteados em quatro grupos de três animais, mantendo-se a proporção de machos e fêmeas iguais entre os grupos.

**Tabela 1.** Grupos experimentais, sexo, idade dos cães e volume da substância empregado nos animais envolvidos no estudo de eficácia da associação de fluazuron com fipronil.

<b>Controle</b>	<b>Sexo</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Volume (mL)</b>
044269	Macho	9,0	-
236395	Fêmea	8,15	-
236566	Fêmea	9,5	-
<b>Fluazuron</b>			
239697	Macho	7,4	0,74
035813	Fêmea	10,3	1,03
252195	Fêmea	10,2	1,02
<b>Fluazuron + Fipronil</b>			
298497	Macho	9,4	0,94
299437	Fêmea	10,9	1,09
250426	Fêmea	10,5	1,05
<b>Fipronil</b>			
236096	Macho	9,5	0,67
236334	Fêmea	9,0	0,67
236022	Fêmea	8,8	0,67

## 2.8 Tratamento e Infestações

No dia 0, dia do tratamento, os animais foram pesados (Tabela 1) e divididos em quatro grupos:

**Grupo 1.** Três cães foram mantidos como controle sem tratamento.

**Grupo 2.** Três cães foram medicados com a formulação contendo 10% de fluazuron, com o volume de 1mL/10Kg de peso corporal (pc), correspondendo a dose de 10mg/Kg pc.

**Grupo 3.** Três animais foram medicados com a formulação contendo 10% de fluazuron e 12,5% de fipronil, que foi empregada no volume de 1mL/Kg pc, correspondendo a dose de 10mg/Kg pc de fluazuron e 7,5 mg/Kg pc de fipronil.

**Grupo 4.** Três animais foram medicados com a formulação contendo de fipronil que foi empregada no volume de 1mL/Kg pc, correspondendo a dose de 7,5 mg/Kg pc de fipronil.

A utilização de um grupo medicado somente com fluazuron é justificada para que se pudesse ter uma noção clara da ação deste fármaco sobre o carrapato sem a interposição a ação do fipronil. Desta forma se poderia de forma mais clara estabelecer a ação do fluazuron quanto a ação carrapaticida e reguladora de crescimento de artrópodes.

Na mesma linha de pensamento a utilização de um grupo de animais medicados somente com fipronil se justifica para que se pudesse de forma comparativa, verificar se a associação deste fármaco com ação carrapaticida com o fluazuron, fármaco com ação IGR, que traria benefícios adicionais para o controle do carrapato.

Antes do tratamento foram realizadas três infestações em dias distintos com larvas (dias -5, -3 e -1), ninfas (dias -7, -3 e -1), adultos (dias -10, -5 e -1). Estas infestações foram realizadas com a finalidade de permitir que no momento do tratamento estivessem presentes sobre os animais as diferentes formas evolutivas em seus diferentes graus de ingurgitamento. Após o tratamento, as infestações foram realizadas nos dias +14, +30, +47 e +68. Cada animal foi infestado, em cada desafio, com as três fases do carrapato *R. sanguineus*: aproximadamente 2.500 larvas, 250 ninfas e 25 casais de adultos (MELO, 2007).

Para realização deste estudo foi utilizada uma nova metodologia, onde cada animal ficou alocado em um canil individual de alvenaria revestido por um piso de cerâmica branco e com uma porta com tela galvanizada. Cada instalação está localizada a 1,2 metros do solo e apresenta medidas de 100cm de largura, 60cm de comprimento e 72cm de altura. Os animais ficaram sobre uma grade de alumínio suspensa a 21cm do piso do boxe para que ocorresse escoamento de dejetos e a queda dos ixodídeos. Para captura dos carrapatos, ao redor do compartimento inferior, das paredes e do teto do canil, fitas adesivas dupla face foram fixadas com o objetivo de capturar os carrapatos que saíssem do compartimento abaixo da grade.

Após as infestações, os canis foram inspecionados duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde, até o décimo dia após cada desafio. As larvas e as ninfas coletadas foram contadas e separadas em seringas de cinco ml, previamente preparadas para o seu acondicionamento, onde se anotava o número do animal, tratamento, dia experimental,

fase evolutiva e número de espécimes coletados. Posteriormente, foram colocadas em BOD, até a realização das mudas para ninfas e adultos. As teleóginas recuperadas eram lavadas e secas em papel toalha para acondicionamento em placas de petrie e fixadas em fita dupla face para a separação da postura realizada e propiciar o cálculo da eficácia reprodutiva.

## **2.9 Avaliação *in vivo* da Atividade das Formulações Sobre os Diferentes Instares de *Rhipicephalus sanguineus***

A avaliação da eficácia foi efetuada através de contagens de cada fase dos carrapatos recuperadas em cada desafio experimental, após o devido desprendimento do hospedeiro. A eficácia das formulações do fluazuron, fluazuron associado ao fipronil e fipronil para cada desafio após o tratamento foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\text{Eficácia do tratamento} = \frac{(\text{média das fases evolutivas do carrapato recuperados no grupo controle} - \text{média das fases evolutivas do carrapato do grupo tratado})}{(\text{média das fases evolutivas do carrapato recuperados no grupo controle})} \times 100$$

As fêmeas ingurgitadas eram coletadas, contadas, lavadas, acondicionadas em placas de petri e fixadas por meio de fita dupla face. Posteriormente, incubadas em BOD, durante 21 dias, para realização da postura.

As massas de ovos obtidos das posturas das teleóginas recuperadas de cada animal eram pesadas e colocadas em seringas descartáveis, vedadas com algodão e acondicionadas em BOD, por 21 dias para posterior avaliação da eclodibilidade.

Para o cálculo de eficácia dos diferentes tratamentos eram seguindo os parâmetros descritos por Drummond et al. (1973), sendo o cálculo da eficiência reprodutiva (ER) avaliado pela fórmula:

$$\text{ER} = \frac{\text{peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão}}{\text{peso das teleóginas}} \times 20.000$$

O cálculo para percentagem de eficácia dos tratamentos seguiu a fórmula:

$$EP = \frac{(ER \text{ controle} - ER \text{ tratado}) \times 100}{ER \text{ controle}}$$

Para o cálculo de eficácia da formulação utilizada no controle de *R. sanguineus* foi utilizada a fórmula:

$$\text{Eficácia na inibição da reprodução (\%)} = \frac{(\text{Média da Eficiência Reprodutiva do grupo controle} - \text{Média da Eficiência Reprodutiva do grupo tratado}) \times 100}{\text{Média da Eficiência Reprodutiva do grupo controle}}$$

Para a avaliação da eficácia do tratamento na inibição da muda das fases evolutivas de *R. sanguineus*, foi realizada a contagem do número de espécimes que realizaram mudas para ninfas e adultos, em cada desafio. O cálculo da eficácia seguiu de acordo com a fórmula:

$$\text{Eficácia na inibição da muda} = \frac{(\text{número médio de larvas ou ninfas que realizaram a muda do grupo controle} - \text{número médio de larvas ou ninfas que realizaram a muda do grupo tratado})}{(\text{número médio de larvas ou ninfas que realizaram a muda do grupo controle}) \times 100}$$

## 2.10 Análise dos Resultados

Em decorrência do pequeno número de animais envolvidos, número insuficiente para realização de teste estatístico foi realizada uma análise descritiva dos resultados.

### **3 RESULTADOS**

Os resultados foram agrupados de forma a abordar os dados na seguinte sequência: eficácia carrapaticida para larva, para ninfa e para adulto; depois eficácia na interrupção do processo de muda de larva para ninfa e de ninfa para adulto; e por último a eficácia na inibição da eficiência reprodutiva. Depois foi efetuada uma sistematização dos resultados de forma a consolidar a eficácia obtida da associação.

#### **3.1 Eficácia Carrapaticida**

Neste subitem serão abordados resultados referentes a resposta das formulações testes quanto a ação carrapaticida. A avaliação foi efetuada de forma a comparar o número de larvas, ninfas e teleóginas ingurgitadas recuperadas dos grupos medicados versus o do controle.

##### **3.1.1 Eficácia Carrapaticida para Larva**

Os dados dos números médios de larvas ingurgitadas desprendidas e recuperadas dos animais dos grupos Controle, Fluazuron, Fipronil e Fluazuron + Fipronil encontram-se dispostos na Tabela 2. Os valores de eficácia larvicida para cada grupo medicado estão dispostos na Figura 1.

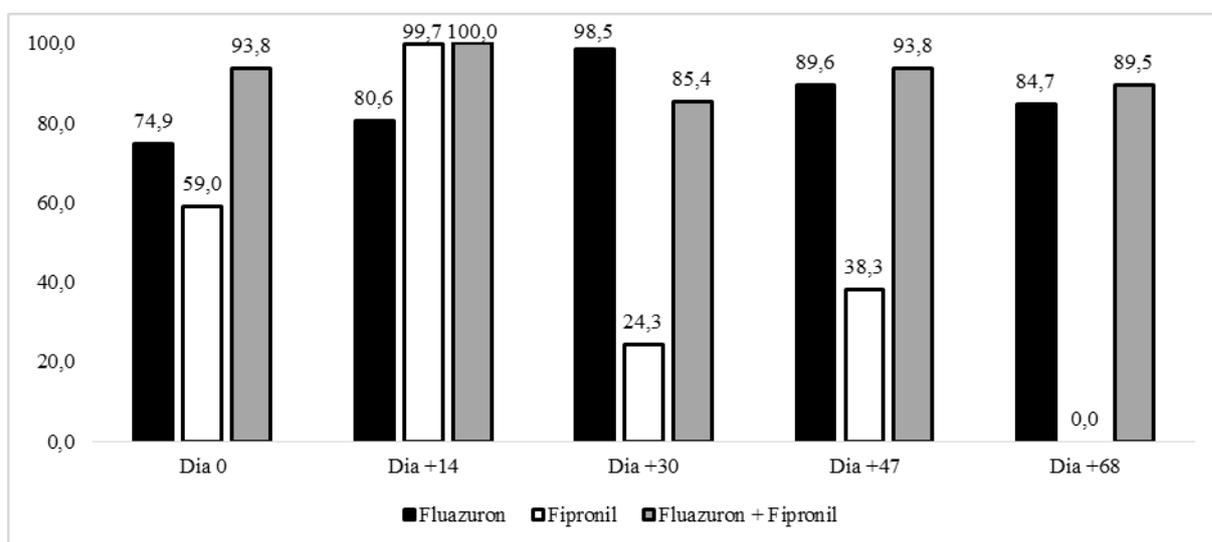
As médias de larvas ingurgitadas recuperadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 315,30; 248; 462,70; 344,30 e 243,30 para o Grupo Controle, de 79; 48; 7; 35,70 e 37,30 para o Grupo Fluazuron, 21,67; 0; 95,30; 65 e 104 para o Grupo Fipronil, e de 19,70; 0; 8,30; 20,67 e 32,67 para o Grupo Fluazuron + Fipronil.

As eficácias larvicida observadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente, de 74,90; 80,60; 98,50; 89,60 e 84,70% para o Grupo Fluazuron, 59,00; 99,70; 24,30; 38,30 e 0% para o Grupo Fipronil e 93,80; 100; 85,40; 93,80 e 89,50% para o grupo Fluazuron + Fipronil.

Comparativamente pode-se observar que imediatamente após o tratamento foi verificada ação larvicida dos grupos medicados sobre a fase de larva, pronunciadamente superior para a associação do fipronil com o fluazuron 93.80% para a tomada de tempo do dia 0. Este fato é de relevância pois mostra um efeito imediato muito bom para esta fase evolutiva. O fipronil isolado apresentou apenas 59% e o Fluazuron 74,90%. A eficácia da associação se manteve elevada durante todos os desafios chegando ao 68º dia em 89,50%.

**Tabela 2** Número médio de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil

Grupos	Dia 0	Dia 14	Dia 30	Dia 47	Dia 68
Controle	315,30	248	462,70	344,30	243,30
Fluazuron	79	48	7	35,70	37,30
Fipronil	21,67	0	95,30	65	104
Fluazuron + Fipronil	19,70	0	8,30	20,67	32,67



**Figura 1.** Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre as larvas de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

### 3.1.2 Eficácia Carrapaticida para Ninfa

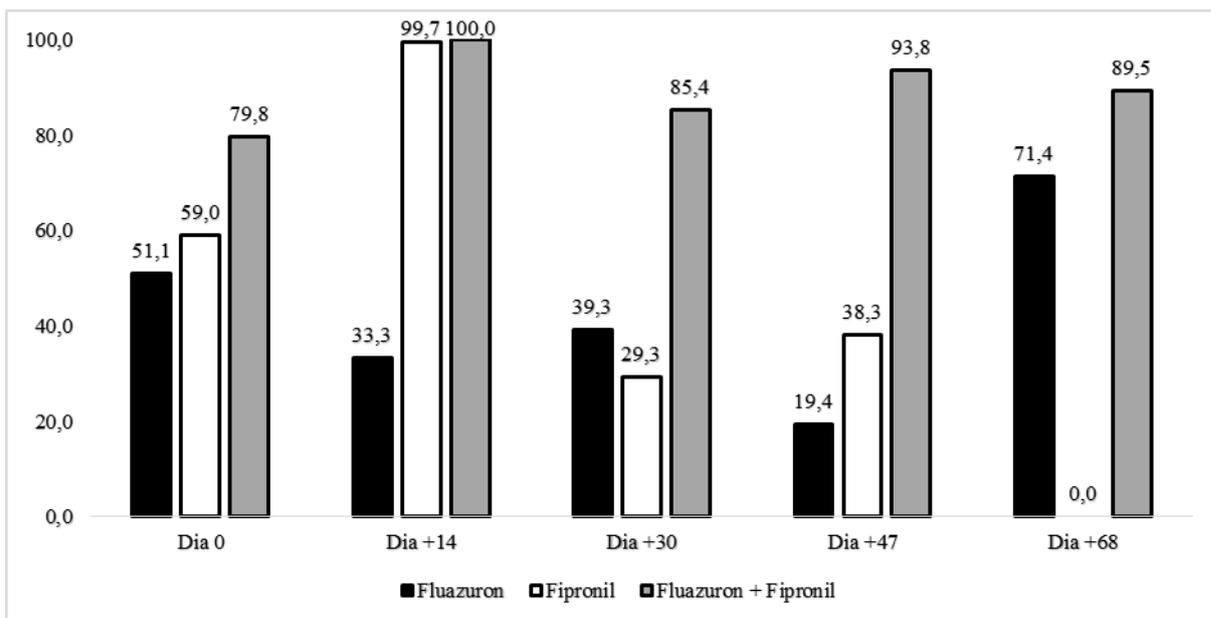
Os dados dos números médios de ninfas ingurgitadas desprendidas e recuperadas dos animais dos grupos Controle, Fluazuron, Fipronil e Fluazuron associado ao Fipronil encontram-se dispostos na Tabela 3. Os valores de eficácia ninficida para cada grupo medicado estão dispostos na Figura 2.

As médias de ninfas ingurgitadas recuperadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 313,30; 111,30; 61,70; 27 e 60,30 para o Grupo Controle, de 147; 19,30; 28; 4,70 e 3,30 para o Grupo Fluazuron, de 128,30; 0,30; 46,70; 16,70 e 54 para o Grupo Fipronil, e de 63,30; 0; 9; 1,70 e 6,30 para o Grupo Fluazuron + Fipronil.

As eficácias ninficidas observadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente, de 53,10; 33,30; 39,30; 19,40 e 71,40% para o Grupo Fluazuron, 59; 99,70; 24,30; 38,30 e 0% para o Grupo Fipronil, e 79,80; 100; 85,40; 93,80 e 89,50% para o grupo Fluazuron + Fipronil.

**Tabela 3** Número médio de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil

Grupos	Dia 0	Dia 14	Dia 30	Dia 47	Dia 68
Controle	313,30	111,30	61,70	27	60,30
Fluazuron	147	19,30	28	4,70	3,30
Fipronil	128,30	0,30	46,70	16,7	54
Fluazuron + Fipronil	63,30	0	9	1,70	6,30



**Figura 2.** Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre as ninfas de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

### 3.1.3 Eficácia Carrapaticida para Adulto

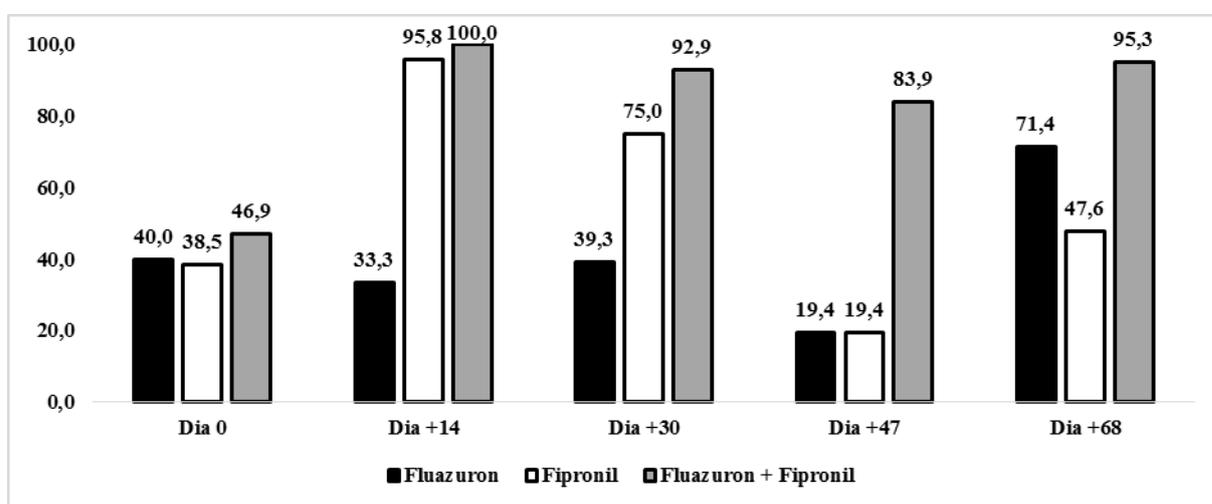
Os dados dos números médios de fêmeas ingurgitadas desprendidas e recuperadas dos animais dos grupos Controle, Fluazuron, Fipronil e Fluazuron + Fipronil encontram-se disposto na Tabela 4. Os valores de eficácia adulticida para cada grupo medicado estão dispostos na Figura 3.

As médias de teleóginas ingurgitadas recuperadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 43,30; 8; 9,30; 10,30 e 7 para o Grupo Controle, de 26; 5,30; 5,70; 8,30 e 2 para o Grupo Fluazuron, de 23; 0; 0,70; 8,30 e 3,70 para o Grupo Fipronil, e de 26,70; 0,30; 2,30; 1,70 e 0,30 para o Grupo Fluazuron + Fipronil.

As eficácias adulticida observadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente, de 40; 33,30; 39,30; 19,40 e 71,40% para o Grupo Fluazuron; 38,50; 95,80; 75; 19,40 e 47,60% para o Grupo Fipronil, e 46,90; 100; 92,90; 83,90 e 95,20% para o grupo Fluazuron + Fipronil.

**Tabela 4** Número médio de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados com a formulação teste de fluazuron com fipronil, fluazuron e fipronil

Grupos	Dia 0	Dia 14	Dia 30	Dia 47	Dia 68
Controle	43,30	8,00	9,30	10,30	7
Fluazuron	26	5,30	5,70	8,30	2
Fipronil	23	0	0,70	8,30	3,70
Fluazuron + Fipronil	26,70	0,30	2,30	1,70	0,30



**Figura 3.** Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre os adultos de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

### 3.2 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda

Neste subitem serão abordados os resultados referentes a resposta da formulação fluazuron com Fipronil quanto a ação IGR sobre os processos de mudas entre larva e ninfa e de ninfa para adulto. A avaliação foi efetuada de forma a comparar os percentuais de mudas entre cada fase do grupo controle com os grupos medicados.

### 3.2.1 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Larva para Ninfa

Os dados dos valores dos percentuais médios de larvas que mudaram para ninfa dos animais dos grupos Controle, Fluazuron, Fipronil e Fluazuron + Fipronil encontram-se disposto na Tabela 5. Os valores de eficácia larvicida para cada grupo medicado estão dispostos na Figura 4

Os percentuais médios de larvas que mudaram para ninfa para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 69,80; 76,50; 79,70; 82,60 e 89,60 para o Grupo Controle, de 0; 0; 0; 0 e 8,90 para o Grupo Fluazuron, de 40; 0; 5,20; 43,10 e 69,90 para o Grupo Fipronil, e de 0; 0; 0; 1,60 e 5,10 para o Grupo Fluazuron + Fipronil.

As eficácias na interrupção do processo de muda de larva para ninfa observadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente, de 100; 100; 100; 100 e 90% para o Grupo Fluazuron, 42,70; 0; 93; 4; 47,80 e 22% para o Grupo Fipronil, e 100; 0; 100; 98 e 94,30% para o grupo Fluazuron + Fipronil.

**Tabela 5** Percentual de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* recuperadas que mudaram para ninfas.

Grupo	Dia 0	Dia 14	Dia 30	Dia 47	Dia 68
Controle	69,80	76,50	79,70	82,60	89,60
Fluazuron	0	0	0	0	8,90
Fipronil	40	0	5,20	43,10	69,90
Fluazuron + Fipronil	0	0	0	1,60	5,10

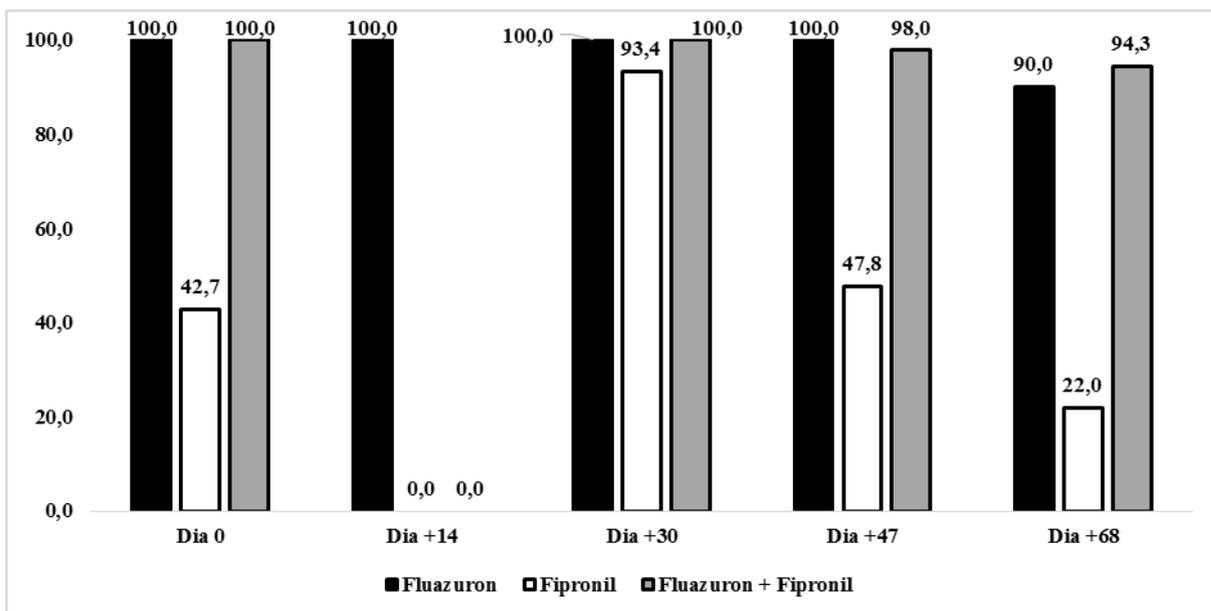


Figura 4. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre o processo de muda de larva para ninfa de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

### 3.2.2 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Ninfa para Adulto

Os dados dos valores dos percentuais médios de ninfas que mudaram para adultos dos animais dos grupos Controle, Fluazuron, Fipronil e Fluazuron + Fipronil encontram-se disposto na Tabela 6 Os valores de eficácia na interrupção do processo de muda de ninfa para adultos para cada grupo medicado estão dispostos na Figura 5.

Os percentuais médios de ninfas que mudaram para adultos para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 66,70; 83,20; 83,80; 93,80 e 85,10 para o Grupo Controle; de 30,80; 3,40; 23,80; 57,10 e 60 para o Grupo Fluazuron; de 8,30; 0; 43,60; 58 e 61,70 para o Grupo Fipronil; e de 0; 0; 7,40; 0 e 57,90 para o Grupo Fluazuron + Fipronil.

As eficácias na interrupção do processo de muda de ninfa para adulto observadas para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 foram respectivamente de 53,80; 95,90; 71,60; 39,10 e 29,50% para o Grupo Fluazuron; 87,50; 0; 48; 38,20 e 27,40% para o Grupo Fipronil 100; 100; 91,20; 100 e 32% para o grupo Fluazuron + Fipronil.

**Tabela 6.** Percentual de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* recuperadas que mudaram para adultos.

Grupo	Dia 0	Dia 14	Dia 30	Dia 47	Dia 68
Controle	66,70	83,20	83,80	93,80	85,10
Fluazuron	30,80	3,40	23,80	57,10	60
Fipronil	8,30	0	43,60	58	61,70
Fluazuron + Fipronil	0	0	7,40	0	57,90

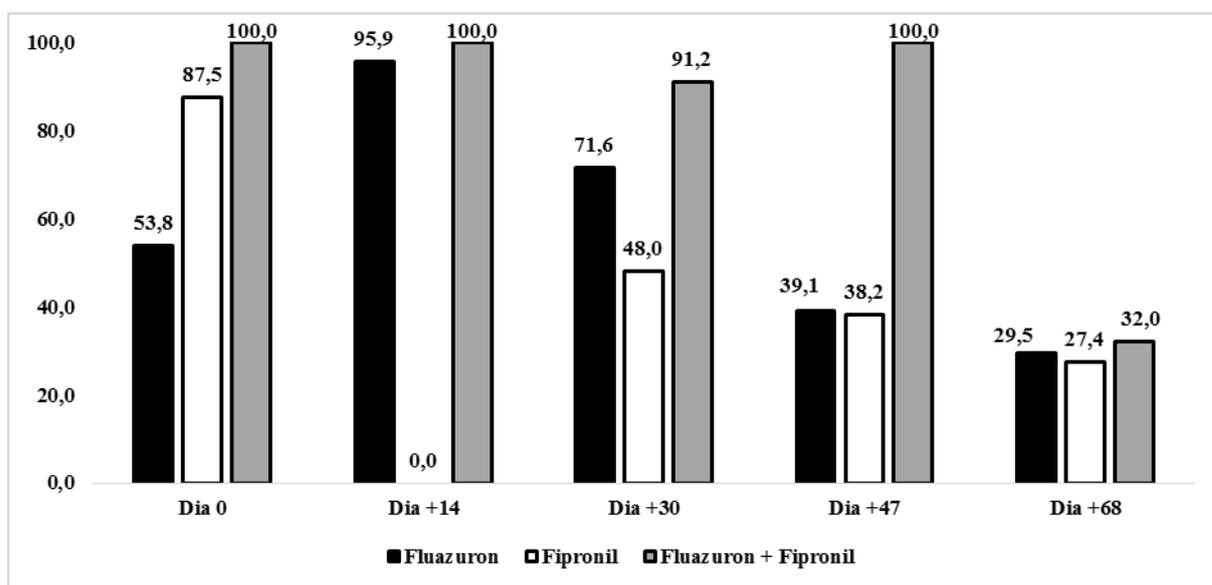


Figura 5. Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil sobre o processo de muda de ninfa para adulto de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

### 3.3 Eficácia Sobre a Inibição da Eficiência Reprodutiva

Os dados de peso médio de teleóginas de *R. sanguineus*, peso médio de postura, percentual médio de eclosão das larvas, índice reprodutivo e inibição da reprodução dos diferentes grupos experimentais para os desafios dos dias 0, 14, 30, 47 e 68 estão respectivamente, nas Tabelas 7 a 11 e Figura 6.

**Tabela 7** Peso médio de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus*, das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 0.

Grupo	Peso médio das teleóginas	Peso médio das posturas	Percentual médio de eclosão	Índice reprodutivo	Inibição da Reprodução
Controle	0,152	0,055161538	90,38	65802,50871	
Fluazuron	0,119	0,021858974	26	9576,582415	85,44
Fipronil +Fluazuron	0,090	0,006333333	12,5	13291,70037	97,31
Fipronil	0,106	0,002803279	42	2231,474289	96,60

**Tabela 8.** Peso médio de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus*, das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 14.

Grupo	Peso médio das teleóginas	Peso médio das posturas	Percentual médio de eclosão	Índice reprodutivo	Inibição da Reprodução
Controle	0,125	0,0691	90,38	99695,47872	0
Fluazuron	0,068	0,0010	7,00	205,5045872	99.79
Fipronil +Fluazuron	0	0	0	0	0
Fipronil	0	0	0	0	0

**Tabela 9.** Peso médio de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus*, das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 30.

Grupo	Peso médio das teleóginas	Peso médio das posturas	Percentual médio de eclosão	Índice reprodutivo	Inibição da Reprodução
Controle	0,079	0,0766	94,64	182397,92	
Fluazuron	0,070	0,0072	0	0	100
Fipronil +Fluazuron	0,118	0	0	0	100
Fipronil	0,410	0	0	0	100

**Tabela 10** Peso médio de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus*, das posturas, percentual de eclosão, índice reprodutivo e inibição de reprodução das teleóginas ingurgitadas, desprendidas naturalmente e recuperadas dos cães medicados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil, assim como dos controles, para o desafio do dia 47.

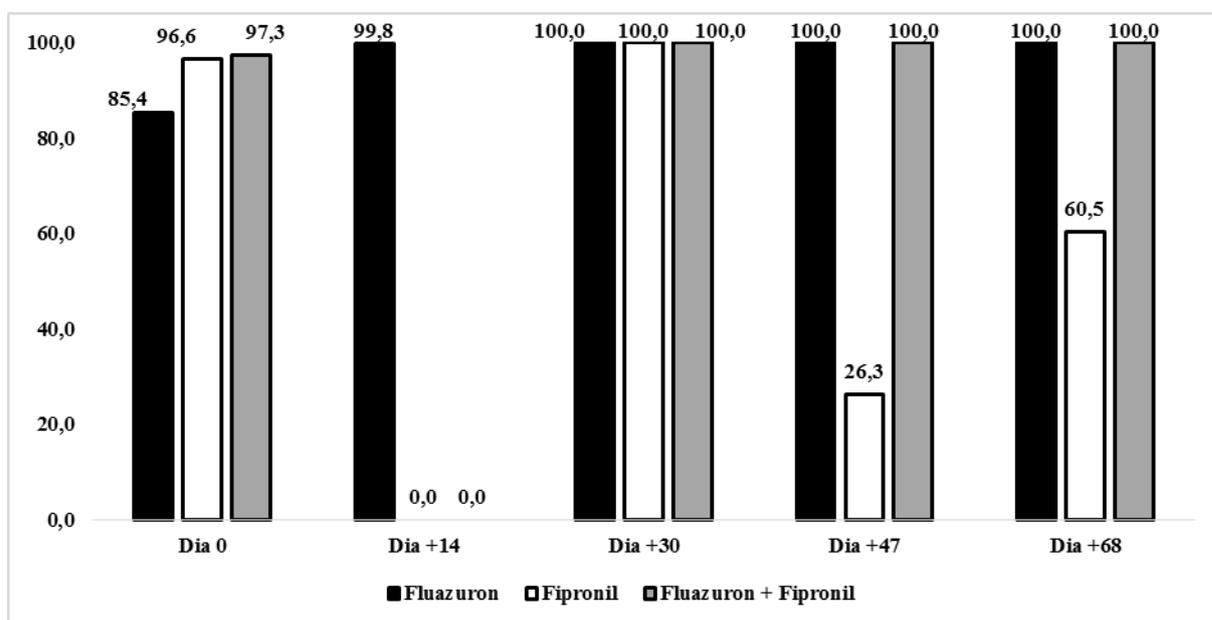
Grupo	Peso médio das teleóginas	Peso médio das posturas	Percentual médio de eclosão	Índice reprodutivo	Inibição da Reprodução
Controle	0,128	0,0707	94,89	105127,97	0
Fluazuron	0,084	0,0003	0	0	100
Fipronil	0,107	0	0	0	100
+Fluazuron					
Fipronil	0,109	0,0580	72,89	77444,4444	26,33

Como no final do processo reprodutivo o fator que é de maior relevância é a eclosão das larvas, passaremos a discutir de forma isolada e comparativa somente este item dentre os outros que formam a avaliação da eficiência reprodutiva. Isto é fato, pois são as larvas eclodidas que irão reinfestar o ambiente onde o animal encontra-se estabelecendo o fechamento do ciclo evolutivo do carrapato.

Na Figura 6 pode ser percebido que a eclosão das larvas observadas para o grupo controle esteve em valores sempre superiores a 90% ao longo de todo o período de 68 dias. O grupo da associação de fluazuron + fipronil foi o que apresentou os melhores resultados na inibição da eclosão das larvas. Destaca-se que mesmo as posturas das teleóginas que se desprenderam na tomada de tempo 0, apresentaram níveis de eclosão de larvas de apenas 12,50%, muito inferior aos 90,38% do grupo controle. Da mesma forma o fluazuron apresentou para este aspecto uma eclosão de 26% e o grupo fipronil de 42%. Depois nas tomadas de tempo dos dias 14, 30, 47 e 68 para a associação foi observado 0% de eclosão das larvas, ou seja, 100% de inibição deste processo. Em teoria significa, que das larvas que viessem inicialmente parasitar um cão, e conseguissem sobreviver a todas as ações possíveis que a combinação fluazuron + fipronil quanto ao controle, e passassem por todas as fases, ninfa e adulto, essas teleóginas sobreviventes oviporiam pouquíssimos ovos viáveis que iriam reinfestar o ambiente de forma discreta. Assinalando que as larvas só iriam eclodir oriundas das posturas das teleóginas do tempo 0. O estudo foi encerrado com 68 dias com eficácia na inibição da eficiência reprodutiva de 100%, conforme observado na figura.

**Tabela 11.** Percentual de eclosão das larvas oriundas dos ovos obtidos das teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* recuperadas dos cães tratados com as formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil e controle.

Grupo	Dia 0	Dia 14	Dia30	Dia 47	Dia 69
Controle	90,38	90,08	94,64	94,89	90,66
Fluazuron	26	7	0	0	0
Fipronil	42	0	0	72,88	90
Fipronil+Fluazuron	12,50	0	0	0	0



**Figura 6.** Eficácia (em %) das formulações fluazuron, fipronil e fluazuron com fipronil na inibição da eficiência reprodutiva de *R. sanguineus* desprendidas naturalmente e recuperadas de cães tratados

Fazendo a extrapolação de uma situação imaginária onde avaliamos a ação desta associação, fluazuron com fipronil, sobre uma população inicial de 7500 larvas infestantes. Usamos para isto os valores apresentados no dia zero de eficácia larvicida (93,80%), ação ninficida (79,80%), ação adulticida (46,90%), e ação na inibição da eficiência reprodutiva (97,30%) de forma a verificar comparativamente quantas destas larvas chegariam até a fase adulta e posteriormente quanto seria viável da postura destas fêmeas ingurgitadas. Desta forma poderíamos verificar, através de um cálculo hipotético, a importância que a associação teria no controle deste parasito, como agente

direto das formas evolutivas presentes no animal, assim como de forma indireta nas formas evolutivas presentes no ambiente.

A associação do fluazuron com fipronil permitiria que das 7500 larvas infestadas no animal previamente ao tratamento sofressem a ação larvicida da associação de 93,80%, destas somente 465 chegariam a fase de ninfa, que ao subirem no animal para se alimentar sofreriam a ação ninficida de 79,80%, ou seja, somente 94 sobreviveriam ao contato do produto e conseguiriam chegar a fase de adulto. Os adultos ao procurarem novamente o animal para se alimentar sofreriam novamente a ação adulticida do produto de 46,90% e chegariam ao final do ingurgitamento resultando em 50 e estariam aptas a fazer sua postura. Com a ação da inibição da eficiência reprodutiva de 97,30% menos de duas realmente iriam fazer a postura.

É nítido os benefícios que a associação promoveu no controle do carrapato do cão. Com base nos resultados do estudo pode-se afirmar que a formulação proveniente da associação fluazuron com fipronil comprova sua eficácia no controle desta praga dos cães encaixando-se na filosofia moderna de manejo empregado no controle das formas evolutivas no animal e no ambiente.

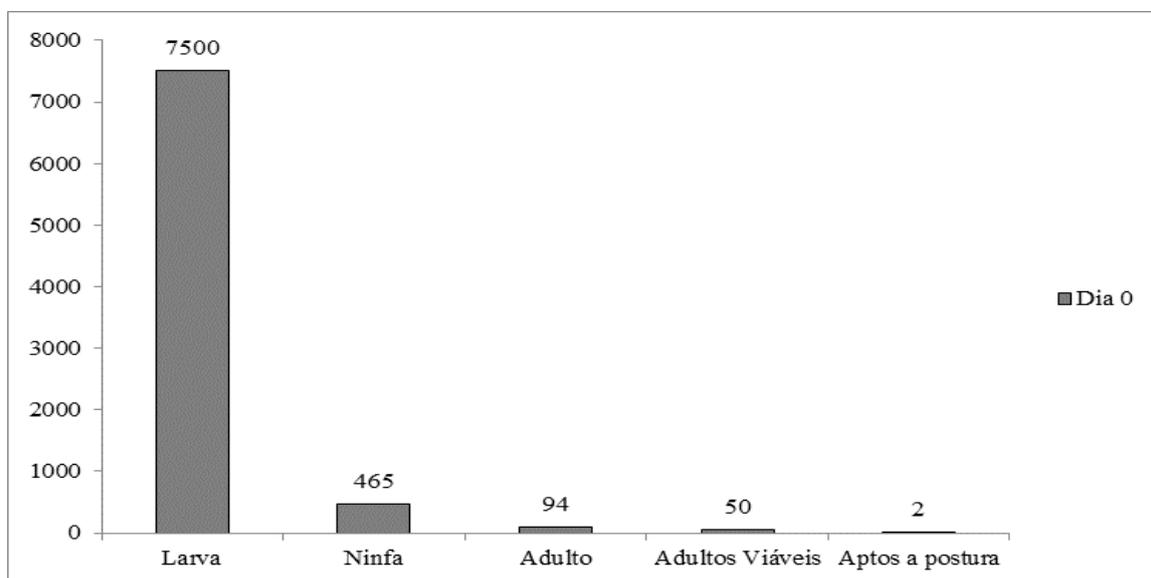


Figura 7 . Número total de larvas usadas no dia 0, aplicando a eficácia da inibição do processo de muda de larva p ninfa daí de ninfa para adulto, e a eficácia adulticida da associação, e aplicado a inibição da eficiência reprodutiva.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Eficácia da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil

Não existe na literatura outro trabalho que associe estes dois fármacos e o tempo que decorreu do tratamento não se compara a nenhum outro estudo. A eficácia da formulação proposta de fluazuron com fipronil se manteve muito mais elevada em praticamente todos os dias experimentais quando comparada com os resultados apresentados pelo fluazuron e o fipronil isoladamente. Demonstrando a sua eficácia no tratamento de cães infestados por *R. sanguineus*.

#### 4.1.1 Eficácia larvicida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil

A eficácia larvicida da associação começou na primeira coleta do dia 0 com 93,80% muito superior aos parâmetros encontrados das outras formulações, fluazuron 74,90% e fipronil 59%. E se manteve em 89,50% no dia experimental 68. Porém o mesmo parâmetro do grupo tratado com fipronil estava em 0% e o tratado com fluazuron estava 84,7%.

No trabalho realizado por Melo em 2007 o resultado obtido quando se tratou coelhos com uma concentração de 10mg/kg de fluazuron, foi de 100% para a eficácia larvicida imediata. Superior a aquela obtida no presente trabalho para o fluazuron (74,90%). Resultado corroborado por Splindler (1983) e Bull et al. (1996). Porém vale ressaltar que estes autores utilizaram uma concentração duas vezes maior que neste trabalho. Por isso justificando um efeito imediato tão elevado quando comparado a aqueles deste estudo.

#### 4.1.2 Eficácia ninficida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil

Foi observado um efeito imediato ninficida para a formulação teste (79,80%) quando comparada aos outros grupos experimentais, fluazuron (53,10%) e fipronil (59%). Com uma média de 89.70% de eficácia, chegando a 100% no dia +14, média muito superior quando comparado ao fipronil (44,30%) e o fluazuron (43,30%), durante os 68 dias experimentais. Demonstrando claramente a eficácia que a associação fluazuron + fipronil representa para o controle da fase de ninfa deste carrapato.

Em seu trabalho de 2012 Oliveira et al testaram para ninfas de *R. sanguineus* uma concentração de 10mg de fluazuron, foi possível observar que o tempo de ingurgitamento das ninfas era semelhante aos apresentados pelo grupo controle. Porém esse tempo influenciava na taxa de mortalidade, quanto mais rápido era esse tempo de alimentação sobre as ninfas elas consumiam mais do produto causando uma maior taxa de mortalidade. Com esta concentração e maiores já começavam a apresentar severas alterações morfológicas e comportamentais como: tamanho reduzido, formato elíptico, idiossoma curvo, fragilidade no intertegumento assim como letargia, dados corroborados por Melo no seu trabalho de 2007. Assim como Calligaris et al. em 2013 que atribui estas alterações ao envolvimento do composto fluazuron no processo de muda interferindo na síntese e deposição da quitina necessária para as estruturas quitinosas, podendo resultar no desenvolvimento anormal dos carrapatos tratados. E que estas alterações podem alterar o desenvolvimento do ectoparasito prevenindo seu desenvolvimento para o próximo instar.

Levando-se em consideração a proposta da formulação os dados apresentados por Melo 2007, Oliveira et al 2012 e Calligaris et al 2013 reforçam a ideia de que um só produto pode controlar imediatamente a muda do carrapato e em momentos futuros prevenir as reinfestações, Corroborando a intenção do estudo em apresentar uma formulação do produto que previna este desenvolvimento.

#### **4.1.3 Eficácia adulticida da Formulação Teste Fluazuron + Fipronil**

Foi observado um efeito imediato adulticida para a formulação teste (46,90%), mesmo menor que a eficácia conseguida nas outras fases mesmo assim se mostrou maior que os resultados das outras formulações, sendo fluazuron (40%) e ao fipronil (38,50%). Com uma média de 84% de eficácia, chegando a 100% no dia +14, média

muito superior quando comparado ao fipronil (55%) e o fluazuron (41%), durante os 68 dias experimentais. Demonstrando claramente a eficácia que a associação apresenta para o controle da fase adulta deste carrapato.

No trabalho apresentado por Kuzner et al. Em 2013 em que os autores utilizavam duas formulações de fipronil, uma comercial e outra similar ao comercial, no período experimental de 30 dias, resultando numa significativa redução da contagem de carrapatos quando comparados ao grupo controle. Na primeira contagem de 48hs a formulação similar conseguiu uma eficácia de 91.90% e se manteve em 92.50% até o 30° dia experimental, semelhante aos resultados conseguidos para o produto padrão comercial (96.20% e 95%, respectivamente). Diferente dos resultados obtidos no presente trabalho quando a eficácia adulticida na primeira contagem foi de 38.50%, e de 75% no 30° dia experimental. Estes resultados não chegam as mesmas proporções encontradas por Kuzner et al. 2013, que em sua formulação teste encontrou uma eficácia média de 92.50% no último dia experimental. As diferenças dos resultados podem ser explicadas pelo fato de que em seu experimento Kuzner et al. 2013 fez a penteação destes animais, ou seja, os carrapatos foram retirados manualmente e ficaram em contato com o produto somente por 48 horas e neste trabalho os carrapatos permaneciam em contato com as moléculas do fipronil presentes na pele do cão por todo o período de alimentação, podendo chegar a até 9 dias para fêmeas (GRAY, 2013), levando assim a morte destas teleóginas e a ausência de coleta deste material.

## **4.2 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda**

### **4.2.1 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Larva para Ninfa**

Comparativamente pode-se observar que imediatamente após o tratamento foi verificada ação na inibição da muda de larva para ninfa dos grupos medicados, pronunciadamente superior para a associação do fipronil com o fluazuron e fluazuron isolado de 100 % para a tomada de tempo do dia 0. Desta forma fica ressaltado que no prazo curtíssimo de 24 horas após o tratamento ficou demonstrado claramente a ação RCA do fluazuron sobre esta fase evolutiva. Interessante destacar que mesmo não sendo

um RCA, o grupo fipronil apresentou 42,70% de eficácia sobre este processo de muda. Este fato é de relevância, pois mostra um efeito imediato importante para esta fase evolutiva. As eficácias da associação, fluazuron + fipronil mantiveram-se elevadas durante todos os desafios, no dia 68 a eficácia estava em 94,30%. A eficácia média observada para o grupo fluazuron ao longo dos 68 dias experimentais foi de 98%; para o grupo fipronil foi de 51%; e para o grupo fluazuron + fipronil foi de 98%. Este fato é de enorme relevância por demonstrar claramente um dos benefícios da associação do fluazuron ao fipronil e o potencial apresentado para o controle do processo de muda da larva para a ninfa. Confirmando a ação dos benzoilfenilureias no metabolismo da quitina e inviabilização a sobrevivência do próximo instar, exercendo papel importante no processo de muda periódica dos artrópodes.

Em seu trabalho de 2012 Vieira utilizando as médias de larvas ingurgitadas que concretizaram a muda para ninfas, calculou uma eficácia do fluazuron sobre a inibição da muda ou ecdise, que foi de 0%, 96,90% e 45% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente. Concordando com os resultados obtidos por Melo (2007) onde as larvas de *R. sanguineus* recuperadas do grupo de coelhos tratados com fluazuron pour-on, na dose de 10mg/Kg, não realizaram ecdise, apresentando uma eficácia do fluazuron de 100%. E também com os resultados apresentados por Bull et al. (1996), no qual eles afirmam que o efeito do fluazuron sobre as formas imaturas dos carrapatos impede a passagem para os estágios seguintes, pela inibição da síntese de quitina, reduzindo assim, sucessivamente a população de carrapatos, juntamente com outros autores como Splindler (1983) e Chen (1987).

Parte das discrepâncias dos resultados pode ser explicada pela diferença dos dias experimentais da coleta dos dados, este estudo apresentou porcentagens médias muito maiores, ou seja, mesmo se comparando as médias obtidas com o fluazuron em separado ou a sua associação com o fipronil os resultados foram sempre superiores. Reforçando ainda mais o benefício que esta associação tem, e sua aplicabilidade no controle de *R. sanguineus* em cães.

#### **4.2.2 Eficácia na Interrupção do Processo de Muda de Ninfa para Adulto**

Ao se observar os resultados da eficácia imediatamente após o tratamento verificou-se ação na inibição da muda de ninfa para adulto entre os grupos, pronunciadamente superior para a associação do fipronil com o fluazuron de 100 % para a tomada de tempo do dia 0. Ressaltando que no prazo de 24 horas após o tratamento ficou demonstrado a ação RCA da associação fipronil + fluazuron sobre este processo de muda. Mesmo o fipronil apresentou 87,50% de eficácia sobre o processo de muda contra 53,80% do fluazuron isolado. Este fato é de relevância, pois mostra um efeito imediato importante para a inibição de muda. As eficácias da associação, fluazuron + fipronil mantiveram-se elevadas durante todos os dias de desafio, no dia 47 a eficácia estava em 100%, declinando de forma acentuada para 32% após 68 dias do tratamento. A eficácia média observada para o grupo fluazuron ao longo dos 68 dias experimentais foi de 58%; para o grupo fipronil foi de 50%; e para o grupo fluazuron + fipronil foi de 85%.

Em seu trabalho de 2007 Melo testando o produto fluazuron em *R. sanguineus* encontrou uma eficácia na inibição do processo de muda de ninfa para adulto de 69,83%, impedindo a ecdise de quase 70% das ninfas alimentadas em coelhos que receberam o tratamento. Bem maior quando se observa os resultados deste trabalho que foi de 53,80%. Porém quando se observa os resultados da formulação teste a eficácia do processo de muda apresenta resultados excelentes (100%), confirmando a proposta inicial da formulação associada de que juntos teriam uma maior probabilidade de impedir a ecdise dos ixodídeos e sua manutenção nos ambientes parasitados. Com a observação das ninfas alimentadas em coelhos tratados com fluazuron todas apresentavam tegumento friável, idiossoma abaulado e comportamento letárgico, alguns espécimes que realizaram a ecdise apresentavam uma fina película aderida a nova cutícula, conferindo um aspecto acinzentado aos carrapatos. Fato que pode ser relacionado a ação do regulador de crescimento no processo da troca de cutículas. Em nenhum dos grupos houve teratogenia dos espécimes.

Para Vieira (2012) que avaliou ninfas ingurgitadas que realizaram muda para adultos, a eficácia do fluazuron sobre a inibição de muda ou ecdise foi calculada em 0%, 99,5% e 63,5% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente. Quando comparando os resultados com este trabalho (53,8%, 95,9%, 71,6%, 39,1% e 29,5% para os dias 0, 14, 30, 47 e 68 pós tratamento), olhando somente para os resultados obtidos para o fluazuron, a média inicial dos dois primeiros dias experimentais foi mais elevada contudo conforme as datas foram se tornando diferentes as médias obtidas no presente

estudo foram se mantendo maiores em relação aos dados obtidos por Vieira (2012) , porém quando se observa a eficácia da associação fluazuron e fipronil ocorre uma mudança nesta visão, suas médias na inibição de muda continuaram mais elevadas mesmo após 47 dias de tratamento quando a eficácia permanecia em 100% .

### **4.3 Eficácia Sobre a Inibição da Eficiência Reprodutiva**

Quando se estuda a eficácia inibitória sobre a eficiência reprodutiva da associação fluazuron + fipronil para o dia experimental 0 se obtém 97,31% na redução da ovoposição das teleóginas recuperadas, quando é observado os resultados das formulações de forma isoladamente essa eficácia também foi elevada (para o fluazuron 85,44% e para o fipronil 96,60%). Estes resultados são excelentes para a inibição imediata. E se mantiveram em 100% até o dia +30. A partir daí as duas formulações que tinham o fluazuron como base se mantiveram em 100%, demonstrando a longevidade do fármaco e que sua atividade ovicida está associada com a interrupção da formação de cutícula dos embriões, atrapalhando seu desenvolvimento em ovos tratados, fazendo com que as larvas não eclodam (RETNAKARAN et al., 1985).

Já Vieira (2007) descreveu em seu grupo tratado com o fluazuron, esse percentual médio foi de 68%, 88,60% e 62,30% para os dias experimentais +1, +20 e +40. Demonstrando um percentual significativamente menor que os resultados encontrados por este estudo (85,44%, 99,79%, 100%, 100%, 100%, para os dias experimentais 0, 14, 30, 47 e 69 pós tratamento), se desconsiderando as discrepâncias dos dias experimentais. Mesmo assim se forem analisados os resultados obtidos das formulações isoladamente ainda assim apresentam resultados médios bastante elevados.

Melo (2007) obteve a inibição da eficácia reprodutiva imediata de 86,07%, muito parecida com este trabalho quando se observa somente os resultados do fluazuron (85,44%) isoladamente. Entretanto a formulação teste que associa o produto ao fipronil obteve resultado significativamente superior (97,31%). Esse resultado pode ser explicado pelas afirmações de Bull et al. (1996) que o efeito atribuí ao fluazuron sobre fêmeas de *R. (B.) microplus* alimentadas em gado tratado a significativa redução da postura, que resulta em ovos não viáveis; os carrapatos imaturos morrem, visto que eles

foram incapazes de realizar a muda para o próximo instar. Melo (2007) também constata que as larvas que eclodiram do grupo tratado com fipronil não apresentaram teratogenia.

## 5 CONCLUSÃO

A formulação teste da associação Fluazuron 10% na dose de 10mg/kg com fipronil 12,5% na dose de 7,5 mg/Kg provou sua eficácia carrapaticida para larvas, ninfas e adultos de *R. sanguineus*. Assim como a eficácia na interrupção do processo de muda de larvas para ninfas e de ninfas para adultos, e também na eficácia sobre a inibição da eficiência reprodutiva para todas as tomadas de tempo dos 69 dias experimentais.

As elevadas eficácias encontradas para os parâmetros nos dias experimentais demonstram a eficiência de uma associação de um fármaco regulador de crescimento com outro carrapaticida, adicionando a isso o fato de o primeiro possuir um efeito mais prolongado de atuação demonstrado pelos resultados obtidos em um estudo bastante prolongado. Somente a partir do dia +69 é que os parâmetros de forma geral começaram a declinar.

Os resultados indicam que a associação fluazuron com fipronil apresenta um grande potencial de controle do carrapato *R. sanguineus* em cães.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. F.; MAGNARELLI, L. A. Biology of Ticks. **Infectious Disease Clinics of North America**. v.22, p.195-215, 2008.

ANDRADE, S. F.; SANTARÉM, V. A. Endoparasitícidas e Ectoparasitícidas. In: ANDRADE, S.F. Manual de Terapêutica Veterinária. 2. ed., São Paulo, Roca, 437 – 468p, 2002.

BELLATO, V. **Efeitos de diferentes temperaturas no desenvolvimento de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) em condições de laboratório**. 59 p. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Seropédica: UFRRJ, 1995.

BLANC, G., CAMINOPETROS, J. La transmission du Kalazar mé'diterrané' en par une tique: *Rhipicephalus sanguineus*. **Comptes Rendus de l'Académie Sciences**. v.191, p.1162–1164, 1930.

BULL, M. S.; SWINDALE, S.; OVEREND, D.; MESS, E. Supression of Boophilus microplus populations with fluazuron- an acarine growth regulator. **Australian Veterinary Journal**, v.74, n. 1, p. 468-470, 1996.

CALLIGARIS, I. B; OLIVEIRA, P. R.: ROMA, I. G. C.: BECHARA, G. H.: CAMARGO-MATHIAS, M. I. Action of the Insect Growth Regulator Fluazuron, The Active Ingredient of the Acaricide Acatak VR, in *Rhipicephalus sanguineus* Nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Microscopy Research and Technique** v.76, p.1177-1185, 2013

COOP, R. L.; TAYLOR, M. A.; JACOBS, D. E.; JACKSON, F. Ectoparasites: recent advances in control. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 55-56, 2002.

CORREIA, T. R. **Eficácia do Inibidor de Crescimento de Insetos Pyriproxyfen Associado ao Piretróide D-phenotrina no Controle de**

**Ctenocephalides felis felis (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA:Pulicidae) em Cães, Gatos e no Ambiente.** 52 p. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 2003.

COUTINHO, C. F. B.; GALLI, A.; GARBELLINI, G. S.; TAKAAMA, M.; TANIMOTO, S. T.; AMARAL, R. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas (UFPR)**, v. 15, n. 1, p. 65-72, 2005

CRAVEDI, J.P.; DELOUS, G.; VIGUIÉ, C.; DEBRAUWER, L. Disposition of fipronil in rats. **Chemosphere**, v.93, p. 2276-2283, 2013.

CUNNINGHAM, J.R., RYAN, W.G. Comparação entre Fipronil (Top Spot) e Imidacloprid (Spot On) no controle de infestações por pulgas quando aplicados logo após banho com xampu. **A Hora Veterinária**, v.109, p. 15 - 8, 1999.

CURTIS, C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats. Part 2. **In Practice**, v. 21, p. 448 - 54, 1999.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 171-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 26, p. 1-11, 2010.

DARVAS, L. A. B.; POLGAR. Novel type insecticides: specificity and effects on non-target organisms, In: Ishaaya, I.; Degheele, D. (Eds.), **Insecticides with Novel Modes of Action**, Springer, Berlin, pp. p.188–259, 1998.

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

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity, **Annual Review of Entomology**, v.43, p.545–569, 1998.

DRUMMOND, R. O., CRUST, S. F., TREVINO, J. L., GLADNEY, W. J., GRAHAM, O. H. *B. annulatus* and *B. decoloratus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, p.130–133, 1973.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A. Biology and Control of Ticks Infesting Dogs and Cats in North America, **Veterinary Therapeutics**, v. 5, n. 2, p. 139-154, 2004.

DRYDEN. M. W. Flea and tick control in the 21<sup>st</sup> century: challenges and opportunities. **Veterinary Dermatology**, v. 20, p. 435-440, 2009.

EL-HASSANI, A.K.; DACHER, M.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 82, p.30-39, 2005.

ESTRADA, J. G.; MULLA, M. S. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, n. 1, p. 57-60, 1986.

FERNANDES, F. F. Atividade *in vitro* de permetrina, cipermetrina e deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.6, p.621-626, 2000.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 3<sup>a</sup> Edição. Editora Nobel S/A. 192p., 1985.

FOURNET, F.; SANNIER, C.; MONIERE, M.; PORCHERON, P.; MONTENY, N. Effects of two insect growth regulators on ecdysteroid production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.32, p.588–593, 1995.

GARRIS, G. I. Control of ticks. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 21, p. 173–183, 1991.

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

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

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

HINK, W. F.; DROUGHT, D. C. BARNETT, S. Effect of an experimental systemic compound, CGA-184699. on life stages of the cat flea. **Journal of Medical Entomology**, v. 28, n. 3, p. 424-427, 1991.

HINKLE, N. C.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. Residual effectiveness of Insect Growth Regulators applied to carpet for control of cat fleas (Siphonaptera: *Pulicidae*) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 4, p. 903-906, 1995.

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.

HUNTER, J.S., KEISTER, D.M., JEANNIN, P. Fipronil: a new compound for animal health. In: **Proceeding of the American Association of Veterinary Parasitologists**, 39th Annual Meeting, San Francisco, CA, USA, p. 40, 1994.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3-14, 2004.

KAUFMAN, W. R. Tick-host interaction: A synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, v.5, n.1, p.47–56, 1989.

KRYGER, U.; DESCHODT, C.; DAVIS, A. L. V.; SCHOLTZ, C. H. Effects of cattle treatment with a fluazuron pour-on on survival and reproduction of the dung beetle species *Onthophagus gazella* (Fabricius). **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 1, p. 380-384, 2007.

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, n.1, p.245-251, 2013.

LABRUNA, M. B., PEREIRA, M. C. Carrapato em Cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 30, n.1, p.24–32, 2001.

LABRUNA, M. B. Biologica-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.123–124, 2004.

LINARDI, P. M.; KRASNOV, B. R. Patterns of diversity and abundance of fleas and mites in the Neotropics: host-related, parasite-related and environment-related factors. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n.1 , p.49-58, 2012.

LITTLE, S. E.; HOSTLER, J.; KOCAN, K. M. Movement of *Rhipicephalus sanguineus* adults between co-housed dogs during active feeding. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 1-2, p. 139-145, 2007.

MANS, B. J.; NEITZ, A. W. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 1-17, 2004.

MATOS Jr., D. G.; BALTHAZAR, L. M. C. Ectoparasitídeos comuns de uso em medicina veterinária. **Pubvet**, v. 2, n.12, 2008

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas, comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, v. 23, n. 37, p. 15-23, 2004.

MELO, R. M. P. S. **Morfologia e Biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Submetido ao Regulador de Crescimento de Artrópodes Fluazuron**, 43f. Dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Animal, Seropédica, UFRRJ, 2007.

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 – 301, 2001.

MOSER, B. A.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. Effect of methoprene and diflubenzuron on larval development of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 1, p. 112-116, 1992.

NASR, H. M.; MOHAMED-BADAWY, E. I.; RABEA, E. I. Toxicity and biochemical study of two insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, on cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.98, p.198–205, 2010.

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

OLIVEIRA, P. R.; CALLIGARIS, I. B.; ROMA, G. C.; BECHARA, G. H.; PIZARO, M. A.; MATHIAS, M. I. C. Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of *Rhipicephalus sanguineus* nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): Determination of the LD<sub>95</sub> and LD<sub>50</sub>. **Experimental Parasitology**, v.131, p.35–39, 2012.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; BREITSCHWERDT, E. B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part two. **Trends Parasitol** v.25: p.228–235, 2009.

PAWAR, P. V.; PISALE, S. P.; SHARMA, R. N. Effect of some new insect growth regulators on metamorphosis and reproduction of *Aedes aegypti*. **Indian Journal of Medical Research**, v.101, n.1, p.13–18, 1995.

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, p. 331-340, 2001.

PAZ, G. F.; LABRUNA, M. B; LEITE, R. C. Ritmo de queda de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de cães artificialmente infestados. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.17, n. 3, p.139-144, 2008

PEREIRA; SANTOS. *Ctenocephalides felis felis*: biologia, ecologia e controle integrado. **Clínica Veterinária**, v. 3, n. 17, p. 31-36, 1998.

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: p.569-578, 2000.

ROMANO, A.; MARTINEZ, S. B.; ROMANO, P. L.; MORENO-REY, M. C.; SBORDI, L. C. Evaluación de la acción ixodicida de una formulación spot-on de flumetrina al 1% para el control del *Rhipicephalus sanguineus*. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.79, n.4, p.285-292, 1998.

SANTOS-SILVA, M. M.; FILIPE, A. R. Ciclos biológicos de ixodídeos (Ixodoidea: Ixodidae) em condições de laboratório. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.93, n.527, p.143-148, 1998.

SCHNEIDER, M.; SMAGGHE, G. VIÑUELA, E. Susceptibility of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) adults to several IGRs pesticides and spinosad by different exposure methods, **IOBC/wprs Bull**, v.26, p.111–122, 2003.

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

SLOWIK, T. J.; LANE, R. S.; DAVIS, R. M. Field trial systemically delivered arthropod development inhibitor (fluazuron) used to control woodrat fleas (Siphonaptera: Ceratophyllidae) and ticks (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 75-84, 2001.

SZABÓ, M. P, Bechara GH: Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. **Exp Appl Acarol**, v.23: p.915-928, 1999.

TANNER, P. A.; MEO, N. J.; SPARER, D.; BUTLER, S.; ROMANO, M. N.; KEISTER, D. M. Advances in the treatment of heartworm, fleas and ticks. **Canine Practice**, v. 22, n. 23, p. 40 - 47, 1997.

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

TINGLE, C. C.; ROTHER, J. A.; DEWHURS, C. F.; LAUER, S. KING, W. J. Fipronil: Environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 176, p. 1-66, 2003.

TECHNICAL MANUAL ACATAK. Pour-on Tick Development Inhibitor. [S.l.: s.n., 199-]

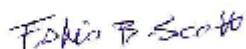
VIEIRA, V. P. C. **Atividade Reguladora de Crescimento de Artrópodes Fluazuron por Via Oral em Cães no Controle de Rhipicephalus sanguineus**. 85p.

Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Seropédica 01 de agosto de 2014

## DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo de número 077/2014 intitulado **“Eficácia do Diflubenzuron no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em Cães.”** encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Laerte Grisi. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-IV realizada no dia 01 de agosto de 2014, após avaliação do plenário da referida Comissão.



Fabio Barbour Scott  
Coordenador CEUA-IV



Jonimar Pereira Paiva  
Vice-Coodenador CEUA-IV