

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

**DISSERTAÇÃO**

**Influência da Desidratação Epidérmica Sobre a Eficácia Pulguicida  
do Fipronil Empregado por Via Tópica em Cães**

**Tiago Abrahão Pereira Nunes**

**2015**



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

**INFLUÊNCIA DA DESIDRATAÇÃO EPIDÉRMICA SOBRE A**  
**EFICÁCIA PULGUICIDA DO FIPRONIL EMPREGADO POR VIA**  
**TÓPICA EM CÃES**

**TIAGO ABRAHÃO PEREIRA NUNES**

*Sob orientação do Professor*

**Fabio Barbour Scott**

*e Co-orientação da Professora*

*Clarissa de Souza Pimentel*

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

636.08965  
N972i  
T

Nunes, Tiago Abrahão Pereira, 1986-  
Influência da desidratação epidérmica  
sobre a eficácia pulguicida do fipronil  
empregado por via tópica em cães / Tiago  
Abrahão Pereira Nunes. - 2016.  
61 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Dissertação (mestrado)- Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de  
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.  
Bibliografia: f. 45-50.

1. Dermatologia veterinária - Teses. 2.  
Cão - Parasito - Controle - Teses. 3. Pele  
- Desidratação - Teses. 4. Pele - Efeito  
das drogas - Teses. 5. Piretróides -  
Teses. 6. Pulga - Controle - Teses. I.  
Scott, Fabio Barbour, 1966- II.  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias. III. Título.

Bibliotecário: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

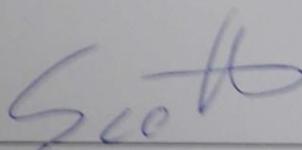


UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TLAGO ABRAHÃO PEREIRA NUNES

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

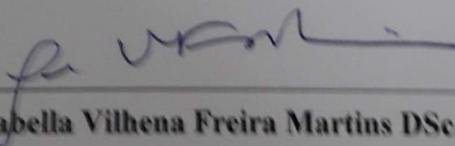
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2015



---

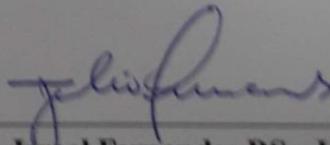
Fabio Barbour Scott, DSc, UFRRJ

(Orientador)



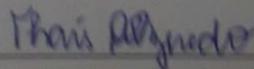
---

Isabella Vilhena Freira Martins DSc, UFES



---

Júlio Israel Fernandes DSc, UFRRJ



---

Thaís Ribeiro Correia Azevedo DSc, UFRRJ

*A família e amigos.*

*“A verdade é que não há verdade”  
Pablo Neruda*

## AGRADECIMENTOS

Aos familiares mais próximos: Estela Maria Nader Abrahão, Hugo da Silva Pereira Nunes, Diogo Abrahão Pereira Nunes, Aline Costa Pereira Nunes, Ricardo da Silva Pereira Nunes, Oton Gomes Dias Junior, Bruna Luiza Xavier Ferreira, Regina Celia Nader Abrahão, João Capitolino, Olga Nader Abrahão, Maíra Abrahão, Juliana Abrahão dos Santos Borges, Maria de Lourdes Pinto da Costa e, com muito amor e saudade, Orlinda da Silva Pereira Nunes (*in memoriam*) e Olga Nader Abrahão (*in memoriam*)

À Universidade Estácio de Sá, por ter me proporcionado momentos singulares e preceptores eternos dentro da Medicina Veterinária.

Agradeço aos meus pacientes por me fazerem entender, explícita e ao mesmo tempo transcendentalmente, o meu papel na medicina veterinária, especialmente na dermatologia.

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

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela dedicação.

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

Agradeço a todos os integrantes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde tive o prazer de conhecer, colegas discentes e docentes admiráveis; fazer parte, mesmo que por curto período, agregou-me mais conhecimentos profissionais e pessoais, como haveria de ser. Agradeço, em especial, a Cristiane Nunes Coelho da Rocha e Lilian Cristina de Souza Oliveira Batista: obrigado por terem me recebido de braços abertos, por terem me feito sentir em casa, pelo carinho, amizade, ensinamentos: vocês fizeram a diferença! Pedro Ivan Fazio Jr. e Cássio Florêncio do Nascimento, meu muito obrigado pelos ensinamentos, auxílio na execução do trabalho e pela amizade construída.

A Prof<sup>ª</sup> Margareth Balbi, por ter me introduzido na Dermatologia Veterinária.

A Prof<sup>ª</sup> Clarissa Pimentel de Souza, pela amizade, confiança e reconhecimento.

A Sabrina Sylvain Ribeiro, pela parceria e carinho de sempre.

Ao Prof. Fábio Barbour Scott pelo seu apoio e compreensão nos momentos difíceis.

A Prof<sup>ª</sup>. Thaís Ribeiro Correia Azevedo pela afabilidade, serenidade e auxílio.

Ao Prof. Júlio Israel Fernandes por estar sempre disposto a ajudar.

A Profa. Ana, Coordenadora do Instituto de Matemática e Estatística da Universidade Federal Fluminense, pela cordial e fortuita ajuda com os dados estatísticos deste trabalho.

Muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Tiago Abrahão Pereira Nunes, filho de Hugo da Silva Pereira Nunes e Estela Maria Nader Abrahão, nascido em 28 de janeiro de 1986, no município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Cursou o primário no Colégio Martinsinho e o ensino fundamental no Colégio Martins, ambos na cidade do Rio de Janeiro, localizado no estado do Rio de Janeiro. O ensino médio foi cursado no Colégio Martins, localizado no município do Rio de Janeiro, no estado do Rio de Janeiro.

No ano de 2004 ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estácio de Sá, diplomando-se em Julho de 2009.

Atuou, ao longo da graduação em medicina veterinária, como estagiário em diversas clínicas e hospitais veterinários, tendo como enfoque principal clínica geral e a clínica dermatológica de pequenos animais.

Ainda na graduação exerceu, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Margareth Balbi, a função de monitor da disciplina de clínica médica de pequenos animais I e II, atuando ativamente na policlínica da Universidade, orientando alunos e auxiliando os docentes responsáveis em aulas práticas e teóricas.

Ao término da graduação, cursou residência em clínica médica de pequenos animais na mesma instituição, entre março de 2010 a fevereiro de 2012, também sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Margareth Balbi.

Em 2012, foi aprovado no Processo de Seleção para o Curso de Pós-graduação em Dermatologia Veterinária, na Universidade Anhembi Morumbi – Laureate International Universities, localizada no município de São Paulo, no estado de São Paulo, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Clarissa Pimentel de Souza e coorientação do Professor Ronaldo Lucas, sendo aprovado após submissão do artigo intitulado “Avaliação do mofetilmicofenolato no tratamento de paniculite imunomediada em cão”.

Em fevereiro de 2013 foi aprovado para ingresso no mestrado em Ciências Veterinárias, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do Prof. Fabio Barbour Scott.

## RESUMO

NUNES, Tiago Abrahão. **Influência da Desidratação Epidérmica Sobre a Eficácia Pulguicida do Fipronil Empregado por Via Tópica em Cães.** 2015. 64 p. 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 trabalho foi avaliar a influência da desidratação epidérmica sobre a eficácia pulguicida do fipronil empregado por via tópica em cães. Foram utilizados 24 cães da raça Beagle, compondo seis animais por grupo. Os cães foram divididos em quatro grupos. Os cães do grupo controle não receberam tratamento, enquanto que os cães dos grupos tratados I, II e III receberam tratamento com formulação de fipronil 10% “spot on”. Os cães do grupo tratado I foram submetidos a banhos semanais com sabonete de glicerina neutro. Os cães do grupo tratado II foram submetidos a 21 dias de banhos consecutivos e diários com shampoo contendo peróxido de benzoíla 2,5%. Os cães do grupo tratado III foram submetidos ao mesmo regime de banhos do grupo tratado II, porém, nesses cães, somou-se aos banhos, aplicações quinzenais de formulação lipídica (contendo ceramidas, colesterol e ácidos graxos), até o término do estudo. Os cães dos grupos controle, tratado I, tratado II e tratado III foram infestados com 50 casais de *C. felis felis*. As infestações foram realizadas nos dias, -2, +5, +12, +19, +26, +33, +40, +47 e +54 e, nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 e +56, realizou-se a retirada mecânica e contagem de pulgas para avaliação. As eficácias pulguicidas, para o grupo tratado I, nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 e +56, foram, respectivamente: 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%, 100%; 76,25% e 72,47%. As eficácias pulguicidas, para o grupo tratado II, avaliadas nos mesmos dias, foram respectivamente: 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 97,35%; 92,86%; 82,85% e 71,21%. As eficácias pulguicidas para o grupo tratado III, avaliadas nos mesmos dias, foram respectivamente: 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 99,49% e 28,23% e 27,53%. A análise estatística comparativa entre as médias de pulgas vivas, entre os grupos controle e tratado I e entre o grupo controle e tratado II, demonstrou que ocorreu diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento. Já na comparação entre o grupo controle e tratado III, evidenciou-se diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios até o dia +42. Não mais havendo diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) no dia experimental +49 e +56. A análise estatística entre os grupos tratados I e II e tratado II e III demonstrou que não ocorreu diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais. Já a análise entre o tratado I e III, determinou que não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) até o dia +49, havendo diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) no dia +56. O estudo foi encerrado no dia +56 já que a eficácia do fipronil nos grupos tratados I, II e III não apresentou mais efeito residual de proteção quando os animais foram reinfestados. A desidratação epidérmica induzida não determinou alteração na eficácia ou diminuição do efeito residual do fipronil quando empregados em cães submetidos à exposição de populações de *C. felis felis*, através de infestações semanais. Fato esse corroborado uma vez que, as aplicações de formulação lipídica, não foram capazes, por sua vez, de determinar maior eficácia ou prolongamento do efeito residual do fipronil quando empregados em cães submetidos à exposição de populações de *C. felis felis*, através de infestações semanais.

**Palavras-chave:** fenilpirazol, ressecamento cutâneo, pulgas.

## ABSTRACT

NUNES, Tiago Abrahão. **Influence of epidermal dehydration on pulgicida effectiveness of fipronil used topically in dogs.** 2015. 64 p. (Dissertation, Master in Veterinary Science, Veterinary, Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

The objective of the study was to evaluate the influence of epidermal dehydration on the parasiticide effective of fipronil 10% “spot on” in dogs artificially infested with *Ctenocephalides felis felis*. For this, 24 Beagles were used, divided into four groups of six dogs each. The dogs on the control groups were not treated, while the dogs on the treated group I e II and III were treated with the formulation of 10% fipronil “spot on”. The dogs on treated group I were submitted to weekly baths with neutral glycerin soap. The dogs on treated group II were submitted to 21 consecutive and daily baths with benzoyl peroxide 2,5% shampoo. Dogs treated group III were submitted to the same baths made in treated group II, however, undergo biweekly applications of lipid formulation (containing ceramides, cholesterol and fatty acids), until the end of the study. The dogs in the control group, treated group I, treated group II and treated group III were infested with 50 pairs of *C. felis felis*. Infestations were performed on days -2, +5, +12, +19, +26, +33, +40, +47, +54 and, on days +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 and +56, fleas were mechanical removed and counted for evaluation. Pulicide efficacy for treated group I on days +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 and +56, were respectively 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 76.25% and 72,47%. The pulicide efficacy for the treated group II, evaluated on the same days, were respectively 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 97.35%; 92.86%; 82.85% and 71.21%. The pulicide efficacy for the treated group III, evaluated on the same days, were respectively 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 99.49%; 28.23% and 27.53%. The comparative statistical analysis between the averages of live fleas, between the control and treated groups I and between the control group and treated II showed that there was a significant difference ( $p \leq 0,05$ ) for the challenges in all experimental days, after treatment. In the comparison between the control group and treated III, showed a significant difference ( $p \leq 0,05$ ) for the challenges until day 42. No more having significant difference ( $p \geq 0,05$ ) in the experimental day +49 and +56. Statistical analysis between the treated groups I and II and treated II and III showed that there was no significant difference ( $p \geq 0,05$ ) for the challenges in all experimental days. The analysis of the treaty I and III, determined that there was no significant difference ( $p \geq 0,05$ ) until day 49, a significant difference ( $p \leq 0,05$ ) on day +56. Fipronil was effective in eliminating fleas on dogs until the day + 56 with no more residual protective effect when the animals were reinfested. The induced of epidermal dehydration, does not determined changes on the efficacy or decreased the residual effect of fipronil when used in dogs subjected to exposure of populations of *C. felis felis*, through weekly infestations. This fact was confirmed since the lipid formulation of applications, were not able, in turn, to determine more effective and prolonged residual effect of fipronil when used in dogs undergoing exposure populations of *C. felis felis* on weekly infestation.

**Key words:** phenylpyrazol, skin dryness, fleas.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Grupos de tratamentos, sexo, número de identificação, peso dos animais, dose correspondente do produto e contagem de pulgas para efeitos de ranqueamento.....	22
<b>Tabela 2.</b> Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado I, com o produto em teste ao longo do período experimental.....	28
<b>Tabela 3.</b> Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado II, com o produto em teste ao longo do período experimental.....	29
<b>Tabela 4.</b> Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado III, com o produto em teste ao longo do período experimental.....	30
<b>Tabela 5.</b> Valores de média, desvio padrão e eficácia dos animais do grupo controle e tratado I, II e III, com o produto em teste ao longo do período experimental.....	31

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmula estrutural do Fipronil.....	10
<b>Figura 2.</b> Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos controle e tratado I.....	32
<b>Figura 3.</b> Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos controle e tratado II.....	33
<b>Figura 4.</b> Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos tratado III.....	34
<b>Figura 5.</b> Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado I.....	35
<b>Figura 6.</b> Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado II.....	36
<b>Figura 7.</b> Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado III.....	37

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1 Biologia e Relevância de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	2
2.2 Medidas de Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	5
2.3 Controle Biológico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	6
2.4 Controle Mecânico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	7
2.5 Controle Químico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	8
2.6 Fipronil.....	10
2.7 Peróxido de Benzoíla (POB).....	13
2.8 Barreira Cutânea e Lipídeos Epidérmicos.....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	20
3.1 Localização da Experimentação.....	20
3.2 Obtenção de Adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	20
3.3 Delineamento Experimental .....	20
3.3.1 Seleção e manejo dos animais .....	20
3.3.2 Avaliação da eficácia do fipronil no controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i> em cães .....	23
3.4 Análise Estatística.....	25
<b>4 RESULTADOS</b> .....	26
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	44
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

Indubitavelmente, a interação entre o homem e animais de estimação tem aumentado a preocupação com o bem estar animal e com a saúde pública, gerando estímulos a pesquisa.

A pulga *C. felis felis* é o ectoparasito mais abundante em cães e gatos em todo o mundo; além de provocar desconforto aos animais, devido a espoliação sanguínea, ela está associada a várias doenças, servindo também como vetor de diversos microorganismos.

Medidas de controle são extremamente necessárias para o tratamento ou prevenção das infestações por tais ectoparasitos e das doenças por eles veiculadas.

O fipronil é um dos antiparasitários mais utilizados em medicina veterinária. Possui níveis satisfatórios de eficácia e um longo período residual contra reinfestações.

As doenças alérgicas em pele de cães e gatos fazem parte de um conjunto de afecções cada vez mais rotineiras. Como, em sua grande maioria, tais afecções possuem cunho genético e etiologia multifatorial, torna-se cada vez mais necessário a descoberta de ferramentas auxiliares no controle dessas doenças.

Dentro do cenário de doenças de pele em cães e gatos, é importante afirmar que muitas dessas doenças, principalmente as alérgicas, possuem entre os componentes de sua fisiopatogenia, o distúrbio epidérmico como um dos principais fatores originários e/ou como sinal clínico que contribui fortemente para a não resolução da afecção.

O fipronil trata-se de uma molécula lipofílica. Havendo, portanto, sua atividade e manutenção residual, estreita relação com a presença de lipídeos epidérmicos que, originalmente, são produzidos pelas glândulas sebáceas, localizadas nos folículos pilosos.

Há disponível no mercado veterinário complexos hidratantes que possuem em sua formulação componentes lipídicos (ácidos graxos essenciais, colesterol e ceramidas), que podem auxiliar no controle de alterações epidérmicas, comumente encontradas em animais portadores de afecções dérmicas de cunho alérgico.

Tendo em vista a relação entre a formulação ectoparasiticida utilizada e sua marcada propriedade lipofílica, justifica-se aventar que, em cães portadores de distúrbios epidérmicos originários ou influenciados por déficit da produção de lipídeos epidérmicos, possa ocorrer influência negativa direta na eficácia parasiticida e efeito residual aquém do esperado.

O trabalho teve como objetivo avaliar a influência da desidratação epidérmica sobre a eficácia pulgicida do fipronil empregado por via tópica em cães

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Biologia e Relevância de *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas fazem parte de um grupo extremamente particular dos insetos. O surgimento delas data do período cretáceo ou jurássico, entre 125 a 150 milhões de anos atrás, muito provavelmente junto à evolução dos seres marsupiais e insetos (DOBLER; PFEFFER, 2011).

Pertencem à família Pulicidae, da ordem Siphonaptera e ao gênero *Ctenocephalides*, o qual inclui 13 espécies e subespécies. A subespécie *C. felis felis* é mais adaptável do que *C. canis*, uma vez que infesta mais espécies hospedeiras e, portanto, se estabelece em áreas mais extensas. A distribuição destas espécies está relacionada a fatores ambientais que influenciam sua sobrevivência, desenvolvimento e reprodução (LINARDI; SANTOS, 2012).

Apesar de quatro subespécies de *C. felis* já terem sido reconhecidas, no Brasil, *C. felis felis* é a única subespécie de pulga encontrada em animais de estimação, sendo considerada o ectoparasita mais importante de cães e gatos na maior parte do mundo, atingindo números de prevalência superiores a 92% em cães e 97 % em gatos. (RUST; DRYDEN, 1997; CARLOTTI; JACOBS, 2000; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Somente a biologia de *C. felis felis* foi bem descrita e, até então, e não recomenda-se aplicá-la as demais espécies. (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

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

As pulgas se desenvolvem por metamorfose completa do ovo ao adulto através de três estágios larvais (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

O ciclo de ovo a adulto é completado em aproximadamente 25-30 dias, dependendo das condições de temperatura, umidade e alimentação obtida pelas larvas (LINARDI, 2011), podendo se estender por até 174 dias, no entanto, na maioria das condições domésticas, quase

todas as pulgas completam o seu ciclo de vida dentro de três a oito semanas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os ovos são ovóides, brancos e possuem meio centímetro de comprimento. Pelo fato de não serem pegajosos, os ovos caem do hospedeiro para o meio ambiente, geralmente nos locais de repouso dos hospedeiros, onde o ciclo de vida é concluído. (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

A eclosão ocorre dentro de um a três dias (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). As fêmeas colocam até 25 ovos por dia e um total de várias centenas de ovos durante a vida. (DOBLER; PFEFFER, 2011). A maioria dos ovos é colocada durante as últimas oito horas de escotofase (DRYDEN; RUST, 1994).

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

Uma vez que as larvas são fotofóbicas e possuem geotropismo positivo, elas podem ser encontradas em fibras de carpetes, colchões, materiais de enchimento de sofá e em restos orgânicos como galhos e folhas. Sendo assim, acumulam-se em áreas onde o animal passa grande parte do tempo (BITAM et al., 2010).

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

A pressão mecânica e o aumento da temperatura estimulam o rompimento do casulo (DRYDEN; RUST, 1994).

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

Adultos de *C. felis felis* podem permanecer em repouso no casulo por até 140 dias, em temperatura de 11° C e 75% UR. A capacidade de sobreviver durante longos períodos no

casulo é especialmente importante para espécies como *C. felis felis*, que infestam hospedeiros que estão de passagem (DRYDEN; RUST, 1994).

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

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

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

Adultos representam apenas 5% de uma população de pulgas (BITAM et al., 2010), enquanto que 95% das demais formas, encontram-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

A dermatite alérgica à picada de pulgas, também conhecida como hipersensibilidade à picada de pulga (DAP), é a doença dermatológica mais comum em cães e uma das principais causas de dermatite miliar felina (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; CARLOTTI; JACOBS, 2000).

A saliva da pulga contém uma grande variedade de substâncias alérgenas ou irritantes quando em contato com a pele dos animais domésticos. Os sinais clínicos dermatológicos associados à alimentação das pulgas são variáveis e dependem do número de pulgas presentes, a tolerância individual de cada hospedeiro e, mais importante, a hipersensibilidade ou não do animal a presença da saliva da pulga. (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Indivíduos não alérgicos as pulgas podem estar parasitados por um grande número de pulgas e apresentar poucos ou não apresentar sinais clínicos, entretanto, os muito parasitados podem evoluir para anemia por perda excessiva de sangue consumido, uma vez que as pulgas fêmeas consomem em torno de 10 a 15 vezes o volume de seus corpos de sangue dos seus hospedeiros por dia. (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

*C. felis felis* foi implicada na transmissão de *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis* e *Bartonella* spp, *Mycoplasma haemofelis*, e em alguns casos raros, até mesmo *Yersinia pestis*. Também pode funcionar como hospedeiro intermediário do nematóide filarídeo de cães, *Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum*. Várias espécies também utilizam *C. felis*

*felis* como hospedeiro intermediário, incluindo *Dipylidium caninum* e *Hymenolepis nana* (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

## **2.2 Medidas de Controle de *Ctenocephalides felis felis***

De uma forma geral, o controle de ectoparasitas em animais domésticos tem sido, em grande parte, baseado no uso de substâncias químicas, com os produtos para o controle de pulgas representando a maior parcela deles (TAYLOR; COOP; WALL, 2007).

Para controlar efetivamente as pulgas, é necessário o conhecimento do seu desenvolvimento, biologia e ecologia. Ou seja, o raciocínio é que ovos, larvas, pupas e adultos que surgiram recentemente proporcionam um reservatório para a contínua reinfestação (FOURIE; KOK; PETER, 2000).

Portanto, torna-se necessário uma associação de estratégias e produtos, tanto adulticidas, quanto aqueles que atuam nas fases imaturas destes insetos, possibilitando uma redução efetiva das pulgas não apenas sobre os animais, mas no meio ambiente (BATISTA et al., 2012).

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

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

Se os produtos antipulgas são aplicados em doses e intervalos apropriados, deve haver atividade residual adequada entre as aplicações para eliminar todas ou quase todas as pulgas adquiridas novamente, antes que se inicie a produção de ovos (DRYDEN; BROCE, 2003).

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

São diversos os propósitos dos tratamentos pulcidas, que vai desde a eliminação do desconforto provocado pelas pulgas nos animais, a perda de sangue gerada pelos repastos sanguíneos e, profilaticamente, a prevenção das manifestações clínicas associadas à pulciose e transmissão de patógenos. (MARCHIONDO et al., 2013).

### **2.3 Controle Biológico de *Ctenocephalides felis felis***

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

Com o desenvolvimento da resistência contra drogas antiparasitárias, a indústria tem hesitado em investir na pesquisa de novos defensivos químicos. (RIBEIRO, 2008). Além disso, outro fator que deve ser levado em consideração é o elevado custo do tratamento, favorecendo ao aumento do interesse pelo controle biológico (HOGSETTE, 1999), tornando, assim, os agentes de controle biológico uma alternativa econômica e ecologicamente viável (VALADARES-INGLIS et al., 1998).

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

Produtos naturais provenientes de plantas podem representar alternativas às medidas de controle, por apresentarem baixa toxicidade para mamíferos e pouco impacto ambiental (RIBEIRO, 2008).

A azadiractina é um composto extraído das sementes da árvore *Azadirachta indica*, nativa da Índia, vulgarmente conhecida como nim. Essas árvores possuem dois compostos com atividades inseticidas, a azadiractina e a salanina, e um outro composto com ação fungicida. Tal molécula possui ação fago-inibidora, atuando na supressão do apetite, na interferência do funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose do inseto, impedindo assim o desenvolvimento na fase larval, comportando-se como análogo do hormônio juvenil. Além disso, a literatura também cita o efeito do nim sobre a oviposição e a fecundidade de insetos e sua ação repelente (RIBEIRO, 2008).

Estudos experimentais demonstraram que o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* é capaz de colonizar pulgas da subespécie *C. felis felis*, sendo considerado patogênico, mostrando potencial no que se refere ao controle biológico deste inseto (BITTENCOURT; MASCARENHAS; FACCINI, 1999).

Estudos também demonstraram que as vacinas elaboradas a partir do extrato de intestino de pulgas alimentadas artificialmente com sangue contendo soro de coelhos hiperimunizados com extrato solúvel de intestino de *C. felis felis*, podem influenciar na sobrevivência e na fecundidade das pulgas (HEATH et al., 1994).

#### **2.4 Controle Mecânico de *Ctenocephalides felis felis***

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

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

Meios mecânicos de controle ambiental incluem a lavagem de roupa da cama do animal ou panos das camas frequentadas pelos mesmos. (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). A aspiração completa pode oferecer vários benefícios para um programa de controle. O aspirador pode remover ovos e larvas, além de fezes de pulgas e outros materiais orgânicos que podem servir de alimento para as larvas. Após a aspiração, deve-se descartar o saco a vácuo, para que os ovos e as larvas não continuem se desenvolvendo dentro do compartimento, tornando-se um reservatório de pulgas. Deve-se ter atenção especial a limpeza dos pisos, pois o desenvolvimento das pulgas pode ocorrer em fendas e rachaduras. (BATISTA et al., 2012). Além disso, as pupas encasuladas que estiverem sobre o tapete também poderão ser afetadas. A vibração também estimula pulgas adultas a emergir de seus casulos, de modo que eles podem ser coletados pela aspiração (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Quanto ao ambiente externo, vários pontos importantes devem considerados. As áreas protegidas da luz solar direta e onde o solo é úmido, proporcionam condições adequadas para o desenvolvimento de pulgas. Locais com gramados, muitos arbustos com acúmulo de folhagem, matéria orgânica e que são mais frequentados pelos animais nas horas mais quentes do dia, podem se transformar em focos de criação de formas imaturas de *C. felis felis*,

principalmente se as condições de temperatura e de umidade relativa forem favoráveis. Por isso, medidas como varrer o canil, manejar adequadamente a vegetação, impedir a circulação de biomassas para adubo, manejar o solo e evitar o contato do animal com animais externos ao domicílio, ajudam a reduzir a população de pulgas (BATISTA et al, 2012).

## **2.5 Controle Químico de *Ctenocephalides felis felis***

Inseticidas são substâncias químicas utilizadas para matar, atrair e repelir insetos, sendo sua descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e de impacto ambiental um vasto tópico de pesquisas no mundo inteiro e que tem se desenvolvido bastante nas últimas décadas. O primeiro inseticida comercial foi introduzido no mercado em 1843, quando o primeiro pó molhável, contendo enxofre, foi comercializado. Na década de 1940, surgiram as neurotoxinas sintéticas, cujo órgão principal, era o sistema nervoso dos insetos, referidas como neurotóxicas. Um dos grandes problemas com estes compostos é que eles atuam em um número muito limitado de sítios, levando a um rápido desenvolvimento e propagação da resistência. (BATISTA et al., 2012).

São vários os grupamentos químicos disponíveis para o controle de ectoparasitas, como por exemplo, os piretróides, organofosforados, carbamatos, fenilpirazoles, nitroguanidinas, neonicotinóides e lactonas macrocíclicas, porém os métodos de controle químico mais corriqueiramente utilizados, e que merecem maior destaque, incluem o emprego dos reguladores de crescimento dos insetos e de substâncias adulticidas com prolongado poder residual nos hospedeiros e no ambiente (SCOTT et al., 2002).

Quando os animais são tratados apenas com compostos adulticidas, acabam se reinfestando continuamente porque, após o tratamento, continuam a residir em seus ambientes de origem, onde os ovos de pulgas, larvas, pupas e pulgas emergentes permanecem e proporcionam uma fonte contínua de novas pulgas adultas (DRYDEN et al., 2007).

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

Os produtos químicos utilizados no controle de ectoparasitas de importância médica veterinária podem agir de maneira sistêmica, através da absorção pelo organismo do

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

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

Os ectoparasiticidas empregados no controle dos principais ectoparasitas de cães e gatos estão disponíveis em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, sprays, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on” e “pour-on” (SCOTT et al., 2002).

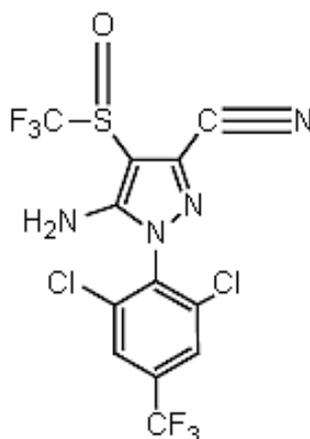
Em ambientes externos, o tratamento químico pontual em áreas sombreadas e/ou que favoreçam o ciclo evolutivo das pulgas, associado à limpeza periódica e à poda adequada de jardins, gramados e arbustos, não só contribui para um maior sucesso na utilização de inseticidas ambientais, ao impedir novas reinfestações,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

A frequência de tratamentos necessários para um controle de pulgas, em longo prazo, varia entre os diferentes compostos e formulações. Porém, os intervalos de tratamento ficam normalmente na faixa de um a seis meses. Além disso, os ectoparasiticidas apresentam uma série de inconvenientes, como o desenvolvimento de resistência por parte dos parasitas e preocupações quanto à segurança humana e ambiental (COOP, 2002).

Novas substâncias são necessárias para o efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos e baixo impacto ambiental (VIEGAS-JÚNIOR, 2003).

## 2.6 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 fenilpirazóis (COX, 2005).



**Figura 5.** Fórmula estrutural do Fipronil (COX, 2005).

O fipronil foi descoberto e desenvolvido pela Rhône-Poulenc Ag Company, em 1987 e registrado nos Estados Unidos para a produção comercial de arroz em 1998. (CHANDLER, 2004).

É membro de uma classe relativamente nova e pequena de inseticida, os pirazóis. O principal produto químico é o fenilpirazol que possui efeito herbicida (COLE; NICHOLSON; CASIDA, 1993; CHANDLER, 2004), por isso, seu uso começou na agricultura, em culturas de batata, cana-de-açúcar, milho, algodão, arroz, soja, cevada e feijão para o controle das pragas das plantações. Também é utilizado como conservante de madeira; no controle de pulgas e carrapatos em animais e domesticamente contra baratas e formigas (CHANDLER, 2004; PAYNE et al., 2001).

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

aminobutírico (GABA), tem maior sensibilidade nos receptores dos insetos que nos receptores dos mamíferos (HAINZL; CASIDA, 1996).

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

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

O fipronil sofre degradação lenta em água e sedimentos em condições anaeróbias, com tempo de meia vida variando entre 116 e 130 dias. É estável à hidrólise em pH moderadamente ácido a neutro. Em condições aeróbias, degrada-se lentamente mediante oxidação, redução e hidrólise (meio alcalino). Quando exposto a luz, o composto sofre fotodegradação e sua meia vida é de 3,6 horas em água e 34 dias em solo argiloso. Produz diversos metabólitos (produtos da fotodegradação), dentre os quais o fipronil-dissulfínil que é extremamente estável e mais tóxico que o composto original (COUTINHO et al., 2005).

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

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

Tancredi (2009) avaliou a influência do banho na eficácia de formulação contendo fipronil 10% no controle de *C felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães e os resultados demonstraram que não houve influência negativa do banho, seja ele único ou realizado semanalmente até 21 dias após o tratamento com a formulação. Após o dia +28, as eficácias

do grupo sem banho e com banhos semanais decaíram para 96,4 e 86,9%, prosseguindo de 100% no grupo com banho único. Apesar de significativamente diferentes, tais níveis de eficácia ainda se mantiveram satisfatórios. Uma vez que a aplicação de produtos como este é recomendada mensalmente, o banho único ou semanal não demonstrou influência negativa na atividade pulicida.

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

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

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

Yao e Franc (2006) compararam a atividade da selamectina, do imidacloprid e do fipronil para o tratamento de gatos infestados experimentalmente com *C. felis felis*. Todos os tratamentos controlaram as infestações ao longo do estudo. Dois dias após o tratamento, a formulação contendo imidacloprid demonstrou eficácia de 100%. Entretanto, após o dia +9, a eficácia declinou, até o dia +37. Já a formulação contendo fipronil, obteve eficácia de 98% passados 2 dias de tratamento e, a partir do período, a formulação protegeu os gatos da reinfestação com eficácia de 100% até o término das cinco semanas de estudo. A formulação de selamectina demonstrara eficácia de 90% dois dias após o tratamento. A partir de então, protegera os gatos da reinfestação de *C. felis. felis* por três semanas, com eficácia de 100%. Durante a quarta e a quinta semana, a proteção foi de aproximadamente 97%.

Em um estudo realizado por Bresciani et al. (2004), em cães infestados naturalmente por *C. felis felis* e tratados com fipronil e imidacloprid, o período residual do fipronil se mostrou superior, chegando a 42 dias de proteção, enquanto que os tratados com imidacloprid apresentaram novas infestações a partir de 28 a 35 dias pós-tratamento.

Foi determinado em estudo que a eficácia pulguicida do fipronil é potencializada quando associado ao metopreno. A combinação “spot on” provê um aumento de 95% na atividade adulticida por 5 semanas, 90% na atividade ovicida por 8 semanas e 90% na inibição de pulgas adultas emergentes por 12 semanas. Sendo assim, a adição do metopreno

ao fipronil torna-se uma combinação singular para interromper o ciclo de vida da pulga (YOUNG; JEANNIN; BOECKH, 2004).

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

Cruthers et al. (2001) e Dryden, Denenberg e Bunch (2000) observaram que o tratamento com fipronil com intervalo de 28 a 30 dias é suficiente para a profilaxia de infestações por pulgas em cães e gatos domiciliados e infestados naturalmente.

Mais recentemente foi introduzido no mercado o piriprole que é um novo derivado dos fenilpirazóis, que são substâncias efetivas contra um amplo espectro de pulgas e carrapatos (SCHUELE et al., 2007).

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

Estudo concluiu que o piriprol 12,5% obteve uma eficácia rápida e longo período residual para infestações por pulgas adultas, inclusive sobre grandes infestações (acima de 1.000 pulgas / cão por cada infestação). A velocidade da morte indicou que o tratamento com o produto pode interromper as infestações e o tratamento mensal prevenir novas infestações (BARNETT et al., 2008).

Bonneau et al. (2010) realizaram um estudo em que foi comparada a eficácia do Effipro® “spot-on” e do Frontline® “topspot” em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis*, diferindo somente no tipo de veículo, no controle de pulgas. A eficácia obtida no dia +2 foi de 99,7% para o Effipro® e de 100% para o Frontline®, mantendo a eficácia superior a 95% por 93 dias para o Effipro® “spot-on” e de 79 dias para o Frontline® “topspot”.

## **2.7 Peróxido de Benzoíla (POB)**

O peróxido de benzoíla é um peróxido aromático diacíclico, derivado de um subproduto do alcatrão, originário do carvão. Foi utilizado pela primeira vez em humanos em 1905, como um antisséptico oxidativo, não irritante (SCOTT; MILLER; CAYATTE, 1994).

O peróxido de benzoíla é um potente agente oxidante, que reage com materiais biológicos, interagindo com os radicais hidróxilo, do grupo sulfóxido, ligações duplas e outras substâncias, propriedades que lhe permitem romper as membranas celulares dos micróbios (MUELLER, 2012).

Considerada atualmente como a substância tópica mais utilizada no mundo no controle da acne, o peróxido de benzoíla, é amplamente utilizado na dermatologia. Apesar de ser um poderoso agente antioxidante, não é tóxico para seres humanos, inclusive, é utilizado no processamento de alimentos para branquear farinha, óleos entre outras várias aplicações industriais (POPP; TANGHETTI, 2009).

Desde sua introdução na medicina veterinária, em 1976 POB tornou-se amplamente utilizado para o tratamento de piodermites bacterianas e vários distúrbios de queratinização, especialmente “seborreia primária” (SCOTT; MILLER; CAYATTE, 1994).

A eficácia do peróxido de benzoíla é devida a sua atividade bactericida e pelo seu efeito queratolítico. É considerado superior aos antibióticos, pois as bactérias não desenvolvem resistência a ele e, superior às outras substâncias queratolíticas, por possuir efeito bactericida (POPP; TANGHETTI, 2009).

Scott (1979) e Kwochka e Kowalski (1991) observaram resposta boa a excelente no tratamento de piodermites bacterianas utilizando shampoo com peróxido de benzoíla a 2,5% sem auxílio de qualquer outra modalidade terapêutica, ratificando que o peróxido de benzoíla é altamente recomendado na inibição do crescimento bacteriano em cães com piodermites bacterianas.

Quando posto sobre a pele, o POB penetra o estrato córneo e abre o folículo piloso, sendo metabolizado em ácido benzoico. A liberação do ácido benzóico é responsável pela lise da substância intercelular no estrato córneo da pele, o que explica o efeito queratolítico. (SCOTT; MILLER; CAYATTE, 1994).

Waller et al. (2006) compararam a eficácia queratolítica e a ruptura de barreira cutânea do peróxido de benzoíla 2%, ácido retinóico 0,05% e ácido salicílico 2%, determinando que o peróxido de benzoíla demonstrou significativa atividade queratolítica, demonstrada pela maior quantidade de estrato córneo removido, demonstrado pela maior perda de água transepidermal nas camadas mais profundas. Os autores também observaram que a interrupção da barreira do estrato córneo pode melhorar a penetração de outras drogas, complementando a eficácia antibacteriana.

Uma desvantagem para o tratamento com produtos contendo POB é o possível aparecimento de reações irritativas na pele. Acredita-se que o grau de irritação deva estar relacionado com a quantidade de POB presente no produto (FARES; CHATTERJEE; HAYWARD, 1996).

Geralmente, é utilizado a 2,5-3%, sendo bem tolerado, havendo reações em somente 2,5 a 5% de todos pacientes submetidos a tratamentos. As reações de hipersensibilidade são muito raras. Demonstrou atividade promotora de neoplasias de pele em ratos e hamster, o que não fora demonstrado em nenhuma outra espécie. Outros efeitos secundários incluem o branqueamento de pelos e roupas. (SCOTT; MILLER; CAYATTE, 1994).

Por outro lado, o efeito adverso mais comumente observado é o excessivo ressecamento da pele. Por esse motivo, deve ser evitado o uso no tratamento de cães com diversas afecções dérmicas com pele ressecada). Assim, se o POB for utilizado no tratamento de piodermite bacteriana de cães com pele ressecada, muitas das vezes deverá ser aplicados produtos de ação emoliente a fim de neutralizar o ressecamento (SCOTT; MILLER; CAYATTE, 1994).

Embora algumas fórmulas antigas de peróxido de benzoíla apresentassem limitações pela irritação provocada, novas formulações adicionadas a excipientes como uréia, glicerina e emolientes, têm melhorado muito a tolerabilidade da substância (POPP; TANGHETTI, 2009).

## **2.8 Barreira Cutânea e Lipídeos Epidérmicos**

Os lipídeos epidérmicos desempenham um papel importante na função de barreira da pele de mamíferos, especialmente os lipídeos que constroem as lamelas de lipídeo intercelular do estrato córneo. (SCHULZE et al., 2013).

As ceramidas são o maior grupo de lipídeos do estrato córneo. Os outros componentes incluem o colesterol, os ácidos graxos livres, os sulfatos de colesterol e os ésteres de colesterol. Os lipídeos do estrato córneo formam uma barreira composta, altamente organizada e estruturada, formando camadas membranosas multilamelares. (REITER; TORRES; WERTZ, 2009).

Essa barreira epidérmica é responsável por várias funções importantes, incluindo o controle da absorção percutânea de irritantes e alérgenos (função de barreira da permeabilidade) e regulação da perda de água transcutânea (função de barreira da permeabilidade de água). (REITER; TORRES; WERTZ, 2009).

As ceramidas são consideradas como a classe mais importante dos lipídeos que compõem a barreira epidérmica, visto que a barreira não possa ser interrompida, a menos que as ceramidas sejam removidas (REITER; TORRES; WERTZ, 2009).

Mudanças no perfil de ceramidas podem levar a incompleta formação das lamelas lipídicas intercelulares e aumento da perda de água transepidérmica (SCHULZE et al, 2013).

A deficiência de ceramidas foi especialmente correlacionada ao aumento da perda de água transepidérmica e, conseqüentemente, reduzidos valores de hidratação da pele em seres humanos com dermatite atópica. Além disso, tem-se especulado que a ruptura da barreira constitutiva, associada à diminuição das ceramidas no estrato córneo de seres humanos, pode estar associada à predisposição para a colonização por *Staphylococcus aureus* (REITER; TORRES; WERTZ, 2009).

Em seres humanos, para algumas afecções dérmicas, suspeita-se de defeito subjacente da barreira epidérmica; conseqüentemente, os lipídeos do estrato córneo tem sido objeto de vários estudos recentes. (SCHULZE et al., 2013).

Arikawa et al. (2002) sugeriram que a diminuição dos níveis de ceramidas leva a diminuição dos níveis de esfingosina, um antimicrobiano natural contido dentro do estrato córneo e o subseqüente aumento de bactérias na pele de seres humanos portadores de dermatite atópica. Os resultados encontrados explicam, pelo menos parcialmente, a aparência inflamada e escamosa da pele dos indivíduos com a afecção e sua propensão a desenvolverem infecções bacterianas secundárias.

Em relação às anormalidades na pele, semelhantes em dermatites atópicas humanas e caninas, há poucos estudos sobre lipídeos da pele canina. Infelizmente, os vários diferentes métodos de amostragem, dificulta a análise comparativa desses estudos (SCHULZE et al., 2013).

Pesquisas muito relevantes em seres humanos portadores de dermatite atópica, têm demonstrado alterações na função da barreira lipídica do estrato córneo. Muitos dos estudos revelaram uma deficiência de ceramidas no estrato córneo dos pacientes afetados (REITER; TORRES; WERTZ, 2009).

Para a investigação dos lipídeos epidérmicos de animais *in vivo*, um método de amostragem não invasivo ainda é mais recomendado. Com essa finalidade, alguns métodos de extrações tópicas que utilizam solventes orgânicos foram descritos (SCHULZE et al., 2013).

Schulze et al (2013), em estudo de comparação de 3 métodos de mensuração dos lipídeos caninos, concluíram que vários fatores devem ser considerados na interpretação dos

resultados das medicações de lipídeos da pele, particularmente sobre as ceramidas. Para além do método de amostragem, os padrões utilizados para a quantificação possuem uma grande influência sobre a composição lipídica determinada.

Misturas de hexano e álcoois têm sido usadas para extrair os lipídeos epidérmicos humanos e de porcos, com mínima irritação. A extração de lipídeos utilizando uma mistura de 2:1 de n-hexano e etanol, revelou perfis de ceramida comparáveis aos resultados obtidos em fita decapagem. Entretanto, a viabilidade da utilização do procedimento de extrações tópicas em cães ainda deve ser investigada, pois, durante o tempo de exposição, pode haver perda de solvente (SCHULZE et al., 2013).

Outro desafio no estudo dos lipídeos epidérmicos é o procedimento analítico, particularmente para as ceramidas. Devido a grande variabilidade de ceramidas no estrato córneo, a classificação de acordo com a composição molecular tem sido desenvolvida.

A fim de separar as classes de ceramida, a cromatografia em camada fina de alto rendimento de fase normal (HPTLC) é ainda o método de primeira escolha (SCHULZE et al., 2013).

Nos últimos anos, protocolos utilizando cromatografia líquida de alta pressão em fase normal (HPLC), em alguns casos juntamente com espectrometria de massa (MS) também têm sido descritos (SCHULZE et al., 2013).

Adicionalmente, a localização anatômica pode afetar os resultados de estudos de lipídeos da pele canina. Além disso, o estudo revelou que a raspagem e a esfoliação da pele como métodos adequados e comparáveis para lipídeos epidérmicos caninos, enquanto que a análise da epiderme separada por calor não deve ser o método de primeira escolha, devido a fraca reprodutibilidade (SCHULZE et al., 2013).

Consequentemente, a investigação dos lipídeos epidérmicos continua sendo um desafio e todos os fatores mencionados podem influenciar os resultados. O uso de diferentes padrões de ceramidas para a quantificação, as diferentes formas de calcular o teor de lipídeos e os variados métodos de amostragem, fazem com que a comparação dos estudos seja bastante difícil (SCHULZE et al., 2013).

Os ácidos graxos são importantes para o controle da hidratação, da perda de água transepidermal e para o controle da função de barreira epidérmica. Eles também são queratolíticos e possuem ação fungistática. Exemplos de ácidos graxos com propriedades fungistáticas e queratolíticas incluem o ácido caprílico, propiônico e os ácidos undecilênico

Recentemente, alguns novos produtos têm sido desenvolvidos para aplicação tópica dos ácidos graxos para o revestimento da pele e pelos (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Os benefícios desses produtos ainda estão sendo analisados em estudos mais controlados mas as impressões iniciais são favoráveis em relação a sua utilização em seborreia e as doenças alérgicas de pele (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Um produto com propriedades similares é o Allerderm Spot-on (Virbac), que contém um complexo de lipídeos dérmicos composto por uma mistura de ceramidas e ácidos graxos semelhantes aos contidos em uma pele saudável. Estudos relatam benefícios na utilização do produto em condições de pele seborreica e afecções alérgicas das peles a partir dos seus efeitos sobre a melhoria da função de barreira epidermal. (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Fujimura et al. (2011) avaliaram os benefícios clínicos da aplicação de formulação tópica de complexo lipídico composto por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres (ALLERDERM Spot-On – Virbac AS, Carros, France) no tratamento de cães com dermatite atópica crônica. Os resultados do estudo sugeriram que a aplicação do complexo lipídico é benéfica quando utilizada no manejo terapêutico da dermatite atópica canina.

Chamlin et al. (2012) demonstraram reparação da barreira epidérmica por microscopia eletrônica de transmissão em crianças portadoras de dermatite atópica após a utilização de complexo reparador contendo emolientes a base de ceramidas, induzindo a recuperação da perda de água transepidérmica e, conseqüentemente, aliviando significativamente os sinais clínicos associados à dermatite atópica.

Piekutowska et al. (2008) evidenciou por microscopia eletrônica que, em cães com dermatite atópica, a aplicação tópica de um complexo lipídico conduziu a melhorias na estrutura inter-corneócitos, na produção de lipídeos lamelares e no preenchimento dos espaços inter-corneócitos com lipídeos lamelares recém-formados.

Estudo conduzido por Shimada et al. (2009) estabeleceu correlação entre a perda de água transepidérmica e o conteúdo de ceramida relativa contida em cães atópicos com pele lesionada e não lesionada.

Popa et al. (2011) analisaram os lipídeos epidérmicos em cães normais e atópicos, antes e depois da administração de suplemento oral de ácidos graxos essenciais contendo ômega-6 e ômega 3 e puderam observar que, passados dois meses da suplementação, o conteúdo de lipídeos foi alterado significativamente em ambos os grupos. Aumentando consideravelmente os níveis de ceramidas intercelulares livres, os níveis de colesterol livre no

estrato córneo e de ácidos graxos livres, passando, nos casos dos atópicos, inclusive a superar os níveis encontrados nos cães saudáveis e não portadores de dermatite atópica.

Bensignor et al. (2008) avaliaram os benefícios de uma alimentação comercial rica em ácidos graxos essenciais. Concluindo que, passadas quatro semanas, animais portadores de dermatite atópica submetidos a tais dietas, obtiveram melhoras significativas nas lesões clínicas e no grau de prurido. No entanto, o grau de melhoria limitada significa que é improvável que a dieta isolada irá gerir a dermatite atópica de forma satisfatória, devendo ser considerado com parte de um plano de tratamento. Podendo ter vantagens aditivas ou sinérgicas, assim como foi demonstrado no ensaio para reduzir os requisitos para os fármacos anti-inflamatórios como glicocorticoides.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Localização da Experimentação

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

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

A utilização de animais no presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ (FAPUR), em reunião realizada em 04 de julho de 2014 (Anexo).

### 3.2 Obtenção de Adultos de *Ctenocephalides felis felis*

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

### 3.3 Delineamento experimental

#### 3.3.1 Seleção e manejo dos animais

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

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

Antes de dar início à fase experimental, os cães passaram por um período de adaptação e climatização por 14 dias em baias individuais de alvenaria com piso cimentado, com 1,5 m<sup>2</sup> e com limpeza das instalações sendo realizada diariamente.

Os animais foram divididos em 4 grupos, contendo 6 animais cada grupo:

- Grupo Controle: cães mantidos sem tratamento;
- Grupo Tratado I: cães banhados semanalmente com sabonete líquido glicerinado<sup>1</sup> e neutro;
- Grupo Tratado II: cães submetidos previamente a banhos diários e ao longo de 21 dias consecutivos com Peróxido de Benzoíla 2,5% para indução do ressecamento cutâneo;
- Grupo Tratado III: cães submetidos previamente a banhos diários e ao longo de 21 dias consecutivos com Peróxido de Benzoíla 2,5% para indução do ressecamento cutâneo e posterior aplicação de formulação lipídica contendo ácidos graxos essenciais e ceramidas, mantendo aplicações quinzenais até o término do estudo.

Os animais do grupo controle não receberam tratamento, enquanto que os animais dos grupos tratados I, II e III receberam a formulação de Fipronil 10% “spot on”<sup>21</sup>, conforme as instruções e dosagens fornecidas pelo fabricante para uso em cães.

Os animais do grupo tratado III receberam, quinzenalmente, até o término do estudo, aplicações de formulação lipídica contendo em sua formulação ácidos graxos essenciais e ceramidas<sup>3</sup>.

A infestação de todos os grupos fora realizada com 100 exemplares de pulgas adultas não alimentadas (50 machos e 50 fêmeas). Os exemplares foram colocados em tubos de ensaio individuais, respectivamente para cada cão.

Os cães do grupo tratado II e III, submetidos aos 21 dias consecutivos de banhos diários, prévios ao início do estudo com peróxido de benzoíla 2,5%, apresentaram diferentes níveis de escamação epidérmica, levando a crer, clinicamente, que os mesmos apresentaram ressecamento epidérmico induzido pelos banhos.

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

---

<sup>1</sup>PetBril®<sup>2</sup>, Effipro® “Spot-On” (Virbac). <sup>3</sup>Allerderm® Spot-On (Virbac).

**Tabela 2.** Grupos de tratamentos, sexo, número de identificação, peso dos animais, dose correspondente do produto e contagem de pulgas para efeitos de ranqueamento.

<b>Grupo/ animal</b>	<b>Sexo</b>	<b>Peso corporal Kg</b>	<b>Volume empregado no tratamento</b>	<b>Contagem de pulgas no dia -5</b>
<b>Controle</b>				
35813	M <sup>1</sup>	15.600	-	46
595318	M	15.200	-	49
288403	M	11.800	-	66
227500	M	12.500	-	62
249437	M	14.700	-	59
595950	F <sup>2</sup>	8.800	-	52
<b>Média<sup>3</sup></b>		<b>13.10</b>		<b>59,75</b>
<b>DP<sup>4</sup></b>		<b>2.37</b>		<b>5,12</b>
<b>Tratado 1</b>				
250426	M	15.300	1,34 mL	52
594686	M	11.100	1,34 mL	72
394675	M	13.700	1,34 mL	46
44309	M	13.700	1,34 mL	48
604885	M	11.700	1,34 mL	54
595142	F	9.100	0,67 mL	63
<b>Média</b>		<b>12.43</b>		<b>55,83</b>
<b>Desv. Pad.</b>		<b>2.04</b>		<b>9,03</b>
<b>Tratado 2</b>				
416929	M	11.400	1,34 mL	46
44118	M	12.600	1,34 mL	51
288374	M	11.500	1,34 mL	58
412375	M	13.600	1,34 mL	52
288429	M	11.600	1,34 mL	64
595779	F	10.900	1,34 mL	49
<b>Média</b>		<b>11.93</b>		<b>53,33</b>
<b>Desv. Pad.</b>		<b>0.90</b>		<b>5,99</b>
<b>Tratado 3</b>				
595290	M	11.900	1,34 mL	48
288437	M	9.800	0,67 mL	43
104220	M	16.200	1,34 mL	60
594689	M	14.050	1,34 mL	69
288438	M	12.300	1,34 mL	52
44066	F	13.300	1,34 mL	56
<b>Média</b>		<b>12.93</b>		<b>54,67</b>
<b>Desv. Pad.</b>		<b>1.97</b>		<b>8,40</b>

<sup>1</sup>Macho; <sup>2</sup>Fêmea; <sup>3</sup>Média aritmética; <sup>4</sup>Desvio padrão.

### 3.3.2 Avaliação da eficácia do fipronil no controle de *Ctenocephalides felis felis* em cães

No dia -26, antes da infestação, os cães foram desinfestados para assegurar que não houvesse infestação prévia. No dia -25, os animais foram avaliados para efeito de ranqueamento e divisão dos grupos experimentais. No ranqueamento foram utilizados 100 exemplares de *C. felis felis* para todos os grupos experimentais. Após o ranqueamento, procedeu-se o sorteio dos grupos experimentais (controle e tratados) e os animais foram distribuídos em quatro grupos de seis animais cada.

Os grupos foram divididos em:

- **Grupo Controle:** seis cães (uma fêmea e cinco machos) mantidos sem tratamento, sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas;
- **Grupo Tratado I:** seis cães (uma fêmea e cinco machos) tratados com a formulação de fipronil 10%, sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas e banhados semanalmente com sabonete líquido glicerinado neutro;
- **Grupo Tratado II:** seis cães (uma fêmea e cinco machos) banhados diariamente com shampoo à base de peróxido de benzoíla 2,5% ao longo de três semanas, posteriormente, sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas e tratados com a formulação de fipronil 10%;
- **Grupo Tratado III:** seis cães (uma fêmea e cinco machos) banhados diariamente com shampoo à base de peróxido de benzoíla 2,5% ao longo de três semanas, posteriormente, sendo infestados com 100 exemplares de *C. felis felis*, não alimentadas, tratados com a formulação de fipronil 10% e, quinzenalmente, recebendo aplicações de formulação lipídica contendo ácidos graxos essenciais e ceramidas.

No dia -1, os cães pertencentes ao grupo tratado III receberam a formulação do complexo lipídico contendo ácidos graxos e ceramidas, nas apresentações de 2 ml para cães até 2 kg e 4 ml para cães acima de 10 kg. Tais aplicações foram repetidas nos animais do referido grupo, com intervalos quinzenais, até o término do estudo. As aplicações foram realizadas diretamente sobre a pele do animal, sendo metade do conteúdo aplicado no espaço entre as escápulas e a outra metade ao longo de toda a extensão do dorso e no sentido contrário ao pelo.

No dia 0, os cães dos grupos tratados receberam a formulação de Fipronil 10% “Spot-On”, nas apresentações de 0,67 mL para cães pesando entre dois e 10 kg e 1,34 mL para cães

pesando entre 10,1 a 20 kg. A aplicação foi diretamente sobre a pele do animal, ao longo do pescoço no sentido contrário ao pelo.

Nos dias -2, +5, +12, +19, +26, +33 e +40, +47 e +54 foi realizada a infestação conforme descrito anteriormente. Nos dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 e +56 foi realizada a retirada mecânica, através da utilização de pentes próprios (“comb test”), para a contagem de pulgas vivas.

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

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

### **3.4 Análise estatística**

Na análise estatística, os números de pulgas adultas vivas foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Como os dados não apresentaram distribuição normal, foram submetidos ao Teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

O nível de significância considerado foi de 95% ( $p < 0,05$ ).

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

## 4 RESULTADOS

Os resultados do número de pulgas vivas recuperadas nos animais dos grupos controle, tratado I, tratado II e tratado III, durante todo o período experimental, encontram-se nas Tabelas 3, 4 e 5 e Figuras 2, 3 e 4.

A análise estatística comparativa entre os grupos controle, tratado I, tratado II e tratado III, demonstrou que ocorreu diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabelas 3, 4, 5).

A média de pulgas recuperadas no grupo controle foi superior a 50% em todos os dias experimentais.

A média de pulgas recuperadas no grupo tratado I foi inferior à zero até o dia +42, atingindo média de 15 pulgas, no dia +49.

A média de pulgas recuperadas entre no grupo tratado II foi inferior à zero até o dia +28, atingindo média superior a 10 pulgas, no dia +49.

A média de pulgas recuperadas no grupo tratado III foi inferior à zero até o dia +35, atingindo média de 47 pulgas, no dia +49.

Nos dias +35 somente dez pulgas vivas foram encontradas no grupo tratado II. No dia experimental + 42 foram recuperadas apenas duas pulgas no grupo tratado III.

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

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

As médias do grupo controle quando comparado com as médias do grupo tratado I, apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabelas 3 e 6).

As médias do grupo controle quando comparado com as médias do grupo tratado II, apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabelas 4 e 6).

As médias do grupo controle quando comparado com as medias do grupo tratado III, apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os desafios até o dia +42, não havendo diferença significativa nos dias subsequentes (Tabelas 5 e 6).

As médias do grupo tratado I quando comparado com as médias do grupo tratado II, não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabela 6).

As médias do grupo tratado I quando comparado com as médias do grupo tratado III, não apresentou diferença significativa ( $p\leq 0,05$ ) para os desafios até o dia +49. No dia +56, houve diferença significativa entre os grupos ( $p>0,05$ ) (Tabela 6).

As médias do grupo tratado II quando comparado com as médias do grupo tratado III, não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) para os desafios em todos os dias experimentais, após o tratamento (Tabela 6).

O produto em teste apresentou resultados de eficácia pulguicida de 100%; 100%; 100%; 100%; 100%; 100%, 100%, 76,25% e 72,47, respectivamente para os dias experimentais de +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 para o grupo tratado I (Figura 5).

O grupo tratado II apresentou resultados de eficácia pulguicida de 100% nos dias + 2, +7, +14, +21 e +28. Nos dias subsequentes, os resultados de eficácias foram de 97%; 93%; 83% e 71, respectivamente (Figura 6).

No grupo tratado III, os resultados de eficácia pulguicida encontrados foram: 100%, 100%, 100%, 100%, 100%, 100%, 99,48%, 28,23% e 27,52% para os dias +2, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49 e +56, respectivamente. (Figura 7).

Com base nestes resultados, pode-se afirmar que a desidratação epidérmica induzida no grupo tratado II, submetido a banhos diários e ao longo de 21 dias consecutivos com Peróxido de Benzoíla 2,5% para indução do ressecamento cutâneo, não influenciou na eficácia do fipronil. Já no grupo tratado III, onde os animais foram submetidos as aplicações quinzenais do completo lipídico, não houve potencialização na eficácia do fipronil, não apresentando maior efeito residual de proteção quando os animais foram submetidos a sua aplicação, corroborando a não interferência do ressecamento cutâneo,

O desafio foi encerrado no dia +56, já que a avaliação da eficácia dos grupos tratados I, II e III reduziram drasticamente, 72,47%, 71% e 27,52%, respectivamente.

**Tabela 2.** Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado I, com o produto em teste ao longo do período experimental.

Grupo/ animal	Número de pulgas vivas recuperados								
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42	Dia +49	Dia +56
<b>Controle</b>									
35813	65	54	58	52	54	70	86	51	66
595318	67	61	56	61	62	60	73	85	73
288403	63	65	60	60	81	69	53	70	68
227500	85	52	55	72	63	65	77	51	56
249437	73	59	64	51	52	51	51	62	71
595950	63	52	57	62	53	63	52	60	62
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>69,33<sup>a</sup></b>	<b>57,17<sup>a</sup></b>	<b>58,33<sup>a</sup></b>	<b>59,67<sup>a</sup></b>	<b>60,83<sup>a</sup></b>	<b>63,00<sup>a</sup></b>	<b>65,33<sup>a</sup></b>	<b>63,17<sup>a</sup></b>	<b>66,00<sup>a</sup></b>
<b>DP<sup>2</sup></b>	<b>7,78</b>	<b>4,88</b>	<b>2,98</b>	<b>6,99</b>	<b>9,99</b>	<b>6,35</b>	<b>13,89</b>	<b>11,77</b>	<b>5,69</b>
<b>Tratado 1</b>									
250426	0	0	0	0	0	0	0	26	11
594686	0	0	0	0	0	0	0	42	34
394675	0	0	0	0	0	0	0	8	11
44309	0	0	0	0	0	0	0	0	8
604885	0	0	0	0	0	0	0	12	25
595142	0	0	0	0	0	0	0	2	20
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>15,00<sup>b</sup></b>	<b>18,17<sup>b</sup></b>
<b>Desv. Pad.</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>14,73</b>	<b>9,19</b>

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio Padrão; <sup>ab</sup>Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).

**Tabela 3.** Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado II, com o produto em teste ao longo do período experimental.

Grupo/ animal	Número de pulgas vivas recuperadas								
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42	Dia +49	Dia +56
<b>Controle</b>									
35813	65	54	58	52	54	70	86	51	66
595318	67	61	56	61	62	60	73	85	73
288403	63	65	60	60	81	69	53	70	68
227500	85	52	55	72	63	65	77	51	56
249437	73	59	64	51	52	51	51	62	71
595950	63	52	57	62	53	63	52	60	62
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>69,33<sup>a</sup></b>	<b>57,17<sup>a</sup></b>	<b>58,33<sup>a</sup></b>	<b>59,67<sup>a</sup></b>	<b>60,83<sup>a</sup></b>	<b>63,00<sup>a</sup></b>	<b>65,33<sup>a</sup></b>	<b>63,17<sup>a</sup></b>	<b>66,00<sup>a</sup></b>
<b>DP<sup>2</sup></b>	<b>7,78</b>	<b>4,88</b>	<b>2,98</b>	<b>6,99</b>	<b>9,99</b>	<b>6,35</b>	<b>13,89</b>	<b>11,77</b>	<b>5,69</b>
<b>Tratado 2</b>									
416929	0	0	0	0	0	0	0	1	1
44118	0	0	0	0	0	0	10	35	43
288374	0	0	0	0	0	0	1	1	26
412375	0	0	0	0	0	0	0	5	3
288429	0	0	0	0	0	0	0	0	14
595779	0	0	0	0	0	10	17	23	27
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>1,67<sup>b</sup></b>	<b>4,67<sup>b</sup></b>	<b>10,83<sup>b</sup></b>	<b>19,00<sup>b</sup></b>
<b>Desv. Pad.</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>3,73</b>	<b>6,57</b>	<b>13,40</b>	<b>14,69</b>

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio Padrão; <sup>ab</sup>Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).

**Tabela 4.** Contagens individuais de pulgas adultas e vivas, recuperadas através do método “comb-test”, valores de média e desvio padrão dos animais do grupo controle e tratado III, com o produto em teste ao longo do período experimental.

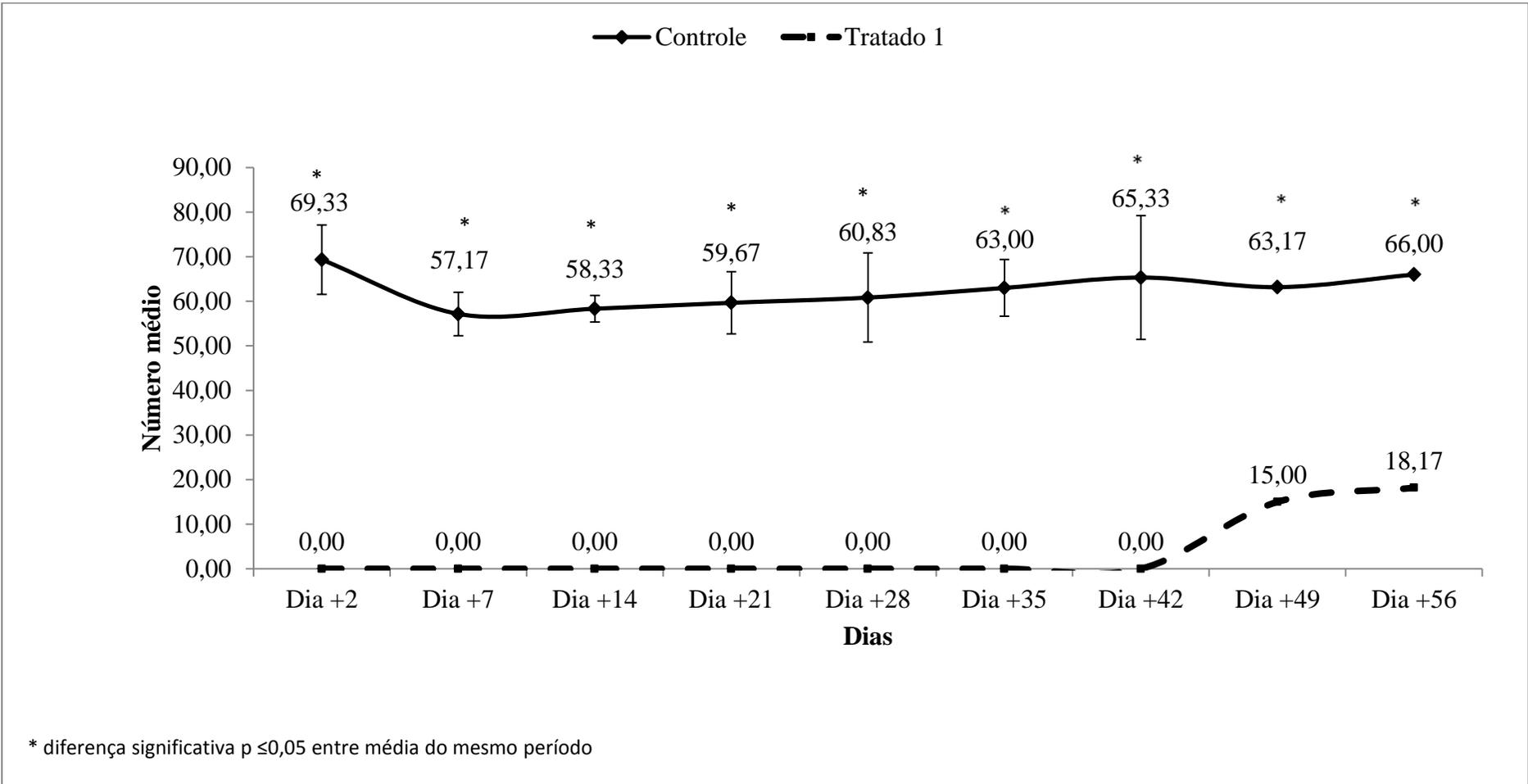
Grupo/ animal	Número de pulgas vivas recuperadas								
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42	Dia +49	Dia +56
<b>Controle</b>									
35813	65	54	58	52	54	70	86	51	66
595318	67	61	56	61	62	60	73	85	73
288403	63	65	60	60	81	69	53	70	68
227500	85	52	55	72	63	65	77	51	56
249437	73	59	64	51	52	51	51	62	71
595950	63	52	57	62	53	63	52	60	62
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>69,33<sup>a</sup></b>	<b>57,17<sup>a</sup></b>	<b>58,33<sup>a</sup></b>	<b>59,67<sup>a</sup></b>	<b>60,83<sup>a</sup></b>	<b>63,00<sup>a</sup></b>	<b>65,33<sup>a</sup></b>	<b>63,17<sup>a</sup></b>	<b>66,00<sup>a</sup></b>
<b>DP<sup>2</sup></b>	<b>7,78</b>	<b>4,88</b>	<b>2,98</b>	<b>6,99</b>	<b>9,99</b>	<b>6,35</b>	<b>13,89</b>	<b>11,77</b>	<b>5,69</b>
<b>Tratado 3</b>									
595290	0	0	0	0	0	0	0	33	41
288437	0	0	0	0	0	0	0	78	56
104220	0	0	0	0	0	0	2	41	44
594689	0	0	0	0	0	0	0	15	56
288438	0	0	0	0	0	0	0	60	42
44066	0	0	0	0	0	0	0	45	48
<b>Média</b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,33<sup>b</sup></b>	<b>45,00<sup>a</sup></b>	<b>48,00<sup>a</sup></b>
<b>Desv. Pad.</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,75</b>	<b>19,88</b>	<b>6,17</b>

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio Padrão; <sup>ab</sup>Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).

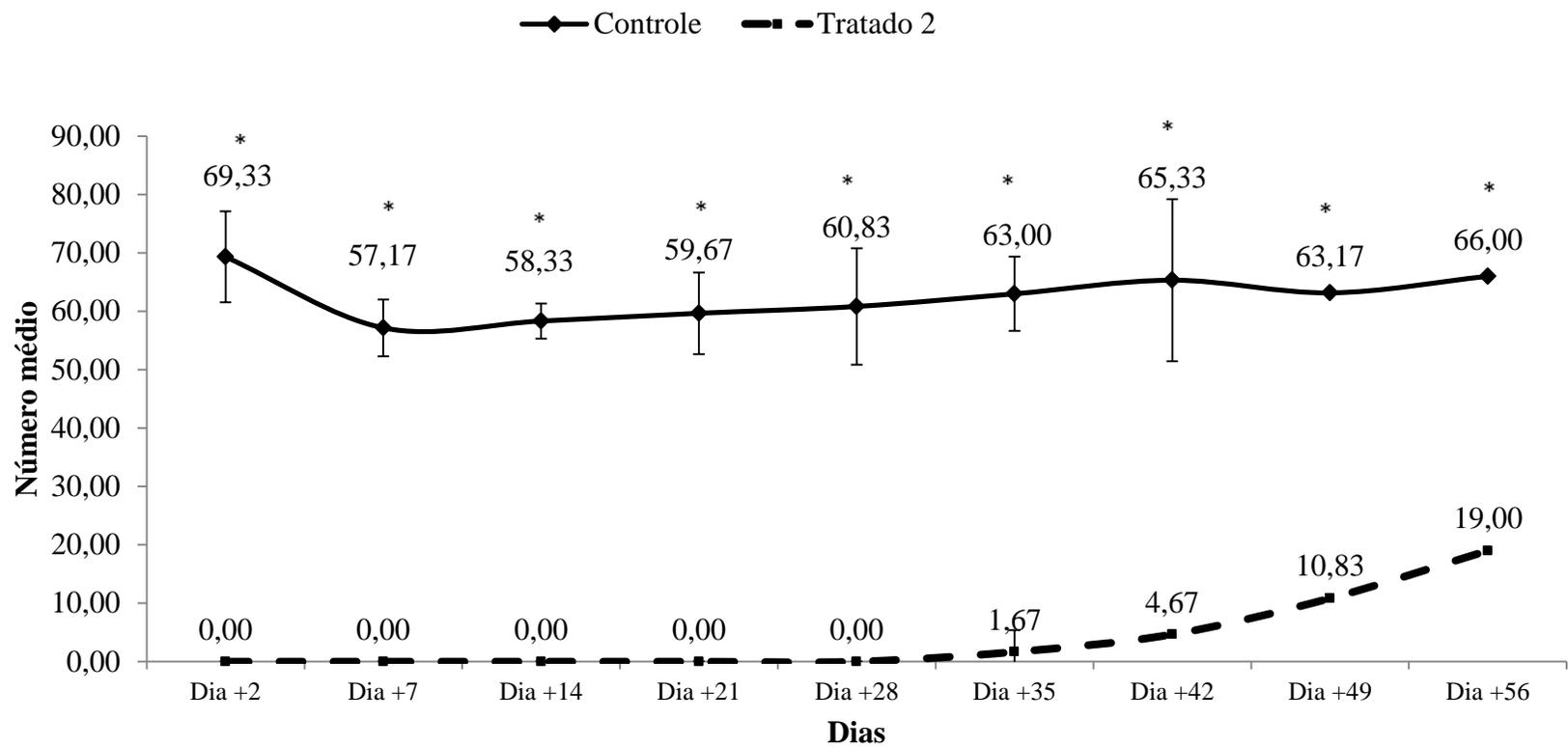
**Tabela 5.** Valores de média, desvio padrão e eficácia dos animais do grupo controle e tratado I, II e III, com o produto em teste ao longo do período experimental.

Grupo	Número de pulgas vivas recuperadas								
	Dia +2	Dia +7	Dia +14	Dia +21	Dia +28	Dia +35	Dia +42	Dia +49	Dia +56
<b>Controle</b>									
Média <sup>1</sup>	69,33 <sup>a</sup>	57,17 <sup>a</sup>	58,33 <sup>a</sup>	59,67 <sup>a</sup>	60,83 <sup>a</sup>	63,00 <sup>a</sup>	65,33 <sup>a</sup>	63,17 <sup>a</sup>	66,00 <sup>a</sup>
DP <sup>2</sup>	7,78	4,88	2,98	6,99	9,99	6,35	13,89	11,77	5,69
<b>Tratado I</b>									
Média	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	15,00 <sup>baa</sup>	18,17 <sup>baa</sup>
Desv. Pad.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,73	9,19
Eficácia %	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	76,25	72,47
<b>Tratado II</b>									
Média	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	1,67 <sup>baa</sup>	4,67 <sup>baa</sup>	10,83 <sup>baa</sup>	19,00 <sup>baa</sup>
Desv. Pad.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,73	6,57	13,40	14,69
Eficácia %	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	97,35	92,86	82,85	71,21
<b>Tratado III</b>									
Média	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,00 <sup>baa</sup>	0,33 <sup>baa</sup>	45,40 <sup>aaa</sup>	47,83 <sup>aba</sup>
Desv. Pad.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	19,89	6,18
Eficácia %	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,49	28,23	27,53

<sup>1</sup>Média aritmética; <sup>2</sup>Desvio Padrão; <sup>ab</sup>Médias com letras minúsculas diferentes diferem significativamente entre si (p for ≤ 0,05).

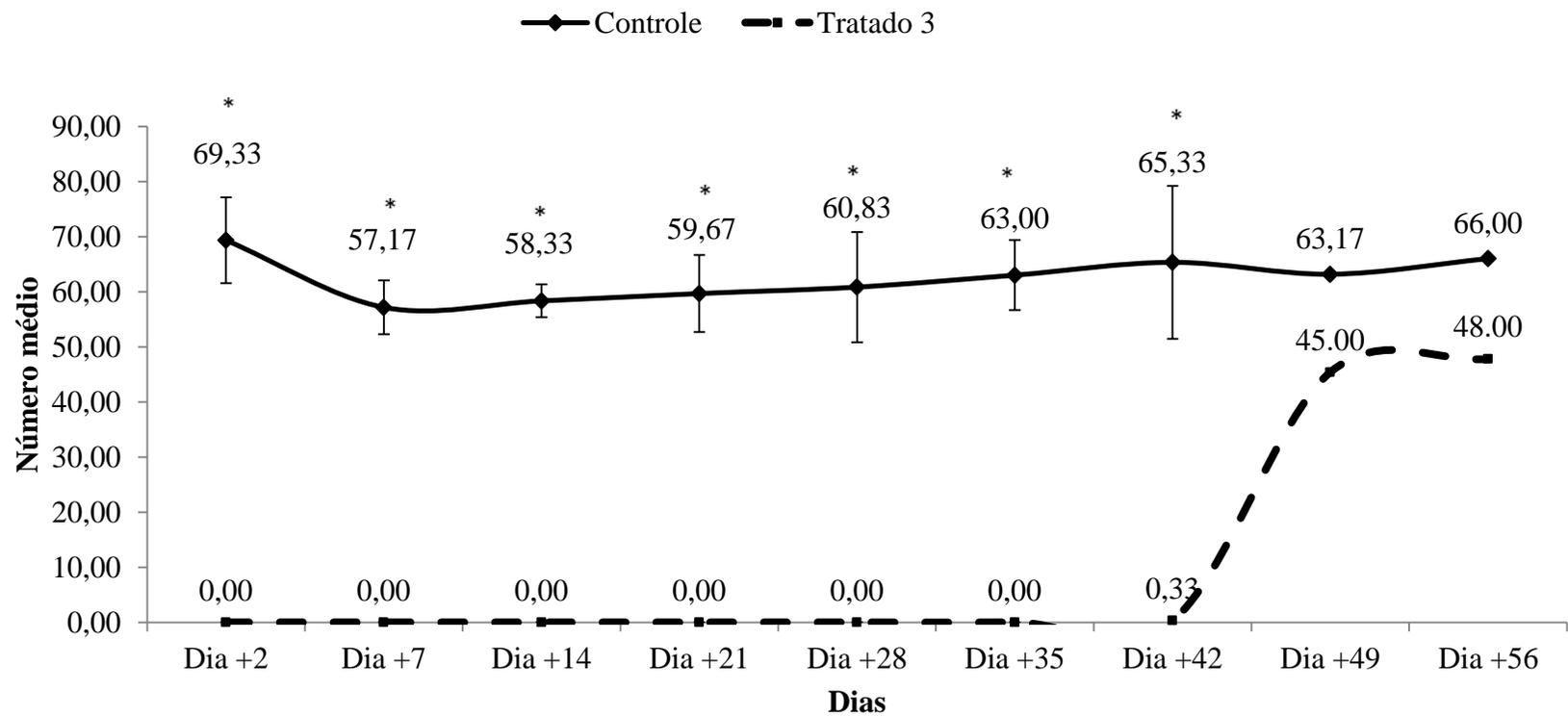


**Figura 6.** Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos controle e tratado I.



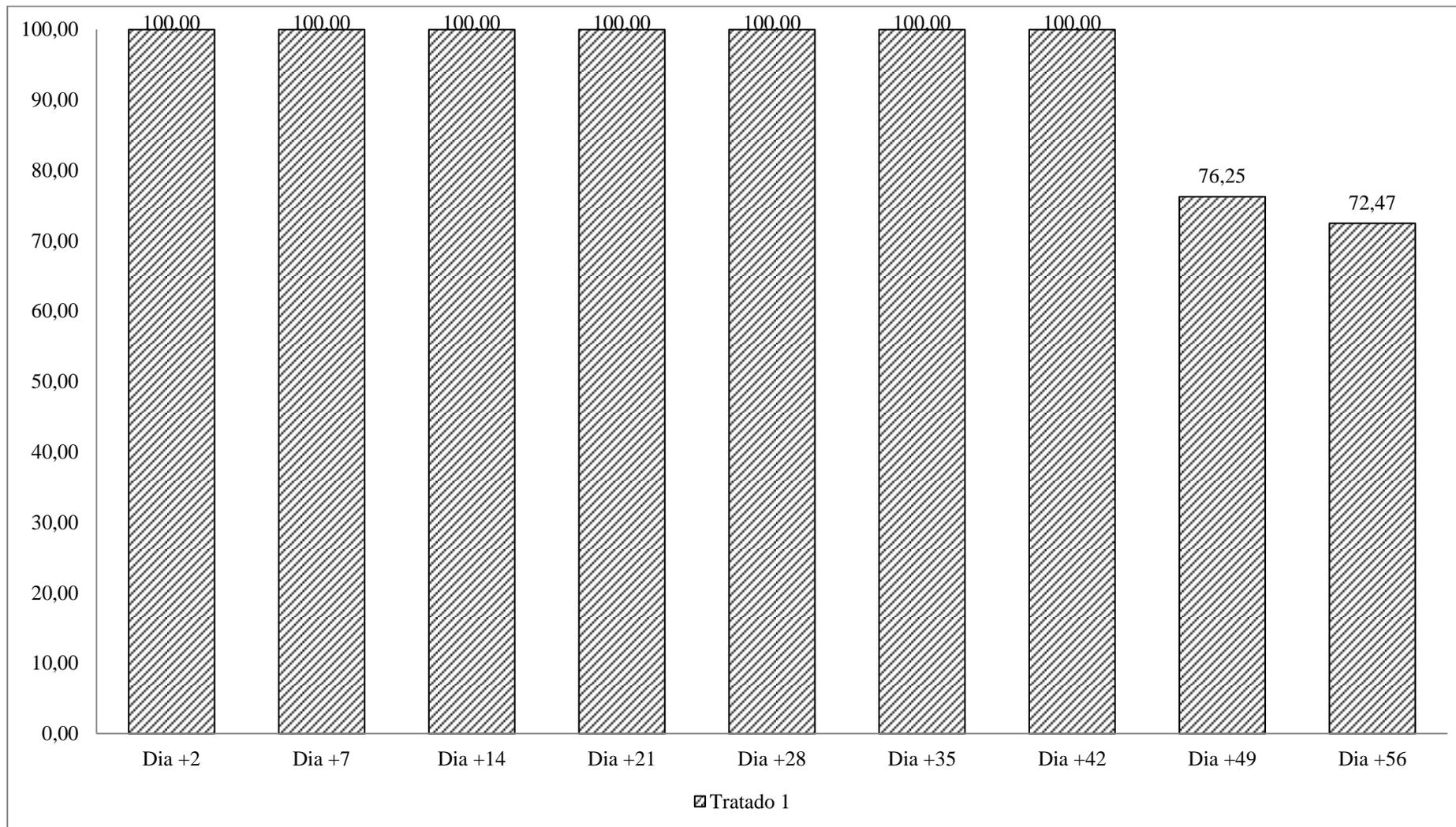
\*diferença significativa  $p \leq 0,05$  entre média do mesmo período

**Figura 7.** Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos controle e tratado II.

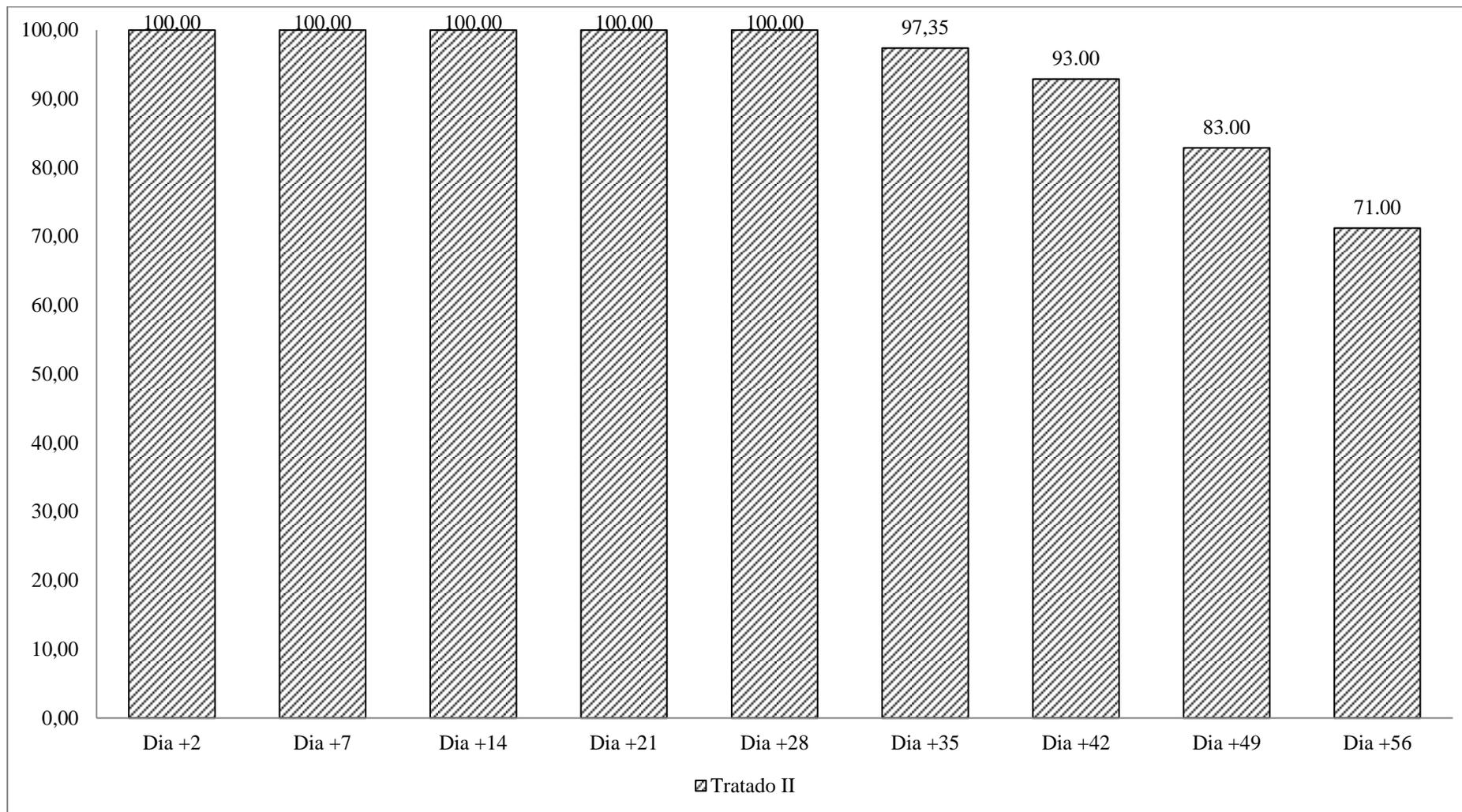


\* diferença significativa  $p \leq 0,05$  entre média do mesmo período

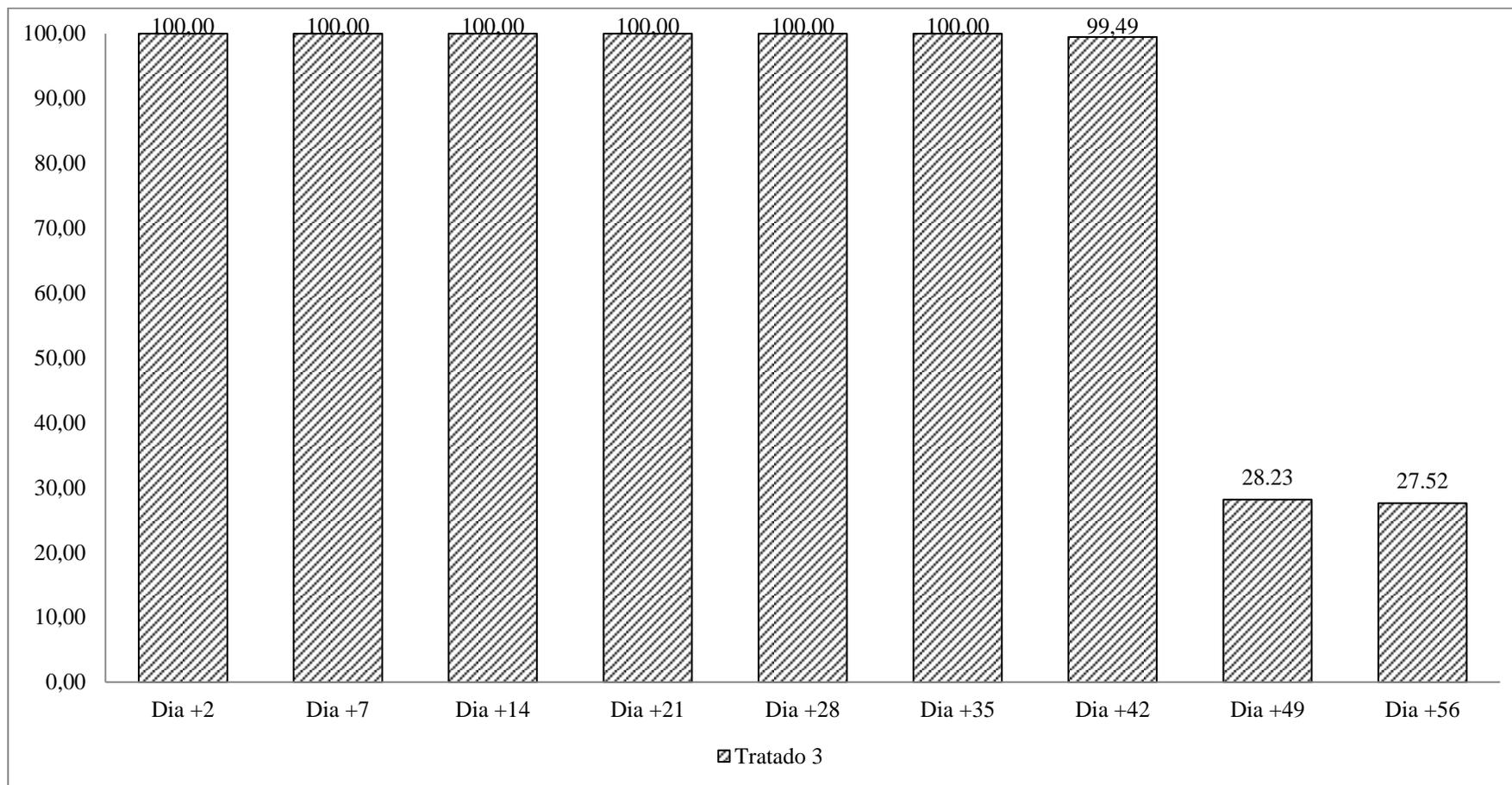
**Figura 8.** Número médio de pulgas recuperadas nos animais dos grupos tratado III.



**Figura 5.** Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado I.



**Figura 6.** Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado II.



**Figura 7.** Eficácia pulguicida dos animais do grupo tratado III.

## 5 DISCUSSÃO

Bresciani et al. (2004) realizaram um estudo em cães infestados naturalmente por *Ctenocephalides* e tratados com fipronil 10% e imidacloprid. O período residual do fipronil se mostrou superior, chegando a 42 dias de proteção, enquanto que os tratados com imidacloprid apresentaram novas infestações a partir de 28 a 35 dias pós-tratamento. No presente estudo, as eficácias foram superiores a encontrada pelos autores. O grupo tratado I apresentou eficácia de 100% do dia +2 até o dia +42. O grupo tratado II apresentou eficácia de 100% do dia +2 até o dia +28; 97% no dia +35 e de 93% no dia +42. O grupo tratado III apresentou eficácia de 100% do dia + 7 até o dia +35; e de 99,48% no dia +42. A superior eficácia observada deve-se ao fato de que em estudos com cães e gatos domiciliados, o ambiente não é controlado, comprovando a importância de uma estratégia integrada de controle, pois, adultos representam apenas 5% de uma população de pulgas (BITAM et al., 2010), enquanto que 95% das demais formas, encontram-se no ambiente (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Yao b e Franc a (2006) compararam a atividade da selamectina, do imidacloprid e do fipronil para o tratamento de gatos infestados experimentalmente com *C. felis felis*. Todos os tratamentos controlaram as infestações ao longo do estudo. Dois dias após o tratamento, a formulação contendo imidacloprid demonstrou eficácia de 100%. Entretanto, após o dia +9, a eficácia declinou, até o dia +37. Já a formulação contendo fipronil, obteve eficácia de 98% passados 2 dias de tratamento e, a partir do período, a formulação protegeu os gatos da reinfestação com eficácia de 100% até o término das 5 semanas de estudo, corroborando com o presente estudo onde, até o término da quinta semana de estudo, todos os grupos obtiveram eficácia superior a 97%.

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

Melo et al. (2012) avaliaram a eficácia do fipronil em três formulações orais, nas doses de 2 mg/kg, 4 mg/kg e 6 mg/kg de peso corporal, em cães infestados artificialmente com *C. felis felis*. O grupo tratado com 2 mg/kg apresentou eficácia de 100% para o dia +2 e de 83,79%, para o dia +7; o grupo tratado com 4 mg/kg apresentou eficácia de 88,34%, para o dia +2 e de 67,98%, para o dia +7. Ambos os grupos foram retirados do estudo por apresentarem eficácia inferior a 80%. O grupo que recebeu 6 mg/kg de fipronil por via oral

apresentou eficácias de 97,88, 95,27, 88,75 e 71,43% para os dias +2, +7, +14 e +21 respectivamente. O presente estudo apresentou resultados de eficácias superiores ao obtido por Melo et al. (2012), ratificando que os fenilpirazóis, quando administrados topicamente, no controle de *C. felis felis*, mostram-se superiores nos percentuais de eficácia do que quando administrado por via oral. O fipronil, quando administrado por via oral, apresenta pronta disponibilização e eliminação, diminuindo o período residual. Defra (1999) afirmou que o fipronil quando administrado por via oral em baixas concentrações possui uma meia vida mais longa, bem como um percentual elevado do produto fica armazenado nos tecidos dos animais, sendo liberado mais lentamente.

Estudo conduzido por Bonneau et al. (2010) comparou a eficácia do Effipro® “spot-on” e do Frontline® “topspot” em cães infestados artificialmente com 100 exemplares de *C. felis felis*, diferindo somente no tipo de veículo, no controle de pulgas. Effipro® obteve eficácia de 99,7% no dia +2, enquanto o Frontline® alcançou 100%. Mantendo-se eficácia superior a 95% por 93 dias para o Effipro® “spot-on” e de 79 dias para o Frontline® “topspot”. No presente trabalho, a eficácia do Effipro® “spot on” foi superior ao encontrado por Bonneau et al. (2010) para o dia +2, atingindo 100% de eficácia em todos os grupos analisados. Toda via, obteve resultados inferiores aos encontrados por Bonneau et al. (2010) quanto a avaliação do período residual do Effipro® “spot on”. O menor período residual encontrado pode estar relacionado ao fato de que os cães utilizados no estudo de Bonneau et al (2010) serem sem raça definida, uma vez que, cães sem padrão genético sólido como o dos Beagles podem apresentar maior resistência do hospedeiro a molécula de fipronil, além de maior resistência da cepa de *C. felis felis*. Outro fator que também pode ter contribuído é que o autor não menciona se realizou a separação das pulgas pelo sexo, visto que é importante recordar que os machos são menos resistentes, por isso a relevância de realizar as infestações com a devida separação sexual.

Tancredi (2009) avaliou a influência de banho único e realizado semanalmente com sabonete líquido glicerinado até 21 dias após o tratamento, na eficácia de formulação contendo fipronil 10% no controle de *C. felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães e os resultados demonstraram que não houve influência negativa do banho, seja ele único ou realizado semanalmente. Após o dia +28, as eficácias do grupo sem banho e com banhos semanais decaíram para 96,4% e 86,9%, prosseguindo em 100% no grupo com banho único. No presente estudo, os cães do grupo tratado I foram submetidos a banhos semanais com sabonete de glicerina líquido neutro e obtiveram eficácia de 100% do início do estudo até o

dia +42. Os animais do grupo tratado II foram banhados diariamente ao longo de 21 dias consecutivos prévios ao início do estudo com shampoo líquido a base de peróxido de benzoila 2,5% e obtiveram eficácia de 100% do dia +2 até o dia +28; 97% no dia +35 e 93% no dia +42. Já os animais do grupo tratado III que, também foram banhados diariamente ao longo de 21 dias consecutivos prévios ao início do estudo com shampoo líquido a base de peróxido de benzoila 2,5%, obtiveram 100% de eficácia do dia +2 até o dia +35 e 99,48% no dia +42. Portanto, o presente estudo apresentou resultados de eficácia e período residual superiores aos da autora, pois, o desafio só foi encerrado no dia +56, quando as eficácias dos grupos tratados I, II e III foram: 72,47%, 71% e 27,52%, respectivamente, ratificando que os banhos diários, semanais ou baseados em regimes que utilizam produtos ressecantes, não influenciam na eficácia pulguicida do fipronil 10%.

Coutinho et al. (2005) declarou que o fipronil sofre degradação lenta em água e sedimentos em condições anaeróbias, com tempo de meia vida variando entre 116 e 130 dias. Já Cunningham e Ryan (1999) disseram que ele é indicado para animais que precisam de banhos frequentemente, uma vez que, se mostra resistente à lavagem da pele e a utilização de xampu, e também não sofre alteração pela exposição à luz solar, fatos corroborados em função da eficácia e efeitos residuais encontrados no presente estudo, mesmo considerando os diferentes regimes de banhos empregados.

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

Hovda e Hooser (2002) referiram que o uso do fipronil provoca um baixo nível de toxicidade por via cutânea, oral ou inalação; podendo causar uma leve irritação nos olhos ou na pele. Nenhuma reação clínica adversa à molécula fora observado ao longo de todo o estudo, confirmando o dito pelos autores.

Taylor (2001) afirmou que o fipronil é altamente lipofílico e difunde-se pelas glândulas sebáceas dos folículos pilosos, atuando como um reservatório e proporcionando longa atividade residual. Distribuindo-se pelos tecidos, principalmente no tecido adiposo. Em

contrapartida, Scott, Miller e Cayatte (1994) recordam as propriedades queratolíticas do peróxido de benzoíla que, quando posto sobre a pele, penetra o estrato córneo e abre o folículo piloso, sendo metabolizado em ácido benzoico e a liberação do ácido benzoico é responsável pela lise da substância intercelular no estrato córneo da pele, explicando, assim, o efeito queratolítico. Portanto, apesar do efeito queratolítico e, no estudo, do marcado ressecamento dérmico provocado pelos banhos diários com o peróxido de benzoíla 2,5% observado clinicamente e, portanto, a hipotética remoção dos lipídeos epidérmicos em decorrência dos banhos, não houve influência negativa, quando comparado com outros estudos, na eficácia nem no efeito residual dos grupos tratados II e III, refletido pela eficácia de 100% no dia +2, respectivamente e 97% e 100% no dia +35 e 93% e 99,48% no dia +42, respectivamente.

O efeito adverso mais comumente observado do uso do peróxido de benzoíla é o excessivo ressecamento da pele. Fato que fora observado nos cães que foram submetidos aos banhos diários e ao longo de 21 dias anteriores ao início do estudo, demonstrando sinais clínicos de ressecamento cutâneo claramente identificável pela moderada a intensa escamação provocada nos animais. Scott, Miller e Cayatte (1994) ainda referem que, por esse motivo, deve ser evitado o uso do peróxido de benzoíla no tratamento de cães com afecções dérmicas que envolvam pele ressecada. Assim, sendo necessária a sua utilização, recomenda-se que o mesmo seja formulado com base em produtos que tenham veículos de ação emoliente, a fim de neutralizar o ressecamento.

Chatterjee e Hayward (1996) descreveram que uma desvantagem para o tratamento com produtos contendo peróxido de benzoíla, é o possível aparecimento de reações irritativas na pele. Acreditando-se que o grau de irritação esteja relacionado com a quantidade de peróxido de benzoíla presente no produto. O peróxido de benzoíla 2,5%, utilizado no presente estudo, não demonstrou-se irritativo para os animais do estudo, corroborando a afirmação de Scott, Miller e Cayatte (1994), cuja qual refere que geralmente a 2,5-3%, ele é bem tolerado, havendo reações em somente 2,5 a 5% de todos pacientes submetidos a tratamentos.

Segundo Miller, Griffin e Campbell (2013), os ácidos graxos são importantes para o controle da hidratação, da perda de água transepidérmica e para o controle da função de barreira epidérmica. Considerando a documentada propriedade lipofílica do fipronil, elocubrou-se, no estudo, que a reposição lipídica pudesse amenizar o ressecamento epidérmico provocado, prolongando a atividade residual da molécula. Fato que não ocorrera no estudo.

Popa et al (2011) analisaram os lipídeos epidérmicos em cães normais e atópicos, antes e depois da administração de suplemento oral de ácidos graxos essenciais contendo ômega-6 e ômega 3 e puderam observar que, passados 2 meses da suplementação, o conteúdo de lipídeos foi alterado significativamente em ambos os grupos. Aumentando consideravelmente os níveis de ceramidas intercelulares livres, os níveis de colesterol livre no estrato córneo e de ácidos graxos livres. Bensignor et al (2008) também avaliaram os benefícios de uma alimentação comercial rica em ácidos graxos essenciais em animais portadores de dermatite atópica, obtendo melhoras nos sinais clínicos da doença. Sugerindo, portanto, que a suplementação a partir de dieta rica em ácidos graxos essenciais pode aumentar a quantidade de lipídeos epidérmicos. Entretanto, no presente estudo, levando-se em consideração que os animais tão somente foram alimentados a partir de dieta comercial convencional, não se pode avaliar qualquer efeito da suplementação a partir de ácidos graxos essenciais no que se refere ao aumento de lipídeos epidérmicos e a consequente suposição do aumento da eficácia e período residual do fipronil, já que trata-se de uma molécula altamente lipofílica e que difunde-se pelas glândulas sebáceas dos folículos pilosos. (TAYLOR, 2001).

Fujimora et al. (2011) e Chamlin et al. (2002) avaliaram os benefícios clínicos da aplicação de formulação tópica de complexo lipídico dérmico composto por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres (ALLERDERM Spot-On – Virbac AS, Carros, france) no tratamento de cães com dermatite atópica crônica e que possuem, em decorrência da fisiopatogenia da doença, distúrbios epidérmicos. Os resultados do estudo sugeriram que a aplicação do complexo lipídico é benéfica quando utilizada no manejo terapêutico da dermatite atópica canina. No trabalho em questão, a aplicação de ALLERDERM Spot On – Virbac AS, Carros france não demonstrou amenizar o ressecamento epidérmico ocasionado pelos consecutivos banhos com peróxido de benzoíla 2,5%, não gerando qualquer influencia positiva na eficácia ou no período residual do fipronil, demonstrado pela eficácia do grupo tratado III, que fora submetido ao banhos indutores de ressecamento epidérmico e, posteriormente, a aplicações quinzenais com ALLERDERM Spot On, quando comparado aos demais grupos.

Os animais do grupo tratado III, submetidos às aplicações da formulação lipídica, ao contrário do que se cogitou, apresentaram resultados de eficácia e período residual, nos dois últimos dias do estudo (+49 e +56), inferiores aos demais grupos tratados, demonstrado, estatisticamente, pela não diferença significativa ( $p > 0,005$ ) na contagem de pulgas nos dois últimos dias do estudo quando comparado ao grupo controle. Enquanto que nos demais

grupos tratados, em todos os dias experimentais, houve diferença significativa ( $p < 0,005$ ) na contagem de pulgas quando comparado ao grupo controle.

A evidenciação por Piekutowska et al. (2008) na microscopia eletrônica que, em cães com dermatite atópica, a aplicação tópica de um complexo lipídico conduziu a melhorias na estrutura inter-corneócitos, na produção de lipídeos lamelares e no preenchimento dos espaços inter-corneócitos com lipídeos lamelares recém-formados, aventa a possibilidade da farmacocinética das formulações lipídicas terapêuticas venham a interferir na eficácia e manutenção do período residual do fipronil, uma vez que a molécula possui propriedades sabidamente lipofílicas e que difunde-se pelas glândulas sebáceas dos folículos pilosos. (TAYLOR, 2001).

## **6 CONCLUSÃO**

A formulação do shampoo contendo Peróxido de Benzoíla 2,5% gerou clinicamente um notório ressecamento epidérmico.

Não foi possível determinar que o ressecamento epidérmico provocado influenciou na eficácia parasiticida e na duração do efeito residual do fipronil 10%

O fipronil 10% não apresentou melhor eficácia pulguicida, nem efeito residual prolongado nos animais que foram submetidos à reposição lipídica com a adição de complexo lipídico

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARIKAWA, J.; ISHIBASHI, M.; KAWASHIMA, M.; TAKAGI, Y.; ICHIKAWA, Y.; IMOKAWA, G. Decreased levels of sphingosine, a natural antimicrobial agente, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatites to colonization by *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 119, n. 2, p. 433-439, 2002.
- BATISTA, O. S. C. L.; VIEIRA, C. P. V.; CORREIA, R. T.; SANTOS, F. C. E.; FAZIO JR, I. P.; FLORENCIO, N. C.; CARNEIRO, B. M.; SCOTT, B. F.; COUMENDOUROS, K. Eficácia *in vitro* de uma formulação aerossol de piriproxifen e ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 1, p. 41 - 45, 2012.
- BARNETT, S.; LUEMPFT, L.; SCHUELE, G.; QUEZADA, A.; STREHLAU, G.; DOHERTY, P. Efficacy of Pyriprole Topical Solution against the Cat Flea, *Ctenocephalides felis*, on Dogs. **Veterinary Therapeutics**, v. 9, n. 1, p. 04-14, 2008.
- BENSIGNOR, E.; MORGANT, D, M.; NUTTAL, T. Efficay of an essencial fatty acid-enriched diet in managing canine atopic dermatitis: a randomize, single-blinded croos-over study. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 3, p. 156-162, 2008.
- BITAM, I.; DITTMAR, K.; PAROLA, P.; WHITING, M. F.; RAOULT, D. Fleas and flea-borne diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p. 667–676, 2010.
- BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment and control of flea and tick infestations. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p. 1173-1200, 2009.
- BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASCARENHAS, A. G.; FACCINI, L. H. Mecanismo de infecção do fungo *Metarhizium anisopliae* no carrapato *Boophilus microplus* em condições experimentais. **Cienc. Rural**, v. 29, n. 02, p. 351-354, 1999.
- BONNEAU, S.; FOURIER, J. J.; ROUSSEAU, C.; CADIERGUES, M. C. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental flea infestations (*Ctenocephalides felis*) in dogs. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 16 - 20, 2010.
- BRESCIANI, K. D. S.; SANTOS, T. R.; MARTINELI, T. M.; VERONES, V. A.; PERRI, S. H. V. Eficácia do fipronil e do imidacloprid “top spot” contra pulgas (*Ctenocephalides*) em cães naturalmente infestados. **Ars Veterinária**, v. 20, n. 1. p. 100-106, 2004.
- CARLOTTI, D.N.; JACOBS, D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v.11, n. 2, p.83-98, 2000.
- CHAMLIN, S. L.; KAO, J.; FRIEDEN, I, J.; SHEU, M. Y.; FOWLER, A. J.; FLUHR, J. W.; WILLIAMS, M. L.; ELIAS, P. M. Ceramide-dominant barrier repair lipids alleviate chilhood atopic dermatites: changes in barrier function provide a sensitive indicator of disease activity. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 47, n. 2, p. 198-208, 2002.

CHANDLER, G. T.; CARY, T. L.; VOLZ, D. C.; WALSE, V. S. S.; FERRY, J. L.; KLOSTERHAUS, S. L. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus Tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 117-124, 2004.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47-54, 1993.

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

CORREIA, T. R. **Atividade do neonicotinóide dinotefuran sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1806) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 2007. 66 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2007.

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

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.

COX, C. Insecticide Factsheet - Fipronil. **Journal of Pesticide Reform**, v. 25, n 1, p. 10-15, 2005.

CRUTHERS, L., SLONE, R.L., GUERRERO, J., ROBERTSON-PLOUGH, C. Evaluation of the speed of kill of fleas and ticks with Frontline Top Spot in dogs. **Veterinary Therapeutics**, v. 2, n. 2, p. 170-174, 2001.

CUNNINGHAM, J. R.; RYAN, W. G. Comparação entre Fipronil (Top Spot) e Imidacloriprid (Spot On) no controle de infestações por pulgas quando aplicados logo após banho com xampu. **A HoraVeterinária**, v. 19, n. 109, p. 15-18, 1999.

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

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

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

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

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

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

DOBLER, G.; PFEFFER, M. Fleas as parasites of the family Canidae. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 139, p. 1-12, 2011.

FARES, H. M.; CHATTERJEE, S.; HAYWARD, M. In vitro permeation and irritation of benzoyl peroxide-containing products. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v. 133 n. 1, p. 215-222(8), 1996.

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

FUJIMURA, M.; NAKATSUJI, Y.; FUJIWARA, S.; REME, C.; GATTO, H. Spot-on skin lipid complex as an adjunct therapy in dogs with atopic dermatitis: an open pilot study. **Veterinary Medicine Internacional**, v. 2011, n. 1, p. 1-5, 2011.

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

HEATH, A.W.; ARFSTEN, A.; YAMANAKA, M.; DRYDEN, M.W.; DALE, B. Vaccination against the cat flea *Ctenocephalides felis felis*. **Parasite Immunology**, v. 16, n. 4, p. 187-191, 1994.

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

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

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

KWOCHKA, K. W.; KOWALSKI, J. J. Prophylactic efficacy of four antibacterial shampoos against *Staphylococcus intermedius* in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n.1, p. 115-118, 1991.

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

LINARDI, P. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 607-617, 2011.

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

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

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, v. 1, n. 262, p. 56-78, 1998

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

MILLER, H. W.; GRIFFIN, E. C.; CAMPBELL, L. K. **Muller & Kirk's Small Animal Dermatology**. 7ª ed. Elsevier. St. Louis, Missouri. 2013. 938 p.

MUELLER, R. S.; BERGVALL, K.; BENSIGNOR, E.; BOND, R. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 330-342, 2012.

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

PAYNE, P. A.; DRYDEN, W. W.; SMITH, V.; RIDLEY, R. K. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, n. 4, p. 331-340, 2001.

PIEKUTOWSKA, A.; PIN, D.; REME, C. A.; GATTO, H.; HAFTEK, M. Effects of a topically applied preparation of epidermal lipids on the stratum corneum barrier of atopic dogs. **Journal of Comparative Pathology**. v. 138, n. 4, p. 197-203, 2008.

POPA, I.; PIN, D.; REMOUE, N.; OSTA, B.; CALLEJON, S.; VIDEMOUNT, E.; GATTO, H.; PORTOUKALIAN, J.; HAFTEK, M. Analysis of epidermal lipids in normal and atopic dogs, before and after administration of an oral omega-6/omega-3 fatty acid feed supplement. A pilot study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 47, n. 2, p.198-208, 2011.

POPP, K. F.; TANGHETTI, E. A. A current review of topical benzoyl peroxide: new perspectives on formulation and utilization. **Dermatology Clinical**, v. 27, n. 1, p. 17-24, 2009.

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

REITER, L. V.; TORRES, S. M. F.; WERTZ, P. W. Characterization and quantification of ceramides in the nonlesional skin of canine patients with atopic dermatitis compared with controls. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 4, p. 260-266, 2009.

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

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

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

SCHUELE, G.; BARNETT, S.; BAPST, B.; CAVALIERO, T.; LUEMPFT, L.; STREHLAU, G.; YOUNG, D. R.; MORAN, C.; JUNQUERA, P. The effect of water and shampooing on the efficacy of a pyriprole 12.5% topical solution against brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) and cat flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 300-311, 2008.

SCHULZE, M. A.; STAHL, J.; BRODESSER, S.; ROHN, K.; NAIM, H.; TRAUTWEIN-HEWICKER, M.; KIETZMANN, M.; BAUMER, W.; MISCHKE, R. Comparison of three diferente sampling methods for canine skin lipids. **Veterinary Dermatology**, n. 24, n. 2, p. 233-243, 2013.

SCOTT, D. W. Clinical assessment of topical benzoyl peroxide in treatment of canine skin diseases. **Veterinary Medicine & Small Animal Clinician**, v. 74, n. 1, p. 808-811, 1979.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; CAYATTE, S. M. A clinical study on the effect of two commercial veterinary benzoyl peroxide shampoos in dogs. **Canine Practice**, v. 19, n. 2, p. 7-10, 1994.

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

SHANKS, D. J.; ROWAN, T. G.; JONES, R. L.; WATSON, P.; MURPHY, M. G.; SMITH, D. G.; JERNIGAN, A. D. Efficacy of selamectin in the treatment and prevention of flea (*Ctenocephalides felis felis*) infestations on dogs and cats housed in simulated home environments. **Veterinary Parasitology**, v. 91, n. 3-4, p. 213-222, 2000.

SHIMADA, K.; YOON, J. S.; YOSHIHARA, T.; IWASAKI, T.; NISHIFUJI, K. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 5-6, p. 541-546, 2009.

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

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

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary Parasitology**. 3ª ed. Iowa: Blackwell Publishing. 2007, 874p.

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

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

WALLER, J. M.; DREHER, F.; BEHNAM, S.; FORD, S.; LEE, C.; TIET, T.; WEINSTEIN, G. D.; MAIBACH, H. L. "Keratolytic properties of benzoyl peroxide and retinoic acid resemble salicylic acid in man. **Skin Pharmacol Physiol**, v. 19, n. 5, p. 283-289, 2006.

YAO, K. P.; FRANC, M. Comparison of the activity of selamectin, imidacloprid and fipronil for the treatment of cats infested experimentally with *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides felis strongylus*. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3-4, p. 397-407, 2006.

YOUNG, D. R.; JEANNIN, P. C.; BOECKH, A. Efficacy of fipronil/(s)-methoprene combination spot-on for dogs against shed eggs, emerging and existing adult cat fleas (*Ctenocephalides felis*, Bouché). **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3-4, p. 397-407, 2004.