

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

Diego Dias da Silva¹⁺, Monique Moraes Lambert¹, Cristiane Nunes Coelho da Rocha², Rosângela Rodrigues dos Santos³, Viviane de Souza Magalhães⁴, Thaís Ribeiro Correia⁵ Laerte Grisi⁶ e Fabio Barbour Scott⁷

ABSTRACT. Silva D.D., Lambert M.M., Rocha C.N.C., Santos R.R., Magalhães V.S., Correia T.R., Grisi L. & Scott F.B. [Volume influence of a fipronil *pour-on* formulation on the effectiveness against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs.] Influência do volume de uma formulação *pour-on* de fipronil na eficácia sobre *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(Supl.2):90-94, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Anexo 1, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: diegodiasmv@gmail.com

This study aimed to evaluate the immediate and residual efficacy of different volumes of a *pour-on* formulation of fipronil in control of *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs, keeping, however, the recommended dose of the active ingredient. For this purpose, 24 dogs were divided into four groups: control, which remained untreated and treated groups A, B and C, treated with *pour-on* solutions containing 10.7%, 5.3% and 1.8% fipronil, respectively. The volume of solution applied to the animals of groups A, B and C was respectively 1.34 ml, 2.68 ml and 5.36 ml, so that everyone received equivalent doses of the phenylpyrazole. Each dog was infested two days before treatment and weekly after the same 100 samples of non-fed adult *C. felis felis* and 50 non-fed adults of *R. sanguineus*, keeping for both, equal sex ratio. The evaluation of immediate efficacy occurred two days after treatment and residual efficacy assessments were performed weekly, always 48 hours after infestation. To this purpose, we proceeded to the removal and counting of fleas and ticks, by manual grooming and/or by “comb- test” method and the calculations of efficacy effected using the Abbott’s formula. The volume of 5.36 mL of fipronil solution applied in dogs offer protection against reinfestation by *R. sanguineus* superior to 90% for 28 days, higher than volumes of 1.34 ml and 2.68 ml, which were effective for a period of 21 days. Residual efficacy above 95% against *C. felis felis* was obtained up to 35 days for the three

*Recebido em 18 de outubro de 2013.

Aceito para publicação em 18 de novembro de 2013.

¹ Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Anexo 1, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: diegodiasmv@gmail.com; monique_lambert@hotmail.com - bolsistas CNPq.

² Zootecnista, MSc., PPGCV, IV, Anexo 1, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: cnunes@hotmail.com - bolsista CAPES.

³ Médica-veterinária, PPGCV, IV, Anexo 1, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: rosemvet@hotmail.com - bolsista CAPES.

⁴ Farmacêutica, MSc., Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: vsmagalhaes@gmail.com - bolsista CAPES.

⁵ Médica-veterinária, DSc., Programa Nacional de Pós-Doutorado, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PNPD/CAPES), PPGCV, IV, Anexo 1, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: thaisrca@gmail.com - bolsista PNPd/CAPES.

⁶ Médico-veterinário, PhD, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: lgrisi@ufrj.br

⁷ Médico-veterinário, PhD, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: scott.fabio@gmail.com - bolsistas CNPq.

tested volumes. Despite fleaicide efficacy less than 95% obtained in the 42^o day after the treatment by all tested volumes, the 2.68 mL and 5.36 mL volumes presented superior than 1.34 ml volume. It is concluded that the increased volume of topically solution of fipronil applied in dogs, maintaining the recommended dose of the active ingredient, increased its residual efficacy against *C. felis felis* and *R. sanguineus*.

KEY WORDS. Phenylpyrazole, treatment, flea, tick.

RESUMO. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia imediata e residual de diferentes volumes de uma formulação *pour-on* de fipronil no controle de *Ctenocephalides felis felis* e *Rhipicephalus sanguineus* em cães, mantendo-se no entanto, a dose preconizada do princípio ativo. Para isso, foram utilizados 24 cães divididos em quatro grupos: controle, o qual permaneceu sem tratamento, e os grupos tratados A, B e C, medicados com soluções *pour-on* contendo 10,7%, 5,3% e 1,8% de fipronil, respectivamente. O volume de solução aplicado sobre os cães dos grupos A, B e C foi respectivamente 1,34mL, 2,68mL e 5,36mL, de modo que todos recebessem doses equivalentes do fenilpirazol. Cada cão foi infestado dois dias antes do tratamento e semanalmente após o mesmo com 100 exemplares adultos não-alimentados de *C. felis felis* e 50 adultos não-alimentados de *R. sanguineus*, mantendo-se, para ambos, igual proporção entre os sexos. A avaliação de eficácia imediata ocorreu dois dias após o tratamento e as avaliações de eficácia residual foram realizadas semanalmente, sempre 48 horas após as infestações. Para tal, procedeu-se a retirada e contagem das pulgas e carrapatos, por catação manual e/ou método “*comb-test*” e os cálculos de eficácia efetuados pela da fórmula de Abbott. O volume de 5,36mL da solução de fipronil proporcionou aos cães proteção superior a 90% contra reinfestação por *R. sanguineus* por 28 dias, sendo superior aos volumes de 1,34mL e 2,68mL, os quais foram eficazes por um período de 21 dias. Eficácia residual acima de 95% contra *C. felis felis* foi obtida por até 35 dias pelos três volumes testados. Apesar das eficácias pulguicidas inferiores a 95% obtidas no quadragésimo segundo dia após o tratamento, os volumes de 2,68mL e 5,36mL apresentaram-se superiores ao volume de 1,34mL. Conclui-se, portanto, que o aumento do volume aplicado de solução *pour-on* de fipronil em cães, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo, elevou significativamente sua eficácia residual contra *C. felis felis* e *R. sanguineus*.

PALAVRAS-CHAVE. Fenilpirazol, tratamento, pulga, carrapato.

INTRODUÇÃO

Dentre os artrópodes que atuam como ectoparasitos do cão doméstico (*Canis familiaris*), destacam-se a pulga *Ctenocephalides felis felis* e o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. Além do incômodo e das reações alérgicas causados, estes ectoparasitos podem atuar como vetores biológicos, mecânicos e/ou hospedeiros intermediários de agentes patogênicos, transmitindo, através de sua picada, fezes ou ainda por sua ingestão, cestódeos, riquetsias, protozoários, bactérias e vírus, que causam doenças graves não somente em cães, mas também em humanos. Assumem, portanto, papel de grande relevância não somente no âmbito médico veterinário, mas também em saúde pública (Dryden & Payne 2004, Rust 2005, Dantas-Torres & Otranto 2014).

De modo geral, as estratégias para o tratamento e prevenção de infestações desses parasitos envolvem a utilização ocasional ou regular de drogas antiparasitárias, o que sublinha a necessidade de investigação na procura de novos compostos ou formulações melhoradas que forneçam um maior período de proteção contra reinfestações e redução do potencial de toxicidade para os animais domésticos e para o homem. Nas últimas décadas, foram desenvolvidos novos métodos para prolongar a liberação de agentes terapêuticos por maiores períodos de tempo, como por exemplo, as formulações *spot-on* (Rothen-Weinhold et al. 2000, Taylor 2001).

Quanto às drogas destinadas ao controle destes ectoparasitos, observa-se que grupamentos químicos tradicionais (e.g. organofosforados e carbamatos) foram superados por novos compostos, que incluem os neonicotinóides, oxadiazinas, spinosinas e os reguladores de crescimento de artrópodes. Estes novos grupos proporcionam não somente uma atividade inseticida/acaricida satisfatória, mas também apresentam menor toxicidade aos mamíferos, sendo por isso, considerados mais seguros. Dentre estes novos grupamentos, encontram-se os fenilpirazóis, uma classe inseticida/acaricida cuja molécula mais reconhecida e importante é o fipronil, disponibilizada comercialmente em pipetas para aplicação tó-

pica, contendo em sua maioria, 10% do princípio ativo. Quanto à eficácia, consideraram-se satisfatórios os produtos que oferecem proteção de pelo menos 95% e 90% para pulgas e carrapatos, respectivamente. (Hooser 2002, Tingle et al. 2003, Hovda & Beugnettaylor 2001, Emea 2007, Franc 2012).

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

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Brasil. Três soluções de fipronil foram manipuladas no setor de farmacometria do referido laboratório cujos teores determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para as soluções foram respectivamente 10,7%, 5,3% e 1,8% para as soluções A, B e C. Os ingredientes utilizados e respectivas concentrações encontram-se na Tabela 1.

Para fase experimental foram utilizados 24 cães, com peso corporal entre dez e 16 kg, alocados em baias individuais no canil do LQEPV. Sete dias antes do tratamento, os cães foram infestados com 25 casais de *R. sanguineus* e 48 horas

mais tarde procedeu-se a retirada e contagem dos carrapatos. Os animais foram divididos em quatro grupos, homogêneos em três parâmetros: sexo, peso e contagem preliminar de carrapatos. O grupo controle permaneceu sem tratamento, enquanto os cães dos grupos tratados A, B e C receberam soluções *pour-on* contendo 10,7%, 5,3% e 1,8% de fipronil, respectivamente, aplicadas diretamente sobre o dorso, no espaço interescapular. O volume de solução aplicado sobre cada cão dos grupos A, B e C foi respectivamente 1,34mL, 2,68mL e 5,36mL, de modo que todos recebessem doses equivalentes do princípio ativo.

Cada cão foi infestado dois dias antes e semanalmente após o tratamento com 100 exemplares adultos de *C. f. felis* e 50 adultos de *R. sanguineus*, mantendo-se, para ambos, igual proporção entre os sexos. A avaliação de eficácia imediata ocorreu dois após o tratamento e as avaliações de eficácia residual foram realizadas semanalmente, sempre 48 horas após as infestações. Para tal, procedeu-se a retirada e contagem das pulgas vivas e carrapatos vivos e fixados, por catação manual e/ou pelo método “comb-test” e posterior fixação em álcool 70° GL.

Para determinar a eficácia das soluções utilizadas em suas respectivas concentrações foi empregada a seguinte fórmula: Eficácia = [(número médio de pulgas ou carrapatos vivos no grupo controle - número médio de pulgas ou carrapatos vivos no grupo tratado) / número médio de pulgas ou carrapatos vivos no grupo controle] x 100 (ABBOTT, 1925). A utilização de animais neste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), UFRRJ.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias das contagens de pulgas e carrapatos recuperados em cada avaliação, assim como desvio padrão e a eficácia estão contidos nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Uma eficácia acima de 95% contra *C. f. felis* foi obtida por até 35 dias pelos três volumes testados em cães. Apesar das eficácias pulicidas inferiores a 95% no 42° dia pós-tratamento, obtidas pelos três volumes testados em cães, os volumes de 2,68mL e 5,36mL apresentaram eficácia superior ao volume de 1,34mL.

Tabela 1. Ingredientes e respectivas proporções das soluções empregadas no teste.

Ingrediente	Soluções-teste		
	A	B	C
Fipronil	10,7%	5,3%	1,8%
Polivinilpirrolidona	5%	5%	5%
Polissorbato 80	5%	5%	5%
Butilhidroxitolueno	0,00875%	0,00875%	0,00875%
Álcool Isopropílico	q.s.p. ^a 100%	q.s.p. 100%	q.s.p. 100%

^aQuantidade suficiente para.

Tabela 2. Médias de pulgas recuperadas, desvio padrão e eficácia comparativa das soluções *pour-on* de fipronil aplicadas em diferentes volumes, no controle de adultos de *Ctenocephalides felis felis* em cães.

Dia	Controle		Grupos tratados					
	Média±DP*		A (1,34mL)		B (2,68mL)		C (5,36mL)	
	Média	DP	Média	Eficácia (%)	Média	Eficácia (%)	Média	Eficácia (%)
+2	53,8 ^a ±9,3		0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100
+7	65,5 ^a ±12,2		0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100
+14	68,7 ^a ±11,1		0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100
+21	67,3 ^a ±7,4		0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100
+28	65,3 ^a ±7,5		0 ^b ±0	100	0,3 ^b ±0,7	99,49	0 ^b ±0	100
+35	62,2 ^a ±7,5		0,8 ^b ±1,3	98,66	2,3 ^b ±3,4	96,25	0 ^b ±0	100
+42	60,8 ^a ±13,7		9,0 ^b ±3,7	85,21	4,3 ^{bc} ±3,4	92,88	3,3 ^c ±1,6	94,52

*Desvio padrão. ^{abc} Letras iguais entre médias da mesma linha não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 3. Médias de carrapatos recuperados, desvio padrão e eficácia comparativa das soluções *pour-on* de fipronil aplicadas em diferentes volumes, no controle de adultos de *Rhipicephalus sanguineus* em cães.

Dia	Controle		Grupos Tratados					
	Média±DP*	A (1,34mL)		B (2,68mL)		C (5,36mL)		
		Média±DP	Eficácia (%)	Média±DP	Eficácia (%)	Média±DP	Eficácia (%)	
+2	38,3 ^a ±4,5	0 ^b ±0	100	0 ^b ±0	100	10,8 ^c ±5,3	71,74	
+7	37,3 ^a ±3,1	0 ^b ±0	100	0,8 ^b ±1,1	97,78	1,2 ^b ±1,5	96,87	
+14	33,2 ^a ±3,3	0 ^b ±0	100	1,7 ^c ±1,2	94,97	1,3 ^c ±0,7	95,98	
+21	31,2 ^a ±5,6	0,7 ^{bc} ±0,7	97,86	1,7 ^b ±1,2	94,65	0 ^c ±0	100	
+28	31,3 ^a ±2,6	3,7 ^b ±2,0	88,30	3,2 ^{bc} ±2,7	89,89	0,7 ^c ±0,5	97,87	
+35	34,7 ^a ±4,8	13,3 ^{ab} ±8,9	61,54	12,0 ^b ±7,8	65,38	5,5 ^b ±5,0	84,13	
+42	31,0 ^a ±2,6	19,7 ^a ±5,5	36,56	20,5 ^a ±6,2	33,87	11,3 ^a ±5,7	63,44	

* Desvio padrão. ^{abc} Letras iguais entre médias da mesma linha não diferem significativamente entre si (p>0,05).

O protocolo recomendado para o controle de pulgas em cães com fipronil instituiu a necessidade de tratamentos mensais para a obtenção de melhores resultados (Dryden et al. 2000). Os resultados indicam que o intervalo de tratamento poderia ser aumentado utilizando-se formulações menos concentradas, porém, com o mesmo conteúdo de princípio ativo, estando os cães protegidos contra reinfestações por pulgas mesmo com atrasos no tratamento mensal preconizado.

Existem na literatura, diversos estudos cujo objetivo foi a avaliação da eficácia de produtos a base de fipronil, porém, todos utilizando produtos comerciais com fipronil na concentração de 10%.

Bonneau et al. (2010) compararam a eficácia contra *C. f. felis* de dois produtos comerciais (Effipro[®] e Frontline[®]), ambos na forma *spot-on* contendo 10% de fipronil em suas formulações, diferindo entre si apenas pelo veículo empregado. O Effipro[®] manteve níveis satisfatórios (>95%) de eficácia residual por 93 dias, enquanto a do Frontline[®] perdurou por 79 dias. Apesar do maior período de eficácia obtido pelos autores, ressalta-se que assim como neste estudo, observou-se que alterações na formulação de produtos ectoparasiticidas tópicos podem alterar significativamente sua eficácia.

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

A eficácia carrapaticida imediata da solução de fipronil empregada em volume de 5,36mL foi de

apenas 71,74%, enquanto sua eficácia residual foi superior a 90% por até 28 dias. Vinte e um dias de proteção contra reinfestações de *R. sanguineus* foram alcançadas pelos volumes de 1,34mL e 2,68mL de solução de fipronil. Mesmo não atingindo níveis satisfatórios de proteção contra *R. sanguineus* aos cães, a solução *pour-on* de fipronil aplicada em maior volume apresentou eficácia superior às demais no 35° e 42° dias pós-tratamento.

Kužner et al. (2013), ao avaliarem formulações comerciais de fipronil obtiveram eficácia residual satisfatória (>95%) para pulgas (*C. f. felis*) por até oito semanas. Contra *R. sanguineus*, no entanto, eficácia acima de 90% foi alcançada por cerca de 30 dias.

Tiawsirisup et al. (2013) obtiveram ER acima de 90% por até 28 dias contra *R. sanguineus*, utilizando o fipronil à 10% aplicado topicamente (*spot-on*) em cães. Todavia, os níveis de eficácia residual por eles obtidos nas últimas semanas de avaliação foram menores quando comparados àqueles alcançados neste estudo, utilizando-se doses equivalentes de fipronil em maior diluição.

Não foram encontrados na literatura pesquisada estudos semelhantes ao realizado neste trabalho, onde se compara a eficácia de diferentes volumes de soluções *pour-on* de ectoparasiticidas, mantendo-se a dose preconizada do princípio ativo. Contudo, Endris et al. (2002) avaliaram a eficácia carrapaticida e pulicida de diferentes doses de permetrina a 65% em cães com mais de 30 Kg. Na ocasião os autores observaram que quando os cães receberam as maiores doses, o período de eficácia contra pulgas e carrapatos apresentava-se significativamente maior. Cabe ressaltar, no entanto, que, ao contrário deste estudo, houve aumento da dose preconizada, bem como a utilização de princípio ativo com efeito repelente.

CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18:265-267, 1925.
- Beugnet F. & Franc M. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. *Trends Parasitol.*, 28:267-279, 2012.
- 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. *Int. J. Appl. Res. Med. Vet.*, 8:16-20, 2010.
- Dantas-Torres F. & Otranto D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. *Parasit. Vect.*, 7:22, 2014.
- 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. *Vet. Parasitol.*, 93:69-75, 2000.
- Dryden M.W. & Payne P.A. Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. *Vet. Ther.*, 5:139-154, 2004.
- EMA. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CMPV). Guideline for the testing and evaluation of the efficacy of antiparasitic substances for the treatment and prevention of tick and flea infestation in dogs and cats. 2007, 16p.
- Endris R.G., Hair J.A., Katz T.L., Zobre E., Pennington R.G. & Meyer J.A. Efficacy of three dose volumes of topically applied 65% permethrin against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* on dogs weighing 30 kg or more. *Vet. Ther.*, 3:435-440, 2002.
- Hovda L.R. & Hooser S.B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 32:455-467, 2002.
- Kužner J., Turk S., Grace S., Soni-Gupta J., Fourie J.J., Marchiondo A.A. & Rugg D. Confirmation of the efficacy of a novel fipronil *spot-on* for the treatment and control of fleas, ticks and chewing lice on dogs. *Vet. Parasitol.*, 193:245-251, 2013.
- Rothen-Weinhold A., Dahn M. & Gurny R. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. *PSTT*, 3:222-231, 2000.
- Rust M.K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. *Trends Parasitol.*, 21:232-236, 2005.
- Taylor M.A. Recent Developments in Ectoparasiticides. *Vet. J.*, 16:253-268, 2001.
- Tiawsirisup S., Thiansirikhun K., Thanadumkerng K., Pastarapatee N., Trirattananuwong N. & Rattanatarom W. Antiparasitic efficacy of 10% w/v fipronil *spot-on* (Fiprolin *Spot-on*) against experimental tick (*Rhipicephalus sanguineus*) infestations on dogs. *Thai J. Vet. Med.*, 43:279-284, 2013.
- Tingle C.C.D., Rother J.A., Dewhurst C.F., Lauer S. & King W.J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 176:1-66, 2003.