

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

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista¹⁺, Vanessa Paulino da Cruz Vieira²,
Thaís Ribeiro Correia³, Elizabeth Cristina Ferreira dos Santos⁴, Pedro Ivan Fazio
Junior⁵, Cássio do Nascimento Florencio⁴, Milena Batista Carneiro⁵,
Fabio Barbour Scott⁶ e Katherina Coumendouros⁶

ABSTRACT. Batista L.C. de S.O., Vieira V.P da C., Correia T.R., dos Santos E.C.F., Fazio Junior P.I., Florencio C. do N., Carneiro M.B., Scott F.B. & Coumendouros K. [*In vitro* efficacy of Pyriproxyfen and Cyfluthrin formulation in the *Ctenocephalides felis felis* control (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)]. 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*, 34(Supl. 1):41-45, 2012. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica, Ecologia, BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: liliancsobatista@hotmail.com

The objective of the present study was to evaluate through *in vitro* test, the efficacy and residual period of protection of the association of an insect growth regulator, pyriproxyfen, and a pyrethroid cyfluthrin in the interruption of development of both egg-adult and larvae-adult *Ctenocephalides felis felis*. A white carpet was impregnated with a formulation in an aerosol presentation at a concentration of 0.04% of cyfluthrin and 0.05% of pyriproxyfen (Fleegard® Bayer), and after drying, retained at a natural conditions environment. For each day of weekly challenge after the treatment (day 0) six strips of impregnated carpet and six control strips, without treatment were used. The challenges took place until day 182. Each strip was placed in a test tube with 10 eggs of *C. felis felis* and a required diet for the larval development. The tubes were kept in an incubator at a temperature of $28 \pm 1^\circ\text{C}$ and relative humidity of $75 \pm 10\%$. At the 25th day after the incubation, the material of each challenge was fixed with alcohol 70 °GL. Then, the quantification of adults emerged from puparium was performed with the aid of a stereoscopic microscope. The same methodology was applied for the test with the larvae. The average efficacy of egg-adult interruption of development over 182 days of

*Recebido em 5 de novembro de 2012.

Aceito para publicação em 21 de dezembro de 2012.

¹Médica-veterinária, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Seropédica, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: liliancsobatista@hotmail.com

²Médica-veterinária, *D.CsVs*. Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, *Campus* Salinas, Rodovia MG 404, Km 2, Salinas, MG 39560-000, Brasil. E-mail: vanessa.vieira@ifnmg.edu.br

³Médica-veterinária. *D.CsVs*. Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: thaisrca@gmail.com

⁴Médica-veterinária, CPGCV, IV, UFRRJ. Campus Seropédica, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: ecfs2@yahoo.com.br; cassioflorencio@hotmail.com

⁵Médico-veterinário. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: ivanfazio@msn.com; milenabatistacarneiro@gmail.com

⁶Médico-veterinário, *PhD*. DPA, IV, UFRRJ. Campus Seropédica, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: scott.fabio@gmail.com; katherinac@gmail.com

challenge was 98.78%, with minimum variation 89.47% and maximum 100%, and the larvae-adult was 96.16%, with minimum variation 82.14% and maximum 100%. It can be concluded that the association of cyfluthrin and pyriproxyfen was effective on the control of immature stages of *C. felis felis* for up to 26 weeks.

KEY WORDS. Control, flea, insect growth regulator, pyrethroid.

RESUMO. O objetivo do presente trabalho foi avaliar através de teste *in vitro*, a eficácia e o período residual de proteção da associação de um regulador do crescimento de insetos, piriproxifen, e um piretróide ciflutrina na interrupção do desenvolvimento ovo-adulto e larva-adulto de *Ctenocephalides felis felis*. Um carpete branco foi impregnado com uma formulação na apresentação de aerossol, em uma concentração de 0,04% de ciflutrina e de 0,05% de piriproxifen (Fleegard® BAYER) e após a secagem, mantido no ambiente em condições naturais. Para cada dia de desafio semanal, após o dia 0, foram utilizadas seis tiras de carpete impregnadas com a formulação e seis tiras controle, sem tratamento. Os desafios permaneceram até o dia 182. Cada tira foi colocada em tubo de ensaio com 10 ovos de *C. felis felis* e uma dieta necessária para o desenvolvimento larval. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\pm 10\%$ e no 25º dia após a incubação, o material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL e realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário, com auxílio de microscópio estereoscópico. A mesma metodologia foi empregada para o teste com larvas. A eficácia média da interrupção do desenvolvimento ovo-adulto ao longo de 182 dias de desafio foi de 98,78%, com variação mínima de 89,47% e máxima de 100%, e para a larva-adulto foi de 96,16%, com variação mínima de 82,14% e máxima de 100%. Pôde-se concluir que a associação de ciflutrina e piriproxifen foi eficaz no controle ambiental de formas imaturas de *C. felis felis* por um período de 26 semanas.

PALAVRAS-CHAVE. Controle, pulga, regulador de crescimento de insetos, piretróide.

INTRODUÇÃO

Conhecida vulgarmente como pulga do gato, *C. felis felis* parasita também os cães sendo a única subespécie encontrada no Continente Americano. Além do desconforto, as pulgas representam uma ameaça à saúde animal e humano, devido às reações causadas por suas picadas, cujos sintomas incluem eritema, edema, prurido intenso e doloroso; ainda sintomas graves de hipersensibilidade ou dermati-

te alérgica em humanos e animais (Mehlhorn et al. 1999). As pulgas, independente de sua espécie, são insetos com metamorfose completa possuindo em seu ciclo biológico as fases de ovo, larva, pupa e adulto (Dryden 1993), estando apenas 5% da população de pulgas sobre o hospedeiro, enquanto que 95% encontram-se no ambiente (Linardi & Guimarães 2000).

As formas imaturas presentes no ambiente servem como fonte de reinfestações para os animais, garantindo a continuidade do ciclo. As larvas podem ser encontradas em frestas cobertas, entrelaçadas no tecido de carpetes e estofados, embaixo de mobílias e dentro de fendas e rachaduras (Carlotti & Jacobs 2000).

Para um controle eficiente torna-se necessária 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 (Brandão 2004).

Os reguladores de crescimento de insetos, conhecidos como RCI ou IGR (Insect Growth Regulator), não matam o parasito diretamente, atuam no crescimento e desenvolvimento de seus estágios imaturos (Graf 1993). A atividade dos RCIs varia de acordo com o seu tipo, sendo inibidores da síntese de quitina, inibidores da deposição de quitina e análogos do hormônio juvenil (Graf 1993, Rust & Dryden 1997).

O piriproxifen é um RCI do grupamento dos análogos do hormônio juvenil dos insetos com comprovada eficácia na interrupção do desenvolvimento embrionário da pulga *C. felis felis*, quando empregado no cão, no gato e no ambiente (Rust 2005). Uma vez que a larva está totalmente desenvolvida, enzimas dentro do sistema circulatório dos insetos destroem hormônios juvenis endógenos, ocorrendo o final do desenvolvimento para o estágio adulto. Os análogos do hormônio juvenil se ligam aos sítios receptores do hormônio juvenil, mas, por sua estrutura diferente, não destroem as esterases dos insetos. Como consequência, a metamorfose e o desenvolvimento adicional até o estágio adulto não ocorre (Dhadialla & Carlson 1998).

Os piretróides são considerados venenos axônicos, atuando principalmente nos canais de sódio das células nervosas do sistema nervoso central e periférico dos insetos (Bloomquist 2009). São apresentados em formulações isoladas ou em associações com outros agentes e estas associações têm por finalidade aumentar o espectro de ação. Possuem propriedades lipofílicas que facilitam a penetração nos artrópodes através da cutícula rica em lipídeos (Andrade 2002).

Como todos os piretróides, a ciflutrina é uma neurotoxina. Ela causa hiperexcitação do sistema nervoso, levando a convulsões e posterior morte do inseto (Corbett 1984).

Os tratamentos para infestações por *C. felis felis* no ambiente externo, combinam tipicamente o uso de RCI's e inseticidas neurotóxicos, sendo os RCI's a chave na erradicação das populações de pulgas do ambiente. Eles apresentam eficácia sobre ovos e larvas de pulgas em baixas concentrações e persistem por longos períodos (Miller et al. 2000).

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

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois testes *in vitro* para a avaliação do produto testado. Ambos testes analisaram a eficácia do produto no controle das formas imaturas de *C. felis felis*. Um considerou a eficácia na interrupção do desenvolvimento do ciclo ovo-adulto e o outro a interrupção do ciclo larva-adulto. A formulação na apresentação de aerossol foi empregada em uma concentração de 0,04% do piretróide sintético ciflutrina e de 0,05% do regulador de crescimento de insetos piriproxifen (Fleegard® BAYER). A mesma foi aplicada, no dia 0, por 20 segundos sobre dois metros quadrados de carpete a uma distância de 50 centímetros.

Após a secagem do produto foram cortadas tiras de um centímetro de largura por 10 cm de comprimento (10cm²) e mantidas no ambiente em condições naturais. Os testes foram realizados 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). Ovos e larvas de *C. felis felis* utilizados foram obtidos de uma colônia mantida desde 1998, nas mesmas dependências onde foram realizados os desafios. A partir do dia 0 e a cada sete dias, foram utilizadas seis tiras de carpete impregnadas com o produto e seis tiras controle, sem tratamento. Os desafios foram realizados até o dia 182. Cada tira foi colocada em tubo de ensaio com 10 ovos para o teste de ovo a adulto e com 10 larvas para o teste de larva a adulto. Junto aos ovos e larvas foi adicionado meio grama de uma dieta necessária para o desenvolvimento larval. Os tubos foram vedados com tecido não tecido e elástico e mantidos em câmara climatizada com temperatura de 28±1°C e umidade relativa de 75±10%. O material de cada desafio foi fixado com álcool 70°GL no 25° dia após a incubação e foi realizada a quantificação de adultos emergidos do pupário com auxílio de microscópio estereoscópico.

A avaliação da eficácia da interrupção do ciclo ovo-adulto e larva-adulto *in vitro* do produto para *C. felis felis* foi realizada com a seguinte fórmula desenvolvida por Abbott: (número médio de pulgas adultas oriundas dos tubos controles - número médio de pulgas adultas oriundas dos tubos tratados) / (número médio de pulgas adultas oriundas dos tubos controles) x 100.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficácia média da interrupção do desenvolvimento ovo-adulto ao longo de 182 dias de desafio foi de 98,98%, com variação mínima de 89,47% e máxima de 100%, e para larva-adulto foi de 96,16%, com variação mínima de 82,14% e máxima de 100%. As análises estatísticas foram realizadas pelos programas estatísticos computacionais BioEstat 4.0 (Ayres et al. 2005). Foi utilizado um teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e após a verificação dos dados foi escolhido o teste T paramétrico para identificar diferenças específicas entre os tratamentos, com nível de significância de 5% (p-valor≤0,05). Os resultados estão contidos na Tabela 1.

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

Tabela 1. Eficácia de uma formulação aerossol contendo ciflutrina a 0,04% associado ao piriproxifen a 0,05% no controle ambiental de formas imaturas de *Ctenocephalides felis felis*.

Dias experimentais	Número médio de adultos emergidos				Eficácia (%)	
	Controle		Tratado		Ovo	Larva
	Ovo	Larva	Ovo	Larva		
0	9,5 ^a	5,33 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
1	8,33 ^a	5,5 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
7	4,67 ^a	8 ^a	0 ^b	0,17 ^b	100	95,83
14	5,17 ^a	7,33 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
21	6,5 ^a	7,5 ^a	0 ^b	0,17 ^b	100	97,78
28	6,67 ^a	7,83 ^a	0,33 ^b	0 ^b	95,05	100
35	7,17 ^a	6 ^a	0,33 ^b	0 ^b	95,4	100
42	7,5 ^a	8,83 ^a	0 ^b	0,17 ^b	100	98,11
49	7,83 ^a	9,17 ^a	0 ^b	1,17 ^b	100	87,27
56	7,33 ^a	8,17 ^a	0 ^b	0,5 ^b	100	93,88
63	6 ^a	8,17 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
70	5,83 ^a	9,33 ^a	0 ^b	1,33 ^b	100	85,71
77	6 ^a	9,5 ^a	0 ^b	1,17 ^b	100	87,72
84	5,17 ^a	8,83 ^a	0 ^b	0,83 ^b	100	90,57
91	5,5 ^a	8 ^a	0,17 ^b	0 ^b	96,91	100
98	7 ^a	9,17 ^a	0 ^b	0,17 ^b	100	98,18
105	7,17 ^a	8,5 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
112	7,67 ^a	8,33 ^a	0 ^b	0,33 ^b	100	96
119	7 ^a	8,83 ^a	0 ^b	1,33 ^b	100	84,91
126	6 ^a	9,33 ^a	0 ^b	1,67 ^b	100	82,14
133	6,33 ^a	8,67 ^a	1 ^b	0,17 ^b	84,2	98,08
140	6,17 ^a	8,33 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
147	5,83 ^a	8,5 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
154	5,83 ^a	8,83 ^a	0 ^b	0,33 ^b	100	96,23
161	6,83 ^a	8,83 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
168	7 ^a	8,67 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
175	7 ^a	9,17 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
182	7,33 ^a	8,83 ^a	0 ^b	0 ^b	100	100
Média	6,65	8,27	0,07	0,34	98,98	96,16

O mesmo produto foi utilizado por Melo et al. (2010) em teste de interrupção do ciclo ovo-adulto, onde proporcionou variações mínima de 45,45% no dia 60 e máxima de 100% no dia 0, resultado este inferior ao obtido no presente estudo.

Palma & Meola (1990) utilizaram o piriproxifen a 10%, na concentração de 32mg/m², obtendo uma eficácia de 80 % por um período de três semanas. Kawada & Hirano (1996), em estudo realizado para avaliar a eficácia de uma solução emulsionável de piriproxifen a 5 % aplicada em carpetes nas concentrações de 0,2 e 1 mg/m², utilizaram larvas de segundo estágio de *C. felis felis* e obtiveram o controle das larvas por mais de 12 meses, com eficácia média de 80%.

Os pulicídeos adultos constituem apenas 5% da população em parasitismo, ficando os 95% restantes no ambiente, distribuídos entre as outras fases de vida (Genchi 1992). Por conta disso, torna-se necessário o controle mecânico através da remoção manual dos parasitas e penteação frequente, varrição do ambiente, entre outros, bem como a utilização de compostos químicos que atuem sobre as formas adultas presentes no animal e sobre as formas imaturas presentes no ambiente.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a associação de ciflutrina 0,04% e piriproxifen 0,05% *in vitro* foi eficaz na interrupção do desenvolvimento tanto de ovo quanto de larva até a fase adulta da pulga por um período de 26 semanas. Essa atividade do produto sobre as formas evolutivas das pulgas permite uma diminuição da população no ambiente e conseqüentemente uma menor reinfestação dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade S.F. *Manual de Terapêutica Veterinária*. 2ª edição, Roca, São Paulo. 2002. 720p.
- Ayres M., Ayres M.J., Ayres D. L. & Santos S.A. *BioEstat 4.0 - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. 4ª ed. Sociedade Civil Mamiraua/Imprensa Oficial do Estado do Para, Belém, 2005. 324p.
- Bloomquist J.R. *Insecticides: Chemistries and Characteristics*. 2009. Disponível em: < <http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm>>. Acesso em: 13 Mar 2010.
- Brandão L.P. Pulicidas empregados na medicina de pequenos animais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:107, 2004.
- Carlotti D. N. & Jacobs D. E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Vet. Dermatol.*, 11:83-98, 2000.
- Corbett J.R., Wright K. & Baillie A.C. The biomedical mode of action of pesticides. 2ª ed., Academic Press, London, 1984. 33 p
- Correia T.R., Melo R.M.P.S., Fernandes J.I., Freitas I.F., Vieira V.P.C., Ribeiro F.A., 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). *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32(Supl. 1):17-20, 2010.
- Dhadialla T.S. & Carlson G.R. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.*, 43:545-569, 1998.
- Dryden M.W. Biology of fleas of dogs and cats. *Comp. Cont. Educ.: Pract. Vet.*, 15:569-579, 1993.
- Genchi C. Arthropods as zoonoses and their implications. *Vet. Parasitol.*, 44:21-33, 1992.
- Graf J.F. The role of Insect Growth Regulators in Arthropod Control. *Parasitol. Today*, 9:471-474, 1993.
- Kawada H. & Hirano M. Insecticidal effects of the insect growth regulators methoprene and pyriproxifen on the cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.*, 33:819-822, 1996.
- Linardi P.M. & Guimarães L.R. *Sifonápteros do Brasil*. Editora MZUSP/FAPESP, São Paulo, 2000, 291p.
- Mehlhorn H., Mencke N. & Hansen O. Effects of imidacloprid on adult and larval stages of the flea *Ctenocephalides felis* after in vivo and in vitro application: a light- and electron-microscopy study. *Parasitol. Res.*, 85:625-637, 1999.
- Melo R.M.P., Correia T.R., Fernandes J.I. & Scott F.B. Avaliação *in vitro* de uma formulação contendo o piretróide ciflutrina e o IGR piriproxifen no controle de *Ctenocephalides*

- felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32(Supl. 1):35-39, 2010.
- Miller R.J., Dryden M.W., Broce A.B. & Suiter D.R. Pupa-
tion Site Selection of Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae)
in Various Carpet Types and Its Influence on Insecticide
Efficacy. *J. Econ. Entomol.*, 93:1391-1397, 2000.
- Palma K.G. & Meola R.W. Field evaluation of Nylar for con-
trol of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in home yards. *J.
Med. Entomol.*, 27:1045-1049, 1990.
- Rust M.K. & Dryden M.W. The biology, ecology and manage-
ment of the cat flea. *Ann. Rev. Entomol.*, 42:451-473, 1997.
- Rust M.K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis*
(cat flea) on cats and dogs. *Trends Parasitol.*, 21:232-236,
2005.