

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE UMA FORMULAÇÃO CONTENDO O PIRETRÓIDE CIFLUTRINA E O IGR PIRIPROXIFEN NO CONTROLE DE *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE)*

IN VITRO EVALUATION OF A FORMULATION WITH THE PYRETHROID CYFLUTHRIN AND THE IGR PYRIPROXYFEN ON THE CONTROL OF *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE)

Raquel Moreira Pires dos Santos Melo¹, Thaís Ribeiro Correia², Julio Israel Fernandes³ e Fabio Barbour Scott⁴

ABSTRACT. Melo R.M.P.S., Correia T.R., Fernandes J.I. & Scott F.B. [*In vitro* evaluation of a formulation with the pyrethroid cyfluthrin and the IGR pyriproxyfen on the control of *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)]. Avaliação *in vitro* de uma formulação contendo o piretróide ciflutrina e o IGR piriproxifen no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)]. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(Supl. 1):35-39, 2010. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: raquel@ufrj.br

The aim of this study was to evaluate the efficacy *in vitro* of the insecticide cyfluthrin associated with pyriproxyfen in environmental control of adult and immature *Ctenocephalides felis felis*. Strips of carpet treaty remained in the environment throughout the experiment to simulate the effect of the residue under natural conditions. For each day of the challenge test were used three replicates per group for a period of ninety days. In the adulticide test were used 10 fleas per tube that were exposed for 48 hours. On day 0 the efficiency was 27.14%, which decreased to 11.43 on day +5 and day +10 to day +80 was zero. In assessing the effectiveness ovicidal 10 eggswere placed per tubo containing the carpet and impregnated alimentar diet and after 25 days the material was fixed in alcohol 70 ° GL and evaluated at the stereoscopic microscope, the number of fleas emerged, efficacy was 100% effective in inhibiting the development of *C. f. felis* on the treatment of carpet, after the results were satisfactory to the day + 20.

KEY WORDS. *Ctenocephalides felis felis*, effective adulticide, cyfluthrin, pyriproxyfen.

RESUMO. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia *in vitro* do piretróide ciflutrina associada ao piriproxifem no controle ambiental de formas adultas e imaturas de *Ctenocephalides felis felis*. Tiras de carpete tratado permaneceram no ambiente ao longo de todo o experimento para simular o efeito do resíduo sob con-

* Recebido em 19 de outubro de 2009

¹ Zootecnista. M.CsVs. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: raquel@ufrj.br – bolsista CAPES.

² Medica-veterinária. Dr.CsVs, Programa de Pós-Doutoramento. Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ e Faculdade de Medicina Veterinária de Valença, Fundação Educacional Dom André Arcoverde, Centro de Ensino Superior de Valença, Rua Sargento Vitor Hugo, 161 Bairro de Fátima, Valença, RJ 27600-000, Brasil. E-mail: thaisrca@gmail.com

³ Médico-veterinário. M.CsVs, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Avenida Universitária, s/n, Pirapora, Castanhal, PA 68750-000, Brasil. E-mail: fernandesji@ufpa.br

⁴ Médico-veterinário. Dr. CsVs, DPA, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: scott@ufrj.br

dições naturais. Para cada dia de desafio do ensaio foram utilizadas três repetições por grupo por um período de oitenta dias. No teste adúltica foram utilizadas 10 pulgas por tubo que ficaram expostas por 48h. No dia 0 a eficácia foi de 27,14%, que diminuiu para 11,43 no dia +5 e do dia +10 até o dia +80 foi zero. Na avaliação da eficácia ovicida foram colocados 10 ovos por tubo contendo o carpete impregnado e a dieta alimentar e após 25 dias o material foi fixado em álcool 70°GL e avaliado em microscópio estereoscópico, quanto ao número de pulgas emergidas, a eficácia foi de 100% na inibição do desenvolvimento de *C. f. felis* no dia do tratamento do carpete, os resultados posteriores foram satisfatórios até o dia + 20.

PALAVRAS-CHAVE. *Ctenocephalides felis*, eficácia adúltica, ciflutrina, piriproxifen.

INTRODUÇÃO

Pulgas são ectoparasitos hematófagos responsáveis pela transmissão de patógenos causadores de várias doenças para o homem e seus animais de estimação. A pulga do gato, *Ctenocephalide felis felis* (Bouché, 1835), é o parasito mais abundante em cães e gatos em todo o mundo; além de provocar desconforto aos animais e a seus proprietários, ela está associada a várias doenças, como a dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP). As tentativas de eliminação podem ser onerosas e demoradas, os gastos anuais com controle de pulgas em animais de companhia excedem a um bilhão de dólares nos EUA. e 1,1 bilhão de euros na Europa Ocidental. Durante os últimos dez anos, o controle contra pulgas de gatos e cães foi revolucionado por inseticidas e reguladores de crescimento de insetos (IGR's), com ação sistêmica e tópicos como lufenuron, fipronil, imidaclopride e, mais recentemente, selamectina. Antes de iniciar o controle de pulgas é preciso compreender a necessidade de realização de medidas de controle com espectro de atuação nas formas adultas e imaturas do parasito (Kramer & Mencke, 2001).

O desenvolvimento de estágios imaturos de *C. f. felis* só é possível em micro-habitats protegidos. Eles são restritos a áreas com umidade relativa acima de 50% e temperaturas entre 4°C e 35°C. A visitação destes locais por hospedeiros infestados é necessária para proporcionar material fecal das pulgas adultas, rico em sangue que serve como alimento principal para o desenvolvimento larval de *C. f. felis*. Embora compostos inseticidas tradicionais sejam usados como tratamentos residuais sobre animais de estimação, visando o controle das formas adultas, dados consideráveis têm sido acumulados durante os últimos cinco anos para apoiar o novo paradigma de tratar

somente o animal de estimação com AGR's de forma a interferir com o desenvolvimento das formas imaturas do ambiente. Desta forma não haveria necessidade de tratar o ambiente (Rust, 2005).

Vários piretróides sintéticos, incluindo a ciflutrina, são moléculas complexas e possuem uma variedade de configurações tridimensionais chamadas isômeros. Todos os isômeros têm o mesmo modo de ação. Como todos piretróides sintéticos, a ciflutrina é uma neurotoxina. Ela causa hiperexcitação do sistema nervoso, levando a convulsões e posterior morte do inseto (Corbett, 1984). A nível bioquímico, a ciflutrina tem um complexo modo de ação e afeta a função nervosa por diferentes caminhos. Ela induz alterações na membrana do nervo, diminuindo absorção de sódio e fluxo de potássio. Isto resulta em repetidas descargas elétricas dos neurônios, causando convulsões e também futuro bloqueio dos impulsos nervosos. A ciflutrina também afeta as concentrações de cálcio no tecido nervoso através da inibição de uma enzima envolvida no transporte de cálcio. Isto resulta em aumento na quantidade do neurotransmissor acetilcolina, liberado na junção entre os nervos (Al-Rajhi, 1990). Em adição, dois receptores encontrados no tecido nervoso, o receptor de ácido gama aminobutírico e os receptores benzodiazepínicos periféricos, são inibidos pela ciflutrina. A inibição de outros destes receptores pode causar convulsões (Ramadan et al., 1988).

Os compostos químicos que interferem no crescimento e desenvolvimento dos artrópodes são coletivamente abordados como reguladores de crescimento de insetos (IGRs). Eles são subdivididos de acordo com seu modo de ação em Análogo do Hormônio Juvenil (Inibidores do Desenvolvimento de Insetos) e inibidores da síntese de quitina (Rust, 2005). A ecdisona e o hormônio juvenil (HJ) regulam a muda dos insetos. Os HJs são importantes para a regulação de numerosas funções dos insetos, incluindo muda, metamorfose, reprodução, desenvolvimento dos ovos, migração, diapausa e outros processos (Hirano et al., 1998). Quando a concentração de HJ é elevada, o inseto permanece no mesmo estágio e quando ocorre a queda nos níveis de HJ, ocorre a muda. Após cada muda, enzimas chamadas de esterases levam à queda de HJ. Quando um IGR do tipo HJ é utilizado, os insetos são sobrecarregados com HJ, que inibe a muda com sérias conseqüências para o inseto. As maiores vantagens desses compostos são os efeitos ovicida e larvicida. Existe uma limitação no uso dos IGRs como única forma de controle de pulga, devido o tempo necessário para interrupção de seu ciclo. Por essa razão, eles são frequentemente combinados com um adúltica, para promover um rápido efei-

to *knockdown* (Marcella, 1999). Williams (1967) sugeriu que compostos com atividade de HJ poderiam ser usados como inseticidas, se forem empregados em elevadas dosagens. Como HJ são ativos somente contra insetos, estes são seletivos, com baixa toxicidade para mamíferos (Hirano et al., 1998). Williams (1967) referiu-se aos análogos do HJ, como sendo a terceira geração de inseticidas. Os primeiros análogos do HJ comercializados com sucesso foram o metoprene e o hidroprene. O metoprene ativo contra insetos dípteros e pulgas e o hidroprene, contra baratas. Contudo, estes compostos são muito instáveis em condições de campo e foram usados na agricultura. Numerosos HJs sintetizados foram testados no controle de pragas o piriproxifen, um dos mais potentes análogos do HJ, foi descoberto na década de 70 (Henrick et al., 1973).

Com o advento de novos fármacos para o controle da pulga do gato o desenvolvimento de bioensaios para testar as características biológicas e a atividade dos compostos é importante.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia *in vitro* da associação do piretróide ciflutrina com o HJ piriproxifen, no controle de *C. f. felis*. A solução spray aplicada sobre carpete simula o tratamento do ambiente, considerado de relevância por vários autores.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios *in vitro* para avaliar a eficácia do composto em teste no controle de *C. f. felis*. Um ensaio avaliou a eficácia do piretróide ciflutrina no controle de formas adultas das pulgas no ambiente. O outro ensaio avaliou a eficácia do piriproxifen na interrupção do ciclo ovo-adulto. O composto foi empregado em uma concentração de 0,04% do piretróide sintético ciflutrina e de 0,05% do IGR piriproxifen (HJ), (Fleegard® BAYER contendo 0,04g de ciflutrina e 0,05g de piriproxifen em 100g de produto). Esta solução foi aplicada por 10 segundos sobre um metro quadrado de carpete a uma distância de 50 cm. Posteriormente o carpete impregnado foi cortado em tiras de um centímetro de largura por 10 cm de comprimento (10 cm²) e mantidas no ambiente durante todo o desafio. Os ensaios foram realizados nas instalações do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, do Departamento de Parasitologia Animal, do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e as pulgas utilizadas foram oriundas da colônia que é mantida no mesmo laboratório há dez anos. Foram utilizadas três tiras impregnadas para cada dia de desafio, 0, +5, +10, +15, +20, +30, +40, +50, +60, +70 e +80, para avaliação adulticida, e até o dia + 60,

para eficácia ovicida. Também foi feito uso de três repetições de carpetes sem tratamento para cada dia de desafio - grupos controles. Para o teste adulticida as tiras foram alocadas em tubos de ensaio e, posteriormente, dentro de cada tubo foram colocados dez exemplares adultos de *C. f. felis*, cinco exemplares machos e cinco fêmeas. Imediatamente estes tubos foram fechados com tecido e elástico, impedindo a fuga dos insetos. A avaliação da atividade adulticida foi realizada sempre quarenta e oito horas após a exposição das pulgas, às tiras de carpetes nos tubos de ensaio e foi quantificado o número de pulgas vivas e mortas. O critério empregado para avaliar a morte ou não dos insetos foi o da motilidade. Toda pulga que apresentava um mínimo de motilidade foi considerada viva, esta observação foi realizada sempre pelo mesmo observador com o auxílio de um microscópio estereoscópico. A avaliação da eficácia adulticida de *C. f. felis in vitro* foi determinada pela seguinte fórmula: (número médio de pulgas vivas do grupo controle - número médio de pulgas vivas do grupo tratado) / (número médio de pulgas vivas do grupo controle) x 100. Para avaliação da eficácia da ação do piriproxifen foram colocados 10 ovos de *C. f. felis* em cada tubo de ensaio contendo uma tira de carpete, com produto para o grupo tratado e sem tratamento no grupo controle. Junto aos ovos e ao carpete, foi adicionado 1g de uma dieta alimentar específica para o desenvolvimento de *C. f. felis*. Imediatamente os seis tubos eram fechados com tecido e colocados em estufa climatizada na temperatura média de 27°C e 75% de umidade relativa do ar. Vinte e cinco dias após a incubação dos ovos (dia + 25), todo material mantido nos tubos era fixado com álcool 70° GL. A avaliação da eficácia no controle ovo-adulto de *C. f. felis* foi realizada com a seguinte fórmula: (número de pulgas oriundas dos ovos do grupo controle - número de pulgas oriundas dos ovos do grupo tratado) / (número de pulgas oriundas dos ovos do grupo controle) x 100. Vinte e cinco dias após a inoculação dos ovos (dia + 25), todo material mantido nos tubos era fixado com álcool 70°GL e todo o material observado em microscópio estereoscópico para quantificação do número de pulgas que emergiram. A avaliação da eficácia da interrupção ovo-adulto *in vitro* do produto para *C. f. felis* foi realizada com a seguinte fórmula: (número médio de pulgas adultas oriundas dos ovos dos tubos controles - número médio de pulgas adultas oriundas dos ovos dos tubos tratados) / (número médio de pulgas adultas oriundas dos ovos dos tubos controles) x 100.

RESULTADOS

No que se refere a avaliação adulticida, o número de pulgas vivas por repetição dos grupos controle e trata-

Tabela 1. Número de pulgas mortas, percentual de mortalidade e eficácia adulticida do composto formado por 0,04% do piretróide sintético ciflutrina e 0,05% do IGR piriproxi-fem no controle *in vitro* de *Ctenocephalides felis felis*.

Dias de Experimentação	Número de Pulgas Vivas						Eficácia Adulticida (%)
	Controle			Tratado			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
0	10	10	10	10	5	6	27,14
5	10	10	10	10	9	5	11,43
10	10	10	9	10	10	10	0,00
15	10	9	10	10	9	10	0,00
20	10	10	10	10	10	10	0,00
30	10	10	9	10	9	10	0,00
40	10	10	10	10	10	10	0,00
50	9	10	10	10	10	10	0,00
60	10	10	10	10	10	10	0,00
70	9	10	10	10	10	10	0,00
80	10	10	10	10	10	10	0,00

Tabela 2. Número de pulgas emergidas, percentual de emergência e eficácia ovicida do composto formado por 0,04% do piretróide sintético ciflutrina e 0,05% do IGR piriproxi-fem no controle *in vitro* de *Ctenocephalides felis felis*.

Dias de Experimentação	Número de Pulgas Emergidas						Eficácia Ovicida (%)
	Controle			Tratado			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
0	8	8	8	0	0	0	100,00
5	9	7	7	1	1	0	89,09
10	7	7	8	1	2	2	78,00
15	5	7	4	1	0	1	90,00
20	7	5	8	1	0	2	88,64
30	9	7	8	3	3	1	66,07
40	4	5	5	1	2	2	65,63
50	7	6	4	1	2	4	69,77
60	6	7	5	4	3	3	45,45

do, percentual de mortalidade e eficácia estão contidos na Tabela 1. O produto apresentou baixo percentual de eficácia no controle *in vitro* de adultos de *C. f. felis*. No dia 0 a eficácia foi de 27,14%, que diminuiu para 11,43 no dia +5 e do dia +10 até o dia +80 foi zero. As repetições do grupo controle, não tratadas, apresentaram níveis de mortalidade que variaram de 0 a 33% (Tabela 1).

Quanto ao teste ovicida, o número de pulgas adultas emergidas por repetição nos grupos controle e tratado, percentual de eficácia ovicida estão contidos na (Tabela 2). O produto foi 100% eficaz na inibição do desenvolvimento de *C. f. felis* no dia do tratamento do tapete, os resultados posteriores foram de 89,09; 78,00; 90,00; 88,64; 66,07; 65,63; 69,77 e 45,45% para os dias +5, +10, +15, +20, +30, +40, +50 e +60 respectivamente.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Não foram encontrados relatos na literatura sobre a utilização isolada do piretróide ciflutrina, assim como sobre o seu uso associado ao IGR piriproxi-fem no controle da pulga *C. f. felis*. O piriproxi-fem foi utilizado na

concentração de 0,05% por outros autores, onde proporcionou uma eficácia de 100% no 1º mês e de 82% no 2º mês no controle de larvas de *C. f. felis* (Hinkle et al., 1995), resultado este superior ao obtido no presente estudo. Quando na concentração de 0,04mg/m², o piriproxi-fem apresentou um período residual de até 3 meses (Kawada & Hirano, 1996). Rust & Reiersen (1988) reportaram que resíduos de clorpirifós, propetamfós, permetrina, diazinom, malatiom e carbaril em carpetes de nylon apresentaram uma eficácia superior a 90% no controle de adultos de *C. f. felis* por um período superior a 21 dias. Aplicações de outros IGR's em carpetes, como metoprene e fenoxicarbi, interromperam o desenvolvimento larval e a emergência de adultos de *C. f. felis* por até 40 semanas (Dryden & Rust, 1994).

A utilização de um produto spray para ambientes restritos, tais como, cama, casa e canil é justificado quando o seu uso é associado a uma droga de ação reguladora de crescimento que também fará o controle das formas imaturas disponíveis no ambiente. A diferença é que o primeiro terá ação mais rápida quanto a desinfestação ambiental, quando comparado ao segundo que entrará em contato com as formas imaturas do ambiente depois de algum tempo. É também importante ressaltar a responsabilidade coletiva da comunidade veterinária e dos proprietários de animais de companhia na realização de um controle consciente da pulga, para que não haja desenvolvimento de resistência em função do uso errôneo dos inseticidas oferecidas pelo mercado.

Pode-se concluir com este estudo que a associação do piretróide ciflutrina 0,04% com o IGR piriproxi-fem 0,05% não se mostrou eficaz no controle de formas adultas de *C. f. felis*, porém demonstrou eficácia no controle de suas formas imaturas moderada até o vigésimo dia pós-tratamento.

Agradecimentos: Os autores gostariam de agradecer ao técnico do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária - Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, José Cláudio Satler de Andrade pela ajuda na execução da parte experimental, e às Instituições CAPES, FAPERJ e CNPq, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Rajhi D.H. Properties of Ca²⁺+Mg²⁺-ATPase from rat brain and its inhibition by pyrethroids. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 37:116-120. 1990.
- Corbett J.R., Wright K. & Baillie A.C. *The biomedical mode of action of pesticides*. 2ª. ed., Academic Press, London, 1984. 330 p.

- Dryden M.W. & Rust M.K. The cat flea: biology, ecology and control. *Vet. Parasitol.*, 31:272-277. 1994.
- Henrick C.A., Staal G.B. & Siddall J.B. Alkyl 3,7,11-trimethyl-2,4 dodecadienoates, a new class of potent insect growth regulators with juvenile hormone activity. *J. Agric. Food Chem.*, 21:354-359. 1973.
- Hinkle N.C., Koeler P.G. & Patterson R. Residual effectiveness of insect growth regulators applied to carpet for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) larvae. *J. Econ. Entomol.*, 88:903-906, 1995.
- Hirano M., Hatakoshi M., Kawada H. & Takimoto Y. Pyriproxyfen and other juvenile hormone analogues. *Rev. Toxicol.*, 2:357-394. 1998.
- Kawada H. & Hirano M. Insecticidal effects of the insect growth regulators methoprene and pyriproxyfen on the cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.*, 33:819-822, 1996.
- Kramer F. & Mencke N. *Flea biology and control: the biology of the cat flea, control and prevention with imidacloprid in small animals*. 1^aed. Springer-Verlag, Berlin, 2001. 192p.
- Marsella R. Advances in flea control. *Vet. Clin. Small Anim.* 29:1407-1424, 1999.
- Ramadan A., Abakry N.M., Marei A.S.M., Eldefrawi A.T. & Eldefrawi M.E. Actions of pyrethroids on the peripheral benzodiazepine receptor. *Pest. Biochem. Physiol.*, 32:106-113, 1988.
- Rust M.K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis felis* (cat flea) on cats and dogs. *Trends Parasitol.*, 21:232-236, 2005.
- Rust M.K. & Reiersen D.A. Performance of insecticides for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) indoors. *J. Econ. Entomol.*, 81:236-240, 1988.
- Willams C.M. *Third-generation pesticides*. *Sci. Am.*, 217:13-17, 1967.