



“Avaliação da eficácia da coleira LEEVRE, no controle do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, em condições experimentais, em cães.”

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da coleira LEEVRE, no controle de flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis*, vetores da leishmaniose visceral, em cães experimentalmente infestados.

O estudo foi conduzido pelo pesquisador Prof. Dr. Leucio Camara Alves, nas dependências do canil do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e no Laboratório de Sanidade Animal/ LASAN-UFPI, localizado no município de Teresina, Estado do Piauí.

Foram recrutados (pré-selecionados) 26 cães do plantel de animais do Laboratório de Sanidade Animal/LASAN-UFPI, aproximadamente dois meses antes do início do estudo (D-75), para coleta de exames e observação do estado clínico geral. Destes, foram então selecionados 20 cães adultos hígidos, no D-42 do estudo, sendo 10 machos e 10 fêmeas, sem raça definida, com idade entre 2 a 4 anos, pesando entre 8 a 18,9kg, apresentando sorologia negativa para leishmaniose (Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI e ELISA) e diagnóstico parasitológico negativo de linfonodos e medula óssea (citologia e cultura).

Nos dias anteriores ao início de cada desafio experimental, fêmeas e machos de flebotomíneos *L. longipalpis*, espécie de maior prevalência na região (99,67%), foram capturados em áreas de mata e em bairros da cidade de Teresina (PI), sendo mantidos no setor de entomologia do Laboratório de Sanidade Animal da Universidade Federal do Piauí, até o início do estudo.

Para a condução do estudo, formou-se dois grupos experimentais, compostos de 8 animais cada. Todos os animais foram submetidos aos mesmos procedimentos de seleção, avaliação clínica e desafio experimental



(sedação e repasto de flebotomíneos). No Grupo Controle estavam os animais que receberam a coleira “placebo” no D0, sem impregnação dos ativos da coleira, a qual permaneceu até o término do ensaio. O Grupo Tratado era composto pelos animais que receberam a coleira LEEVRE (Deltametrina 4% e Propoxur 12%) no D0, a qual permaneceu durante 182 dias em contato com os animais até a avaliação final do estudo (D+182).

Delineamento do estudo

Foram selecionados 20 cães por meio de pesagem, avaliação clínica, hemograma e exames laboratoriais específicos. Foram incluídos animais com sorologia negativa para anticorpos anti IgG *anti-Leishmania* e diagnóstico parasitológico negativo através da não visualização do parasita na forma amastigota na cultura do material obtido de aspirado de medula óssea e de linfonodo.

Quatro dias anteriores ao tratamento (D-4), os animais foram pesados e avaliados clinicamente. No D-1 foram alocados nos grupos Controle e Tratado, de acordo com o sexo e peso.

No dia do tratamento D0, os 20 animais selecionados do grupo Tratado e Controle receberam as coleiras de tratamento e placebo respectivamente, conforme o seu porte físico. No entanto, apenas 16 cães, sendo 8 animais do grupo Tratado e 8 animais do grupo Controle foram direcionados para início do estudo. Os demais animais (2 controle e 2 tratados) permaneceram como animais reserva, utilizando a coleira placebo e LEEVRE respectivamente como forma de manter a liberação do produto.

Os animais foram tratados em dias diferentes, subdivididos pelo grupo e sexo, para que o desafio experimental pudesse ser realizado sequencialmente e fosse mantido o intervalo de desafios.



Foram realizados desafios para avaliar a eficácia do produto nos dias (D+7), (D+21), (D+49), (D+77), (D+105), (D+133), (D+161), (D+182). Nestas mesmas datas, os animais foram submetidos à avaliação clínica antes do procedimento.

Em cada momento do desafio, os animais foram sedados, colocados um a um, individualmente, em uma caixa de vidro de tamanho de 1,0 metro de comprimento x 1,0 metro de largura x 54 cm de altura e desafiados frente a 60 fêmeas e 20 machos de *Lutzomyia longipalpis* por um período de 50 minutos. Tais insetos que estavam sem alimentação durante 24 horas.

Após os 50 minutos de desafio, foram realizadas avaliações da eficácia do produto no controle dos flebotomíneos através da contagem de insetos fêmeas após o período de desafio e sua avaliação pela taxa de mortalidade e alimentação (ingurgitamento de sangue).

Após esse procedimento, os cães foram retirados da caixa, acompanhados na recuperação da sedação e levados ao canil.

Os flebotomíneos vivos permaneceram nos frascos plásticos, e foram observados nos períodos de 12 e 24 horas após o desafio. Após este momento, foram dissecados para observações de ingurgitamento através de microscopia óptica, em lâminas de vidro com as respectivas lamínulas.

As fêmeas mortas foram recolhidas da caixa, contadas e também colocadas em lâminas de vidro com as respectivas lamínulas imediatamente para observação do ingurgitamento.

Ao término do estudo, os animais em experimentação passaram por uma nova avaliação clínica e laboratorial para verificação do parasita *leishmania* e foram adequadamente destinados (Killick-Kendrix et al, 1997; Molina et al, 2012; VICH, 2000; Brasil, Ministério da Saúde, 2006).



Análise dos dados

Percentual de mortalidade (Eficácia Inseticida)

Com relação ao percentual de mortalidade, as fêmeas de flebotomíneos foram contadas a fim de determinar o número total de sobreviventes e de mortos, após cada desafio experimental, independente se estavam alimentados ou não. As contagens individuais foram somadas e transformadas em porcentagem, em relação ao número total de insetos avaliados em cada desafio, excluindo os insetos perdidos.

Percentual de alimentação (Eficácia na proteção contra picadas)

Com relação ao percentual de proteção contra picadas, todas as fêmeas de flebotomíneos (vivas ou mortas) foram avaliadas, em microscopia óptica para observação da presença de sangue, para determinar se estavam alimentadas ou não. As contagens individuais foram somadas e transformadas em porcentagem, em relação ao número total de insetos avaliados em cada desafio, excluindo os insetos perdidos.

Resultados

Eficácia Inseticida

Na análise da eficácia inseticida, observa-se que a coleira LEEVRE apresentou resultados acima de 90% de mortalidade até 161 dias de estudo, com exceção do último desafio experimental (182 dias) em que a



porcentagem ficou em torno de 71,79%. O produto manteve a liberação dos ativos durante um período de 26 semanas.

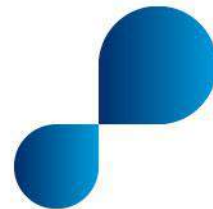
Até o momento de 77 dias do estudo de LEEVRE, todos os insetos ingurgitados estavam mortos logo após o desafio experimental. No entanto, no desafio realizado aos 105 dias de estudo, alguns flebotomíneos alimentados permaneceram rodopiando após o término do procedimento, desorientados no chão da caixa de vidro e visualmente afetados pela ação do produto. Estes foram observados e morreram em torno de 30 minutos depois. Tais insetos foram considerados mortos para o cálculo da eficácia.

Eficácia na proteção contra picadas

Com relação à eficácia na proteção contra picadas, os dados mostram que poucos insetos se alimentaram no grupo tratado em relação ao grupo controle, durante todo o período do estudo. Observa-se que a eficácia se manteve em torno de 90% durante os 6 meses, com exceção do momento de 49 dias que ficou em 81,43% de proteção. Esta variação é natural, devido ao longo período do estudo, em diferentes condições climáticas e variação na condição das colônias de campo coletadas a cada período.

Conclusão

No presente estudo, em condições de desafio experimental para avaliação da eficácia inseticida do produto e na sua ação repelente, foi possível verificar que LEEVRE protegeu os cães contra a maioria das picadas dos flebotomíneos (81-93% - média de 89,93%) e manteve um efeito inseticida (71-100% - média de 94,91%) por um período de 26 semanas (182 dias). Desta forma, conclui-se que o risco de infecção dos



animais e do ser humano por leishmaniose pode ser reduzido com uso deste produto, através do controle de vetores transmissores.

Referências Bibliográficas

Killick- Kendrix, R. et al. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Medical and Veterinary Entomology*, v.11, pág 105-111, 1997.

Molina, R.; Espinosa-Góngora, C.; Gálvez, R.; Montoya, A.; Delcalzo, M.A.; Jiménez, M.I.; Dado, D.; Miró, G. Efficacy of 65% permethrin applied to dogs as a spot-on against *Phlebotomus perniciosus*. *Veterinary Parasitology*, 187, pág 529-533, 2012.

VICH Topic GL9 - Guideline on good clinical practices. CVMP/VICH/595/98 -Final, London, July 2000.

Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, Brasília, 2006.