

Implantação de colônia de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) e determinação do período de desenvolvimento dos estágios imaturos sob condições controladas

Implantation of a *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) colony and determination of the development period of the immature stages under controlled conditions

Heloisa Cristina da Silva¹
Viviane Aparecida Veronez²
Karina Carrão Castagnolli³
Nancy Prette⁴
Fernando de Almeida Borges⁵
Daniela da Silveira Miyasaka⁶
Gilson Pereira Oliveira⁷
Alvimar José da Costa⁸

Resumo

O presente estudo teve como objetivo a implantação de uma colônia de pulgas (*Ctenocephalides felis felis*), para determinação do período de

-
- 1 Dr^a.; Médica Veterinária; Professora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal; E-mail: helocsilva@hotmail.com
 - 2 Dr^a.; Médica Veterinária; Professora do Departamento de Patologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal; E-mail: viviveronez@hotmail.com
 - 3 PhD.; Médica Veterinária; Uzinás Químicas Brasileiras S.A..
 - 4 Dr^a.; Bióloga; Professora de ensino médio da Secretaria Municipal de Ribeirão Preto. E-mail: nprette@hotmail.com
 - 5 Dr.; Médico Veterinário; Professor do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; E-mail: faborges@nin.ufms.br
 - 6 Dra.; Médica Veterinária; Gerente de Registro e Estudos Clínicos (PD&I) da Ouro Fino Saúde Animal Ltda; E-mail: daniela.miyasaka@ourofino.com
 - 7 Dr.; Médico Veterinário; Pesquisador do Centro Pesquisa Sanidade Animal-UNESP.
 - 8 PhD.; Médico Veterinário; Professor da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal Univers; Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; E-mail: alvimar.costa@pq.cnpq.br

Recebido para publicação em 20/08/2007 e aceito em 10/06/2008

Ambiência Guarapuava, PR v.4 n.3 p.473 - 481 Set./Dez. 2008 ISSN 1808 - 0251

desenvolvimento dos estágios imaturos desse inseto, quando mantido em condições controladas. Para isto, gatos foram infestados artificialmente com estágios adultos de *C. felis felis* e mantidos em gaiolas metálicas suspensas. Diariamente, durante trinta dias, os ovos de pulgas provenientes dos gatos eram recolhidos e mantidos em estufa do tipo B.O.D., com T^o de 28±1°C e umidade relativa de 75%. O tempo de eclosão larval foi em média de dois a quatro dias, as pré-pupas surgiram no período de seis a nove dias, a pupação iniciou-se com nove a onze dias e a emergência dos adultos variou de quatorze a vinte dias. Nessas condições climáticas associadas à dieta adotada, foi possível uma recuperação de adultos de aproximadamente 90%, resultados favoráveis à manutenção de uma colônia.

Palavras-chave: *Ctenocephalides*; ciclo biológico; colônia de pulgas.

Abstract

The purpose of this study was the implantation of a flea colony (*Ctenocephalides felis felis*) for determination of the development time of the immature stages of the insect in laboratory controlled conditions. Cats were artificially infested with adult *C. felis felis* and maintained in suspended metallic cages. The flea eggs were collected daily for 30 days, and placed in an incubator set at 28 ±1 oC, at 75% relative-humidity. The time for larval eclosion ranged from 2 to 4 days. The pre-pupa stage appeared 6 to 9 days later. The pupa stage initiated after 9 to 11 days and the emergence of the adults ranged from 14 to 20 days. Provided the climatic and diet control conditions, a flea adult recovery of approximately 90% was observed, showing favorable conditions for the maintenance of a flea colony.

Key words: *Ctenocephalides*; life cycle; flea colony.

Introdução

Ctenocephalides felis felis é um dos ectoparasitos mais importantes de cães e gatos. Seus prejuízos vão desde danos provocados diretamente pela sua picada e transmissão de vários patógenos, até o desencadeamento de uma importante enfermidade, denominada “dermatite alérgica a picada de pulgas - DAPP”, determinada por componentes

contidos na saliva dos sifonápteros. Atualmente, estima-se que 50% dos casos de alterações dermatológicas nos animais sejam ocasionados pelos insetos supramencionados (BRANDÃO, 2004; LINARDI, 2004).

De acordo com Dryden (1993), *C. felis felis* pode ser hospedeiro intermediário do cestódeo *Dipylidium caninum*, parasito de cães, gatos e ocasionalmente de crianças, do filarídeo *Dipetalonema*

reconditum e vetor do agente da doença da arranhadura do gato, *Bartonella henselae*, além de também atuar como agente transmissor de algumas Riquetsias (FOIL et al, 1998; HEUKELBACH et al., 2003).

O controle químico desses insetos ainda é o método mais utilizado e o desenvolvimento de novas formulações visando melhores resultados terapêuticos tem sido um fator preponderante nas indústrias farmacêuticas (KRAMER e MENCKE, 2001).

O conhecimento da biologia desses insetos é de fundamental importância para a elaboração de uma estratégia de controle (PEREIRA e SANTOS, 1998).

A implantação de colônias de pulgas auxilia em testes elaborados para comprovação de eficácia dos vários princípios ativos existentes. Por meio de infestações artificiais de pulgas, em cães ou gatos, é possível estabelecer padrões confiáveis sobre a ação química dos fármacos e garantir resultados mais precisos em testes *in vivo* e *in vitro*. Além disso, pode-se detectar precocemente cepas resistentes aos princípios ativos existentes. Também permite o estudo sobre o desenvolvimento de vacinas e facilitar a caracterização molecular de cepas diferentes de uma mesma espécie de pulga. Outro fato a ser considerado é a sua participação nos estudos com controle biológico (RUST, 2005).

As pulgas, independente de sua espécie, são insetos com metamorfose completa, sendo seu ciclo biológico dividido em quatro fases diferenciadas: ovo, larva, casulo pupal e adulto (DRYDEN, 1993).

O ciclo biológico dos pulicídeos tem início quando os ovos são depositados entre os pêlos dos hospedeiros. Após a oviposição, estes caem ao solo, tendendo a acumular-se em grandes quantidades nos locais habitualmente mais freqüentados pelos hospedeiros. As larvas eclodem no intervalo entre um e dez dias, de acordo com as condições ambientais de temperatura e umidade relativa, sendo o tempo médio de desenvolvimento larval de cinco a onze dias, passando por três instares, separados entre si por duas mudas de cutícula. No final do seu desenvolvimento, o terceiro instar larval deixa de se alimentar e esvazia seu trato digestivo, iniciando a produção de tênues fios de seda viscosos, para a formação do casulo pupal, que irá aderir-se a qualquer sujidade ambiental como grãos de areia ou outro tipo de resíduo. A emergência das pulgas adultas ocorre em cerca de 5 a 9 dias após o início da pupação, podendo chegar a um tempo tão longo como 140 dias. As pulgas emergentes apresentam fototropismo positivo e geotropismo negativo, além de serem atraídas por vibrações, correntes de ar, CO₂, ruídos, odores e outros estímulos químicos. Logo após a emergência, as pulgas iniciam o repasto sangüíneo e a oviposição ocorre num tempo máximo de 36 a 48 horas do primeiro repasto (DRYDEN, 1993; DRYDEN e RUST, 1994, LINARDI; e GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2004).

De acordo com Genchi (1992), os pulicídeos adultos constituem apenas 5% da população em parasitismo, ficando os 95% restantes distribuídos entre as outras fases de vida, demonstrando, portanto ,

que a maior parte do ciclo biológico de *C. felis felis* se passa fora do hospedeiro.

A longevidade das pulgas é variável de acordo com as condições climáticas, espécie e com a condição alimentar, sendo assim, a *Ctenocephalides felis felis* pode ter uma sobrevivência de 30 dias alimentando-se e de 19 dias em jejum. No repasto sanguíneo, uma fêmea de *Ctenocephalides* spp ingere cerca de 13,6 µl de sangue por dia, o que representa aproximadamente quinze vezes o seu peso (DRYDEN, 1993; LINARDI, 2004).

A grande quantidade de sangue ingerido pelas fêmeas adultas de pulgas auxilia na sobrevivência das larvas no ambiente, uma vez que uma parcela desse sangue ingerido é eliminado com as fezes destas fêmeas e caem no solo para servirem de alimento junto com matéria orgânica, para as larvas recém eclodidas (DRYDEN, 1993). Em laboratório, para a alimentação das larvas, é feita a substituição das fezes de pulgas por sangue desidratado de animais. O sangue de bovinos é o mais utilizado para dieta das larvas em laboratório, porém pode-se utilizar sangue de outros animais (LINARDI et al., 1997).

Normalmente formulam-se dietas para as larvas adicionando outros componentes ao sangue de bovinos, como por exemplo, o levedo de cerveja. A finalidade de tal procedimento consiste em melhorar a qualidade do alimento e ainda fornecer substrato para a construção do casulo pupal (BRUCE, 1948; MOSER et al., 1991; BAKER e ELHARAM, 1992; RICHMAN et al., 1999).

Este estudo foi realizado para a determinação do período de

desenvolvimento dos estágios de *C. felis felis*, bem como para verificação da porcentagem de emergência dos adultos, utilizando-se uma dieta à base de farelo de trigo e farinha de sangue bovino.

Material e Métodos

Para obtenção de *C. felis felis* utilizadas nos ensaios com cães e gatos, foi inicialmente estabelecida e mantida uma colônia de pulgas, seguindo metodologia de Santos (2000) modificada. A colônia foi instalada no Laboratório do Centro de Pesquisa em Sanidade Animal (CPPAR) - FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal. Para tanto, dez gatos, sem raça definida, foram recolhidos do canil municipal de Araraquara, SP, levados ao laboratório e penteados com um pente fino, para retirada das pulgas existentes. Posteriormente, os gatos foram infestados com adultos de *C. felis felis* previamente identificados segundo Bicho e Ribeiro (1998), capturados de outros gatos e/ou cães. Os gatos foram alojados em gaiolas de metal, com dimensões de 62cm x 120 cm x 55 cm, mantidas suspensas sobre bancadas a 72 cm do chão, mantendo-se dois animais por gaiola. Dentro de cada gaiola foi colocado um recipiente contendo areia higiênica. Água e alimento foram fornecidos *ad libitum*. Diariamente, as gaiolas eram retiradas e o balcão varrido com um pincel para colheita dos ovos de pulgas juntamente com resíduos de poeira e areia. O material obtido foi colocado em placas de Petri com uma mistura de farelo de trigo e farinha de sangue na proporção de 1:1, que serviu de dieta para as larvas e substrato para a

Figura 1. Estante de B.O.D. com placas de Petri contendo larvas e pupas, tubos de ensaio contendo pupas



Fonte: Os autores

formação do casulo pupal (Figura 1). As placas de Petri foram acondicionadas em câmara do tipo B.O.D. na temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de aproximadamente 75%. Após a formação do casulo pupal, estes foram contados, separados e colocados em número de 100 ou 150 em tubos de ensaio (15 cm x 1,6cm), devidamente cobertos com tecido de nylon, preso por um elástico, permitindo a aeração dentro do tubo e impedindo a fuga das larvas e adultos. Em seguida, esses tubos foram mantidos em estufa tipo B.O.D. nas mesmas condições anteriores. Cada tubo de ensaio contendo as pulgas já emergidas, foi utilizado para infestar artificialmente os cães e gatos dos experimentos e, também, para reinfestar os gatos da colônia, aumentando assim

a população de pulgas adultas destes e, conseqüentemente, a quantidade de ovos coletados para a realização dos ensaios.

Resultados e Discussão

A eclosão larval foi observada de dois a quatro dias; as pré-pupas surgiram no período de seis a nove dias; a pupação iniciou-se com nove a onze dias e a emergência dos adultos variou de quatorze a vinte dias (Tabela 1). A dieta à base de farinha de sangue e farelo de trigo, utilizada para nutrição das larvas e substrato para formação do casulo pupal, foi muito eficiente nesta fase de desenvolvimento, contribuindo para a recuperação de aproximadamente 90% dos adultos. Estes valores foram mantidos

Tabela 1. Período em dias da duração dos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*

Estágios	Tempo mínimo (dias)	Tempo máximo (dias)
Eclosão larval	2	4
Pré-pupa	6	9
Pupação	9	11
Emergência de adultos	14	20

Fonte: Os autores

constantes durante todo ano como consequência de temperatura e umidade controladas em estufa do tipo B.O.D.

Um moderno conceito no controle de pulgas enfatiza a necessidade de se proteger os animais das reinfestações, eliminando do ambiente as reservas de ovos, larvas e pupas (JACOBS et al., 1997). Assim, a manutenção de colônias de pulgas em laboratório é de extrema importância para a obtenção de dados experimentais referentes ao ciclo biológico da *Ctenocephalides felis felis*, auxiliando no controle desses insetos. Além disso, as colônias também oferecem suporte para a avaliação de novos produtos inseticidas (SANTOS, 2000). Nesse sentido, implantou-se uma colônia de pulgas (*C. felis felis*), sendo os resultados obtidos referentes à biologia das mesmas e manutenção da colônia comparados com os de outros autores.

O tempo de eclosão das larvas de sifonápteros observado neste ensaio foi de dois a quatro dias, em temperatura de 28° C e umidade relativa (UR) de 75%. Esses valores, quando comparados aos obtidos por Santos (2000) nas mesmas condições climáticas e por Silverman et al. (1981) em temperatura de 27°C e 75% UR, foram ligeiramente mais prolongados já que estes autores observaram a eclosão

larval após um período de incubação de dois dias. No entanto, o período para início da formação do casulo pupal observado neste estudo (seis dias), ocorreu antes do período observado pelos referidos autores (aproximadamente sete dias). Mesmo assim, é possível afirmar que estes resultados são similares aos citados em literatura (SILVERMAN et al., 1981; SANTOS, 2000).

A temperatura recomendada para manutenção dos estágios imaturos de *C. felis felis* é de 27 ± 2° C (SILVERMAN et al., 1981; KOEHLER et al., 1989; KERN et al., 1999). No presente estudo, adotando-se 28°C como temperatura padrão, a emergência dos adultos iniciou-se com quatorze dias, assemelhando-se aos dados obtidos por Santos (2000). Metzger e Rust (1997) obtiveram emergência dos adultos com doze a vinte e sete dias em temperatura de 26,7°C, utilizando uma dieta à base de ração canina, sangue desidratado de bovino, areia e suplemento nutricional. Essa diferença observada entre os experimentos deve estar relacionada ao método utilizado na criação dos pulicídeos em laboratório.

A mistura de farinha de sangue e farelo de trigo (proporção de 1:1), base da dieta adotada como meio de criação neste experimento, foi altamente eficiente para

a nutrição larval e formação dos casulos pupais de *C. felis felis*, visto que recuperou-se cerca de 90% dos adultos nos tubos de ensaio. Essa percentagem foi superior a obtida por Santos (2000) que, utilizando dieta semelhante, recuperou cerca de 80% dos adultos. Correia et al. (2003) utilizaram dieta parecida e observaram emergência de adultos em torno de 73%. Os mesmos autores também avaliaram a adição de sangue de outras espécies à dieta, tais como o de equino, ovino e fezes de pulgas, obtendo valores inferiores de emergência das pulgas adultas, com exceção da dieta que continha fezes de pulgas; nesta o percentual foi de cerca de 82%.

Conclusões

A metodologia adotada para a implantação da colônia de pulgas garantiu um rápido período de desenvolvimento desses insetos, fato este capaz de contribuir com vários experimentos futuros em que seja necessário o uso de exemplares, de qualquer estágio, para ensaios in vivo e in vitro.

Quanto à dieta adotada, a adição de farelo de trigo na dieta das larvas serviu para aumentar a qualidade nutritiva e garantir o desenvolvimento dos estágios imaturos, contribuindo para um excelente percentual de emergência.

Referências

- BAKER, K.P.; ELHARAM, S. The biology of *Ctenocephalides canis* in Ireland. *Veterinary Parasitology*, v.45, p.141-146, 1992.
- BICHO, C. L.; E RIBEIRO, P. B. Chave pictórica para as principais espécies de Siphonaptera de importância médica veterinária, no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.7, p. 47-51, 1998.
- BRANDÃO, L.P. Pulcidas empregados na medicina de pequenos animais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, suplemento, p. 107, 2004.
- BRUCE, W.N. Studies on the biological requirements of the cat flea. *Annals Entomology Society American*, v.61, p. 346-352, 1948.
- CORREIA, T.R.; SOUZA, C.P.; FERNANDES, J.I.; MARTINS, I.V.F.; SANTOS, H.D.; SCOTT, F.B. Ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) a partir de diferentes dietas artificiais. *Revista Brasileira, Zoociências: Juiz de Fora*, v.5, n. 2, p. 153 - 160, 2003.
- DRYDEN, M.W. Biology of fleas of dogs and cats. *Compendium of Continuing Education Practice Veterinary*, v.15, p. 569-579, 1993.
- DRYDEN, M.W.; RUST, M.K. The cat flea: biology, ecology and control. *Veterinary Parasitology*, v. 52, p. 1-19, 1994.

FOIL, L.; ANDRESS, E.; FREELAND, R.L.; ROYM, A.F.; RUTLEDGE, R.; TRICHE, P.C.; O'REILY, K.L. Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) feces. *Journal Medical Entomology*, v.35, p. 625-628, 1998.

GENCHI, C. Arthropods as zoonoses and their implications. *Veterinary Parasitology*, v. 44, p. 21-33, 1992.

HEUKELBACH, J.; OLIVEIRA, F.S.; FELDMEIERS, H. Ectoparasitoses e saúde pública no Brasil: desafios para controle. *Caderno de Saúde Pública*, v. 19, n.5, 2003.

JACOBS, D.E.; HUTCHINSON, M.J.; KRIEGER, K.J. Duration of activity of imidacloprid, a novel adulticide for flea control, against *Ctenocephalides felis* on cats. *The Veterinary Record*, v.140, p. 259-260, 1997.

KERN, W.H. JR; RICHMAN, D.L.; KOEHLER, P.G.; BRENNER, R.J. Outdoor survival and development of immature cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Florida. *Journal of Medical Entomology*, v. 36, p. 207-211, 1999.

KOEHLER, P.G.; LEPLA, N.C.; PATTERSON, R.S. Circadian rhythm of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) locomotion unaffected by ultrasound. *Journal of Economic Entomology*, v. 82, p. 516-518, 1989.

KRAMER, F.& MENCKE, N. *Flea biology and control*. Springer – Berlim , Heidelberg, New York, 2001.

LINARDI, P.M. Biologia e epidemiologia das pulgas. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, suplemento, p. 103-106, 2004.

LINARDI, P.M.; DE MARIA, M.; BOTELHO, J.R. Effects of larval nutrition on the postembryonic development of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal Medical Entomology*, v.34, p. 494-497, 1997.

LINARDI, P.M.; GUIMARÃES, L.R. *Sifonápteros do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia USP/FAPESP, 2000. 291p.

METZGER, M.E.; RUST, M.K. Effect of temperature on cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) development and overwintering. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, p. 173-178, 1997.

MOSER, B.A.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Effect of larval diet on cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) development times and adult emergence. *Journal Economy Entomology*, v.84, p. 1257-1261, 1991.

PEREIRA, M.C.; SANTOS, A. P. *Ctenocephalides felis felis*: biologia, ecologia e controle integrado – Parte 1 (Biologia ecologia). São Paulo. *Clínica Veterinária*, n.16, p.34-38, 1998.

RICHMAN, D.L.; KOELER, P.G.; BRENNER, R.J. Spray-dried bovine blood: an effective laboratory diet for *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal Economy Entomology*, v. 36, n. 3, p. 219-221, 1999.

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

SANTOS, H.D. Período de desenvolvimento dos estágios imaturos de *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE) mantidos em condições controladas e no ambiente. 2000. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SILVERMAN, J.; RUST, M.K.; REIERSON, D. A. Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 18, p. 78-83, 1981.