

REPORTE FINAL DE ESTUDIO DE EFECTIVIDAD

1. Título

Efectividad de una solución a base de Fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Drop on) para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

2. Número de Ensayo

09-2016

3. Investigador Principal

Mg. MV. Amanda Chávez Velásquez. Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4. Investigadores Colaboradores

MV. Rosa Pinedo Vicente, Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Ana María Gomez Aquino, Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

5. Sponsor

Agroveter Market S.A.

5.1. Equipo de Trabajo

MV. Luis Alfredo Chávez Balarezo – Supervisor de Investigación en Sanidad Animal

MV. Jose Tang Ploog – Sub gerente de Investigación en Sanidad Animal

6. Lugar de Estudio

Albergue Canino “Can Martin”, ubicado en el distrito de Cieneguilla, Lima.

7. Objetivo General

Determinar la eficacia una solución a base de Fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Drop on) en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.

8. Antecedentes y Justificación

Las parasitosis son una serie de enfermedades cuyos agentes etiológicos no hacen más que sobrevivir a expensas de su huésped, degenerando su estado de salud. Como sabemos, los animales de producción, entre ellos los caninos no son ajenos a estas enfermedades, lo que puede terminar por mermar la salud de estos animales y generando problemas que pueden afectar gravemente su salud (Rojas, 2004).

Las pulgas constituyen los ectoparásitos de mayor frecuencia en las mascotas. Así lo demuestran diversos estudios realizados en Lima Metropolitana en caninos provenientes de diversos distritos del cono sur, en los cuales se señalan



prevalencias de hasta del 85.5%, siendo la pulga el ectoparásito de mayor frecuencia. Así tenemos una prevalencia de *Ctenocephalides felis* del 53.5%, *Ctenocephalides canis* 10%, *Pulex irritans* 21.5% y *Echidnophaga gallinacea* 13,3% (Liberato, 1998). En otro estudio realizado durante la estación de verano en 400 caninos provenientes de los distritos del cono norte de Lima, se halló una prevalencia de ectoparásitos del 98.8%, donde la pulga representaba el ectoparásito más frecuente, siendo 89% para *Ctenocephalides felis*; 1.8% *C. canis*, 37.8% *Pulex irritans* y 2.5% *Echidnophaga gallinacea* (Estares, 1999).

Como se puede apreciar, la pulga del gato (*Ctenocephalides felis*) es la más comúnmente encontrada en perros. Su ciclo de vida, que consta de cuatro etapas (adulto, huevo, larva y pupa), puede demorar de 14 a 180 días dependiendo de las condiciones medioambientales (Leguía, 2002).

La parasitosis por pulgas en perros constituye un problema difícil de controlar debido a la gran adaptabilidad del parásito a diferentes condiciones ambientales (Leguía, 2002). Para dicho control, se han desarrollado diversas drogas cuya efectividad y acción residual varían según su acción en determinado estadio de desarrollo del parásito. Sin embargo, el excesivo uso de estas drogas, ocasiona el desarrollo de una resistencia parcial o total por parte de las pulgas, provocando la necesidad del aumento de dosis, o del uso de un nuevo producto (Makowski, 1985). Como ejemplo se puede mencionar, que a pesar de haber evidencia científica que demuestre que no hay resistencia de las pulgas a ciertas drogas, como el fipronil (Brunet et al., 2009), también hay estudios que demuestran la susceptibilidad a fármacos específicos por parte de ciertas cepas de pulgas (Payne, 2001) como al fipronil u otras drogas que han sido usadas por largos períodos de tiempo. Y como se observa en la práctica diaria, cada vez los pulguicidas causan menos efecto sobre las pulgas; es así que existe la necesidad de desarrollar fármacos nuevos o asociaciones de estos, que puedan convertirse en una alternativa segura para el control de pulgas.

Frente a la necesidad de controlar la presencia de estos ectoparásitos en los animales de compañía surgen diversos fármacos, entre estos se menciona el fipronil y el pyriproxyfen (PPF).

El fipronil es un derivado de los fenilpirazoles. Actúa como un antagonista del GABA, fijándose al receptor en el interior del canal ionóforo. Esto provoca la inhibición del flujo intracelular del cloro, lo que conduce a una muerte del parásito por hiperexcitación. Está emparentado en el modo de acción con las ivermectinas, en el sentido que actúa como bloqueante de los canales del ion cloro regulados por el GABA en las membranas de las células nerviosas. Normalmente el flujo del cloro está regulado por el receptor de GABA que permite la apertura del canal, provocando la hiperpolarización de las células nerviosas con la consecuente disminución de su actividad, su bloqueo anula el efecto neurotransmisor del GABA, inhibiendo el flujo intracelular de aquel ion conduciendo a la muerte del parásito por hiperexcitación (Blagburn y Lindsay, 2001).

Recientemente se han buscado nuevos enfoque para el control de insectos, utilizando drogas que interfieran con sus sistemas y que presenten seguridad para los vertebrados. Así los reguladores de crecimiento de insectos (IGRs) (metopeno, fenoxicarb, piriproxifen), son drogas que imitan los efectos de la



hormona de crecimiento, incapacitando al insecto a mudar o transformarse en fase subsiguiente, causándoles deformidades y la muerte. Los procesos de muda están controlados básicamente por las hormonas: La Ecdisona u hormona de muda y la Hormona juvenil (JH), cuando existe mayor cantidad ecdisona se produce la muda. La concentración circulante de hormona juvenil es máxima en los estados tempranos de la larva y bajan a un mínimo al final del periodo de pupa. La metamorfosis ocurre cuando la hormona juvenil desaparece de la circulación; por lo tanto una alteración en la relación concentración hormonal y estadio de desarrollo, conllevará a un desarrollo anormal. También se cuentan con los Inhibidores del desarrollo de los insectos (IDIs) (diflubenzurón, lufenurón) que interfieren con la formación de una nueva cutícula, ocasionando rompimiento o malformaciones durante la muda, al impedir el desarrollo del exoesqueleto del insecto por la inhibición de la síntesis de quitina o de las vías de su deposición; de esa manera las larvas no puedan salir del huevo (Blagburn y Lindsay., 2001; Leguía, 2002).

La Permetrina pertenece a la clase de los insecticidas y acaricidas piretroides tipo I y actúa también como repelente. Los piretroides afectan a los canales de sodio de vertebrados e invertebrados. Los piretroides se denominan “bloqueadores de canal abierto” afectando al canal del sodio ya que ralentizan tanto las propiedades de activación como de inactivación, dando lugar a un estado de hiperexcitación y muerte del parásito (Bayer, 2009). Controla pulgas, garrapatas por 4 semanas (Boyce, 2000). Efectos secundarios pueden incluir sensibilidad en la piel y letargia (Boyce, 2000). Algunos artrópodos pueden degradar los piretroides en su cuerpo; por esta razón, a menudo estos se combinan con el sinergista piperonil butóxido que previene esta inactivación (Barriga, 2002).

El butóxido de piperonilo es un sinérgico de pesticidas. Por sí mismo no tiene propiedades pesticidas. Sin embargo, cuando se añade a compuestos pesticidas, tales como con los insecticidas; piretrina, piretroides, y carbamatos, su potencia es incrementada considerablemente. El butóxido de piperonilo es un potente inhibidor del Citocromo P450. Esta familia de enzimas son las principales que actúan en los mecanismos de detoxificación de muchos pesticidas. Inhibiendo los mecanismos de detoxificación permite que las concentraciones del insecticida dentro del organismo sean mayores ya que impide su metabolización haciendo que permanezca más tiempo dentro del cuerpo del insecto u organismo a eliminar (NPIC, 2000).

Por otro lado, el dinotefuran es un insecticida perteneciente al grupo de los neonicotinoides, en la sub clase de la nitroguanidina. Posee acción sistémica, de contacto y por ingestión; y afecta el sistema nervioso central de los insectos al ser un agonista nicotínico de receptores de acetilcolina (FAO, 2013). Es una molécula foto estable y de gran seguridad para su uso en mamíferos. Se ha demostrado que tiene acción sinérgica con permetrina contra la pulga adulta y garrapatas y en combinación con piriproxifen puede expandir su actividad de pulgas para incluir huevos, larvas y pupas.

Podemos inferir así, que la combinación del fipronil, pyriproxyfen, dinotefuran, permetrina y butóxido de piperonilo podría ser una muy buena alternativa en el control de ectoparásitos, entre ellos, las pulgas.

9. Fecha de Estudio y duración

El estudio se inició en Setiembre del 2016 y se culminó en Marzo del 2017. Tuvo una duración de 7 meses.

10. Materiales y Métodos

10.1. Diseño experimental

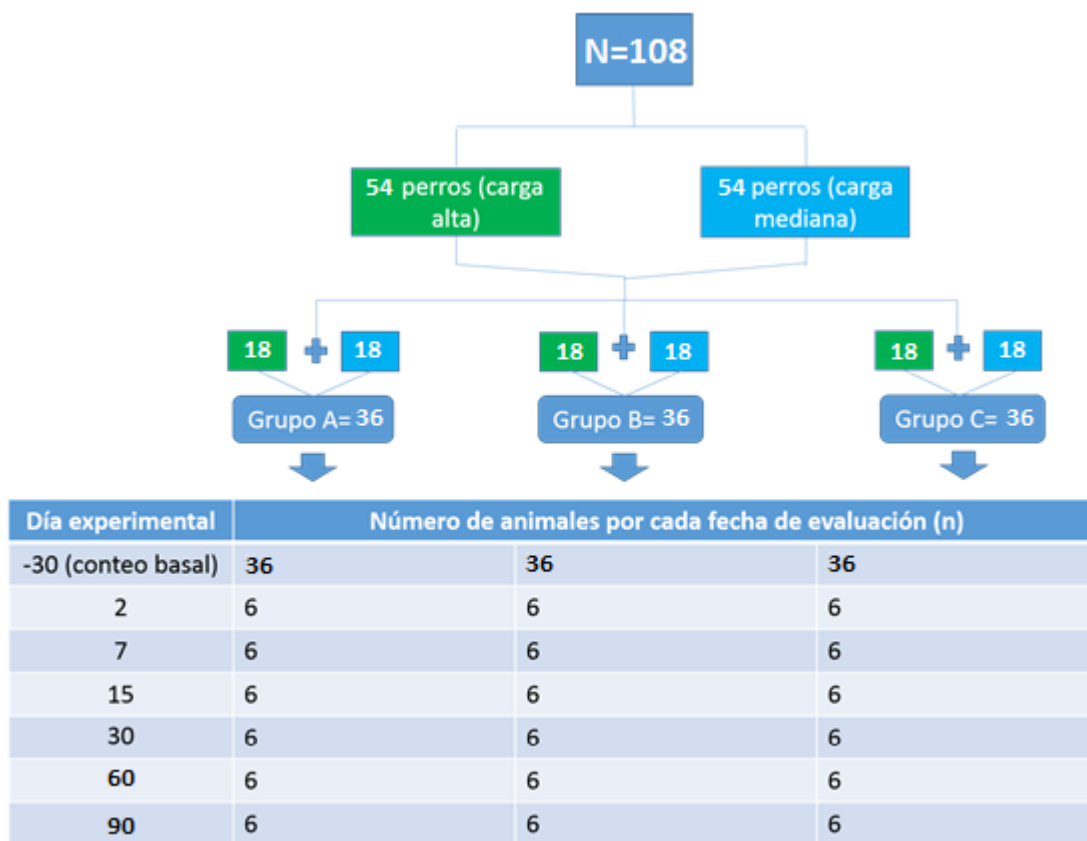
El presente estudio propone un diseño aleatorio por bloques, donde un canino representará una unidad experimental. Se establecieron dos grupos experimentales de 36 animales cada uno, el Grupo Tratamiento (Grupo A) recibió una solución a base de Fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Drop on) a una dosis de 6,75 a 13.5 mg/kg de Fipronil, 6.75 a 13.5 mg/Kg de Piriproxifen, 8.7 a 17.4 mg/Kg de Dinotefuran, 1.5 a 3 mg/Kg de Butoxido de piperonilo y 54 a 108 mg/Kg de permetrina, vía topical, el Grupo Control Positivo (Grupo B) recibió Fipronil a una dosis de 6,7 mg/kg de peso vivo (p.v.), vía topical, y el Grupo Control Negativo (Grupo C) recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal. El día de tratamiento se estableció como día experimental "0".

Se empleó un método de randomización estratificada restrictiva empleando una tabla de números aleatorios. Se realizó un recuento de pulgas al día experimental "- 30" mediante la técnica del peine fino descrita por (Dryden, Boyer, and Smith 1994), en base al cual los animales fueron divididos en dos estratos según su carga parasitaria, considerando como punto de división el promedio geométrico obtenido. Así, se tuvieron: el estrato de perros con carga alta de pulgas y el estrato de perros con carga mediana de pulgas. El período de conteo de 30 días antes de iniciar el tratamiento fue determinado por estudios previos como el tiempo adecuado para permitir la re-infestación de los animales después de la extracción de pulgas durante el conteo (datos no publicados).

Los 36 animales de cada estrato, fueron aleatoriamente distribuidos en los tres grupos experimentales (18 animales de cada estrato por grupo experimental). De esta manera cada grupo constó de 36 animales (18 perros con carga alta de pulgas y 18 perros con carga mediana de pulgas).

A su vez, los 36 animales de cada grupo experimental (2 estratos de 18 animales) fueron distribuidos aleatoriamente en 6 bloques, de 6 animales c/u (3 animales de cada estrato), para su evaluación en 6 diferentes fechas de muestreo. De esta manera el proceso de extracción y conteo de pulgas no interfirió con la eficacia real de cada tratamiento, dado que los animales fueron sometidos a un conteo con extracción total de pulgas y sólo estuvieron expuestos a infestación natural. Además, en cada canil se mantuvieron en promedio 5 animales sin tratamiento para que sirvieran como fuente de re-infestación.

Para un mejor entendimiento del diseño experimental se presenta el siguiente esquema:



El estudio fue enmascarado para el personal encargado del cuidado y alimentación de los animales, así como para los veterinarios encargados de realizar el conteo de pulgas.

La evaluación de la eficacia se realizó a los 2, 7, 15, 30, 60 y 90 días post tratamiento, en base al número de pulgas total de cada animal.

Luego de la aplicación del tratamiento, los animales fueron evaluados clínicamente dentro de los 15 y 30 minutos posteriores al tratamiento para determinar la posible presencia de efectos adversos.

10.2. Selección e identificación de animales

Se seleccionaron 108 caninos mayores de 6 meses, de ambos sexos, de cualquier raza, de pelo corto a mediano, de buena condición clínica, provenientes del albergue canino antes mencionado.

Los animales fueron identificados mediante su nombre, asignándoles un número de identificación. Para lograr el reconocimiento durante el seguimiento se les colocó una cinta con su nombre y número de identificación, y se obtuvo un registro fotográfico de cada uno. La información de todos los animales tales

como nombre, número de identificación, sexo, peso, edad, raza, fue registrada en la ficha de identificación incluida en el formato de ensayo clínico respectivo.

10.3. Criterios de Inclusión, Exclusión y Post-Exclusión

Se incluyeron animales con una infestación mayor a 5 pulgas por animal, según lo recomendado en estudios bajo infestaciones naturales (Marchiondo et al. 2013). Se excluyeron hembras lactantes, gestantes, animales que estuvieran recibiendo tratamientos que puedan interaccionar con el PFVI y animales que hayan recibido tratamiento antipulgas durante los 60 días antes del inicio del tratamiento.

Si algún animal pudiera tener una reacción adversa, o sufrir alguna condición morbose que requiera tratamiento y aislamiento, durante el curso del estudio, será excluido del estudio.

10.4. Manejo de los animales experimentales

Los caniles fueron construidos de madera y el piso es de tierra. Los animales contaron con dormideros en base a madera y colchones. La zona de estudio presentó las condiciones epidemiológicas requeridas para permitir la re-infestación de los animales tratados. La dieta de los animales fue a base de comida balanceada. Recibieron agua ad libitum.

Los animales no fueron bañados ni peinados durante la duración del estudio. Los animales no tuvieron contacto con los animales de otros caniles durante todo el periodo de estudio. No se emplearon otros productos con propiedades insecticidas durante el desarrollo del estudio.

10.5. Producto Farmacéutico Veterinario en Investigación (PFVI), producto control

El PFVI fue una solución a base de Fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Drop on). Presentación para ser administrada vía topical.

Los productos controles fueron dos:

- Control Positivo: una fórmula comercial conteniendo Fipronil al 10%. Presentación para ser administrada vía topical.
- Control Negativo: placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal, a ser aplicado vía topical.

Los productos fueron almacenados de acuerdo a las recomendaciones del laboratorio o al certificado de análisis del producto, según aplique.

10.6. Tratamiento

El Grupo A recibió una solución a base de Fipronil, piriproxifen, butóxido de piperonilo, permetrina y dinotefuran (Fipronex® G5 Spot on a una dosis de 6,75 a 13.5 mg/kg de Fipronil, 6.75 a 13.5 mg/Kg de Piriproxifen, 8.7 a 17.4 mg/Kg de Dinotefuran, 1.5 a 3 mg/Kg de Butoxido de piperonilo y 54 a 108 mg/Kg de permetrina, vía topical.

El Grupo B recibió Fipronil a una dosis de 6,7 mg/kg de peso vivo (p.v.), vía topical.

El Grupo C recibió placebo (excipiente puro sin sustancia activa) a una dosis de 2ml por animal.

El día de tratamiento se estableció como día experimental "0". Para el cálculo de la dosis total a ser administrada, los animales fueron pesados con una balanza electrónica. El tratamiento se aplicó en un único punto, en diferentes puntos, o en una línea en el lomo, tomando como referencia la base del cuello, entre la unión de los dos hombros, según las recomendaciones del producto.

10.7. Disposición final de animales y del PFVI

Posterior al periodo de estudio los animales continuaron viviendo en el albergue bajo el manejo habitual que vienen recibiendo.

El PFVI y productos controles que no fueron utilizados fueron llevados al laboratorio para su adecuada eliminación.

10.8. Evaluación de Efectividad / Eficacia

Para determinar la carga de pulgas se utilizó la técnica del peine fino descrita por Dryden et al, 1994. Para el desarrollo de la técnica de extracción de pulgas, se formaron grupos de trabajo con dos personas capacitadas en la técnica. Cada grupo experimental fue evaluado por los mismos grupos de trabajo. Para ello, cada animal fue colocado en una caja de cartón forrada con papel kraft, luego fueron espolvoreados con metil-carbamato para facilitar la extracción de las pulgas y posteriormente fueron peinados durante 10 minutos. Si un número menor a 5 pulgas vivas fueron recuperadas durante los 10 primeros minutos, el peinado se dió por finalizado. Si se encontraron más de 5 pulgas vivas en los 10 primeros minutos de peinado, el animal fue peinado por 10 minutos adicionales. Una vez finalizado el peinado, el perro fue retirado y el papel conteniendo las pulgas fue doblado y sellado hasta ser llevado al laboratorio en el cual se realizó el conteo respectivo. A su vez, se realizó la identificación de las especies de pulgas.

Se evaluó la eficacia en base al porcentaje de reducción del número de pulgas, según la siguiente fórmula (Gordis 2004):

$$Eficacia (\%) = \frac{(x_{d=-30}) - (x_{d=2,7,15,30,60,90})}{x_{d=-30}} \times 100$$

Donde:

x= promedio geométrico de pulgas

d= día post tratamiento

Se identificó a los animales que presenten dermatitis alérgica por pulgas, a los cuales se les realizó una observación clínica diaria, para evaluar si el tratamiento mejora la condición. Así mismo, en cada período de evaluación se determinó la presencia y gravedad de: prurito, eritema, descamación, pápulas y alopecia.



10.9. Métodos estadísticos

Se esperó que el tratamiento con Fipronex® G5 Drop on obtenga una eficacia mayor que el grupo control negativo en un 90%. En base a esta hipótesis, se calculó el tamaño muestral empleando la fórmula de diferencia de proporciones, obteniéndose 5 animales como mínimo por cada bloque de cada grupo experimental, bajo un 95% de nivel de confianza y 80% de poder.

Se utilizó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y de dispersión para presentar los datos obtenidos. Para comprobar la distribución normal de los datos se utilizó el test de Shapiro-Wilk. Si los datos presentaron una distribución con cola a la izquierda, se procedió a realizar la transformación logarítmica de los datos con el fin de que se aproximen a la distribución normal (Petrie and Watson 2013). Se calculó el promedio geométrico y su respectivo intervalo de confianza, definido por el promedio de los valores logarítmicos ± 1.96 veces su desviación estándar (95% confianza), según lo descrito (Petrie and Watson, 2013). Así mismo, se realizó el análisis de varianza para determinar la existencia de diferencia estadística entre los grupos experimentales, y el test de Bonferroni para determinar los grupos que presentan tal diferencia. A su vez, se realizó un test de Student pareado para determinar la diferencia estadística entre la medida basal de cada observación con el conteo respectivo post-tratamiento. Para el desarrollo del análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Stata® v. 11.1.

10.10. Manejo de Datos Crudos

Para el registro de las variables se empleará la ficha de ensayo clínico (identificación y monitoreo) así como fichas de monitoreo diario. Las fichas, los resultados de laboratorio y las bases de datos serán almacenados en físico y en virtual en el área de Sanidad Animal de Agroveter Market S.A.

11. Evaluación de Efectos adversos (EA)

Luego de la aplicación del tratamiento, los animales serán evaluados clínicamente dentro de los 15 y 30 minutos posteriores al tratamiento para determinar la posible presencia de efectos adversos. A su vez, los animales serán monitoreados diariamente para la observación de posibles reacciones adversas, tanto reacciones locales en el área de aplicación del producto, como reacciones sistémicas. De existir alguna reacción adversa al producto, el animal afectado será excluido del estudio y los EA serán reportados en el informe final de estudio.

12. Resultados

En el cuadro N°1 se muestran los resultados obtenidos en el presente trabajo. El grupo C (placebo) fue retirado del estudio, debido a la excesiva cantidad de ectoparásitos que presentaron al día 1, y por motivos humanitarios, todos fueron tratados.



Cuadro N°1. Efectividad del Fipronex G5 y Fipronil al 10% en el control de pulgas en caninos naturalmente infestados en Cieneguilla, 2017

| GRUPO | | DÍAS POST-TRATAMIENTO | | | | | | |
|------------------|----------|-----------------------|-------------------|----------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | | -30 | 2 | 7 | 15 | 30 | 60 | 90 |
| A (FIPRONEX G5) | PG | 33.94 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 14.56 ^a |
| | Eficacia | - | 100.00% | 100.00% | 100.00% | 100.00% | 100.00% | 57.01% |
| B (FIPRONIL 10%) | PG | 36.65 ^a | 7.22 ^a | 0 ^a | 20.44 ^b | 10.5 ^b | 16.48 ^b | 85.86 ^b |
| | Eficacia | - | 80.30% | 100.00% | 44.23% | 71.35% | 55.03% | -134.27% |
| C (PLACEBO) | PG | 33.92 ^a | - | - | - | - | - | - |
| | Eficacia | - | - | - | - | - | - | - |

Se evidencia la efectividad del 100% desde el día 2 hasta el día 60 post-tratamiento del grupo A (Fipronex G5). Se observa una diferencia estadística entre los tratamientos a partir del día 15 hasta el día 90.

13. Conclusiones

- El tratamiento con la combinación Fipronil + Piriproxifen + Dinotefuran + Permetrina + Butoxido de piperonilo (Fipronex® G5) presentó una eficacia de 100% a partir de los 2 días post-tratamiento, para el control de pulgas en caninos naturalmente infestados.
- El periodo residual de para el Fipronil + Piriproxifen + Dinotefuran + Permetrina + Butoxido de piperonilo (Fipronex® G5) en control de pulgas en caninos es de 60 días, con una eficacia del 100% y de 90 días con una eficacia e 57.01%.
- El empleo de la combinación Fipronil + Piriproxifen + Dinotefuran + Permetrina + Butoxido de piperonilo (Fipronex® G5) para el control de pulgas en caninos es más eficaz que el uso individual de Fipronil.

14. Autores del RF

Luis Alfredo Chávez Balarezo

M.V. Supervisor de Investigación en Sanidad Animal
Agroveter Market S.A.

15. Referencias Bibliográficas

- Bayer Hispania SL. 2011 Advantix. VS06.
Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales Domésticos en la América Latina. Santiago de Chile. p 247
Blagburn BL; DS. Linsay 2001 Ectoparasiticidas. (En: Adams R. Farmacología y Terapéutica Veterinaria) p. 1101-1104. 2da. Ed. Editorial Acribia. Zaragoza España.



- Boyce P, Wanamaker C, Pettes L. Applied Pharmacology for the Veterinary Technician. Second Edition. USA: Saunders Company. pp: 246-247.
- Brunet S, Le Meter C, Murray M, Soll M, Audonnet JC. 2009. Rdl gene polymorphism and sequence analysis and relation to in vivo fipronil susceptibility in strains of the cat flea. J Econ Entomol. 2009 Feb; 102(1):366-72.
- Dryden MW, Boyer JE, Smith V. 1994. Techniques for estimating on-animal populations of Ctenocephalides felis (Siphonaptera: Pulicidae). J. Med. Entomol. 31:631-634.
- Estares L.P. 1999 Prevalencia de ectoparásitos en Canis familiares en los distritos de San Juan de Lurigancho, San Martín de Porras, Comas e Independencia de Lima Metropolitana. Tesis Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. 21p.
- Gordis L. 2004. Epidemiology. Edición: 3. Philadelphia, Pa: Saunders.
- Leguía GP. 2002. Enfermedades Parasitarias de perros y gatos, epidemiología y control. Editorial del Mar. 2 da Edición. Lima – Perú.
- Liberato W. 1998 Prevalencia de ectoparásitos en Canis familiares en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. 21p.
- Makowski, C. 1985. Natural Flea Control. Mother earth News May/June. St., Topeka, Kansas.
- Marchiondo AA, Holdsworth PA, Fourie LJ, Rugg D, Hellmann K, Snyder DE, Dryden MW, World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 2013. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition: guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. Vet. Parasitol. 194:84-97.
- NPIC. 2000. National Pesticide Information Center - Piperonyl Butoxide General Fact Sheet.
- Payne PA, Dryden MW, Smith V, Ridley RK. 2001. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, Ctenocephalides felis (Bouché), strains infesting cats.
- Petrie A, Watson P. 2013. Statistics for Veterinary and Animal Science. Wiley.
- Rojas, Marcelo. 2004. Nosoparasitosis de los rumiantes domésticos. 2° Edición. Perú.