

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 53, No 1 (2002)



### Efficacy and safety of selamectin of flea infestation in dogs

S. SOTIRAKI (Σ. ΣΩΤΗΡΑΚΗ), C. HIMONAS (Χ. ΧΕΙΜΩΝΑΣ), P. DEBOUCK, G. BITSAS (Γ. ΜΠΙΤΖΑΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15362](https://doi.org/10.12681/jhvms.15362)

Copyright © 2018, S SOTIRAKI, C HIMONAS, P DEBOUCK, G BITSAS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

### To cite this article:

SOTIRAKI (Σ. ΣΩΤΗΡΑΚΗ) S., HIMONAS (Χ. ΧΕΙΜΩΝΑΣ) C., DEBOUCK, P., & BITSAS (Γ. ΜΠΙΤΖΑΣ) G. (2018). Efficacy and safety of selamectin of flea infestation in dogs. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 53(1), 78–85. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15362>

## Αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της σελαμεκτίνης (STRONGHOLD) κατά των ψύλλων στο σκύλο

Σ. Σωτηράκη<sup>1</sup>, Χ. Χειμωνάς<sup>1</sup>, P. Debouck<sup>2</sup>, Γ. Μπίτζας<sup>3</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Σκοπός του πειραματισμού αυτού ήταν η επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της σελαμεκτίνης εναντίον των φυσικών μολύνσεων του σκύλου από ψύλλους του γένους *Ctenocephalides*. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά είκοσι σκύλοι φυσικώς μολυσμένοι από ψύλλους. Η χορήγηση του φαρμάκου έγινε στη δόση των 6 mg/kg τοπικά μία φορά το μήνα και για 3 συνεχόμενους μήνες. Ο πειραματισμός διήρκεσε 90 ημέρες και όλα τα ζώα ολοκλήρωσαν τη μελέτη χωρίς κανένα πρόβλημα. Μετά από την πρώτη χορήγηση του φαρμάκου βρέθηκε ένας μόνο ζωντανός ενήλικος ψύλλος σε ένα ζώο την ημέρα 30 (Η 30) που μείωσε κατά 99,7% ( $p < 0,00001$ ) το γεωμετρικό μέσο όρο σε σύγκριση με την αρχή της μελέτης. Την ημέρα 30 βρέθηκαν νεκροί ψύλλοι σε 3 ζώα (1 ή 2 ανά ζώο). Τις ημέρες 60 και 90 δεν βρέθηκαν ψύλλοι (νεκροί ή ζωντανοί) στα ζώα. Την ημέρα έναρξης της μελέτης (Η 0) το 70% των ζώων παρουσίαζαν ποικίλου βαθμού κλινικά συμπτώματα παρασίτωσης από ψύλλους. Τα συμπτώματα αυτά μειώθηκαν σταδιακά και στο τέλος του πειραματισμού (Η 90) αλλοιώσεις βρέθηκαν μόνο σε ένα ζώο, εντοπιζόμενες σε ένα σημείο του σώματός του. Σε όλα τα υπόλοιπα ζώα τα συμπτώματα απουσίαζαν πλήρως. Δεν παρατηρήθηκε καμία παρενέργεια μετά τη θεραπεία των ζώων. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι οι 3 συνεχόμενες μηνιαίες δόσεις της σελαμεκτίνης είναι πολύ αποτελεσματικές και ασφαλείς για την εξολόθρευση και τον έλεγχο των ψύλλων στο σκύλο.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** σελαμεκτίνη, *Ctenocephalides*, σκύλος

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα από τα πιο σημαντικά εξωπαράσιτα του σκύλου και της γάτας με παγκόσμια εξάπλωση είναι ο ψύλλος. Συγκεκριμένα στα δύο αυτά είδη ζώων, με τη μεγαλύτερη ανά τον κόσμο συχνότητα ανευρίσκεται ο ψύλλος της γάτας *Ctenocephalides felis*. Αρκετά συχνά ανευρίσκεται και ο ψύλλος του σκύλου *Ctenocephalides canis*, που μπορεί επί-

## Efficacy and safety of selamectin of flea infestation in dogs.

Sotiraki S.<sup>1</sup>, Himonas C.<sup>1</sup>, Debouck P.<sup>2</sup>, Bitsas G.<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** The study was conducted at three dog shelters in Thessaloniki Greece, to confirm the efficacy and safety of selamectin at a minimum dosage of 6 mg/kg administered topically as a monthly dose repeated three times in the treatment of natural infestations of *Ctenocephalides* spp. Twenty (20) dogs, with confirmed naturally acquired flea infestations, were enrolled in the study as primary patients. All animals completed the study on day 90. Twenty-two in contact dogs were also treated but not evaluated for efficacy (secondary patients). There was no untreated group. Only one live adult flea was recovered on only one animal on study day 30, a reduction of the geometrical mean of 99.7 % ( $p < 0.0001$ ) compared to the start of the study. Dead fleas were found on 3 animals at day 30 (1 or 2 per animal). No live or dead fleas were found on day 60 or on day 90. At study beginning on Day 0, seventy percent of study animals had various clinical signs of flea infestation. These signs gradually decreased and by the end of the study on day 90, only one animal remained with a score of 1, indicating a low intensity in a single area of the body. All other animals were free of clinical signs. No abnormal clinical signs or suspected adverse drug reactions were observed after treatment of the 20 primary or the 22 secondary patients. The data collected confirm that under field conditions three consecutive monthly doses of selamectin are highly effective and safe in the treatment and control of fleas in dogs.

**Key words:** selamectin, *Ctenocephalides*, dog

## INTRODUCTION

Fleas are recognized as the major cause of skin disease in dog and cats worldwide. More precisely, the cat flea *Ctenocephalides felis* is the most commonly found species and also the most important ectoparasite of companion animals. It has been estimated that flea-related diseases are responsible for over 50% of dermatological cases reported

<sup>1</sup> Εργαστήριο Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

<sup>2</sup> Pfizer Animal Health, European Clinical Development, Belgium

<sup>3</sup> Pfizer Hellas A.E.

Ημερομηνία υποβολής: 20.09.2001

Ημερομηνία εγκρίσεως: 05.02.2002

<sup>1</sup> Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, A.U.T.

<sup>2</sup> Pfizer Animal Health, European Clinical Development, Belgium

<sup>3</sup> Pfizer Hellas A.E.

Submission date: 20.09.2001

Approval date: 05.02.2002



σης, να παρασιτεί τόσο στο σκύλο όσο και στη γάτα<sup>1,2,3</sup>, η συχνότητα ανεύρεσής του όμως είναι συνήθως μικρότερη από τον *C. felis*<sup>1,3,4</sup>. Σύμφωνα με τους Rust και Dryden (1997)<sup>5</sup> τα συνδεδεμένα με τη μόλυνση από ψύλλους νοσήματα είναι υπεύθυνα για περίπου 50% των δερματολογικών περιστατικών που εξετάζουν οι κτηνίατροι και αποτελούν το 35% της συνολικής επαγγελματικής απασχόλησής τους. Σε ό,τι αφορά ελληνικά δεδομένα, έχει αναφερθεί ότι στο 31,8%<sup>6</sup> και στο 30%<sup>7</sup> των περιστατικών ατοπικής δερματίτιδας στο σκύλο και στη γάτα αντίστοιχα, διαπιστώθηκε αλλεργική από ψύλλους δερματίτιδα.

Οι ψύλλοι, ως επί το πλείστον, προκαλούν ερεθισμό με το νύγμα τους. Επιπρόσθετα, τα αντιγόνα που περιέχονται στο σάλιο τους προκαλούν αρκετά συχνά αλλεργική δερματίτιδα τόσο στο σκύλο όσο και στη γάτα<sup>5,8,9</sup>. Είναι επίσης ενδιαμέσιοι ξενιστές του κεστώδους *Dipylidium caninum*, το οποίο και μεταδίδουν στο σκύλο. Ο παρασιτισμός από ψύλλους μπορεί επίσης να προκαλέσει αναιμία, η οποία σε περιπτώσεις έντονου παρασιτισμού μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε θάνατο<sup>9,10</sup>.

Η καταπολέμηση του παρασιτισμού αυτού θεωρείται κατά κανόνα πολύ δύσκολη, κυρίως εξαιτίας της μεγάλης αναπαραγωγικής ικανότητας και της ιδιόμορφης βιολογίας του παρασίτου. Η θεραπευτική αντιμετώπιση περιλαμβάνει συνήθως την εφαρμογή εντομοκτόνων τοπικά στο ζώο και την παράλληλη χρήση τέτοιων ουσιών και στο περιβάλλον. Για το σκοπό αυτό στην αγορά κυκλοφορεί μεγάλος αριθμός ουσιών σε διάφορες μορφές (σαμπουάν, σπρέι, σκόνη, κολάρα) τόσο για χορήγηση στο ζώο (σπρέι, σκόνη και εκνεφώσεις) όσο και για την καταπολέμηση των διαφόρων μορφών του παρασίτου στο περιβάλλον<sup>3</sup>. Τα τελευταία μάλιστα χρόνια έχει παρατηρηθεί ότι η αντοχή που εμφανίζουν οι ψύλλοι σε αρκετές ομάδες εντομοκτόνων φαρμάκων αυξάνεται σταδιακά<sup>3,11</sup> και ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά τον *C. felis*, ο οποίος φαίνεται να εμφανίζει αντίσταση στις περισσότερες ομάδες χημικών φαρμάκων<sup>12</sup>.

Πρόσφατα έχει κυκλοφορήσει στην αγορά μια νέα ομάδα εντομοκτόνων ουσιών, οι οποίες εφαρμόζονται επίσης τοπικά στο ζώο με μορφή σπρέι/spot on και δρουν εναντίον των ενηλίκων ψύλλων. Τέτοιες ουσίες είναι το fibronil και το nitenpyram. Όμως παρά την πληθώρα των διαθέσιμων σκευασμάτων που κυκλοφορούν και στην ελληνική αγορά, ο παρασιτισμός από ψύλλους εξακολουθεί να αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τους σκύλους και τις γάτες.

Η σελαμεκτίνη (STRONGHOLD™, Pfizer New York) είναι ένα καινούργιο ενδο- εξωπαρασιτοκτόνο της ομάδας των αβερμεκτινών που έχει κυκλοφορήσει πρόσφατα στην αγορά<sup>13</sup>. Σε ό,τι αφορά τις αβερμεκτίνες γενικότερα, οι οποίες χημικά χαρακτηρίζονται ως μακροκυκλικές λακτόνες με 16 μέλη, είναι μια ομάδα παρασιτοκτόνων ουσιών με δράση εναντίον των ακάρεων, εντόμων και νηματωδών παρασίτων και κυκλοφορούν εδώ και αρκετά χρόνια στην παγκόσμια αγορά με ενδείξεις που αφορούν κυρίως τα παραγωγικά ζώα και τα άλογα. Ορισμένες αβερμεκτίνες (ivermectin, milbemycin oxime, moxidectin) εί-

to veterinarians and 35% of total veterinarian effort. *Ctenocephalides canis* is also parasitise both dogs and cats<sup>1,2,3,4,5</sup>. According to Greek data 31.8% and 30% of atopic dermatitis cases from dogs and cats respectively, found to show flea allergic dermatitis<sup>6,7</sup>.

Flea infestations cause skin irritation and allergic dermatitis in host animals and may lead to infection with the tapeworm *Dipylidium caninum*, for which *Ctenocephalides* spp. are intermediate hosts<sup>5,8,9</sup>. Flea infestation also may lead to anaemia, occasionally leading to death, particularly if the host animal is small and heavily parasited<sup>9,10</sup>.

Due to the cat flea's tremendous reproductive capacity and unique biology, the control of fleas on dogs and cats has been a difficult task that requires continuous and diligent efforts. Various insecticides have been developed for flea control and they are available as shampoos, sprays, foams, dips, powders, collars and topical formulations to apply directly to the animal and as sprays, powders and fogs for application to the premises and environment<sup>3</sup>. Insecticide resistance among flea population appear to be increasing, with multiple categories now involved<sup>3,11</sup> and *C. felis* is reported to be resistant to more chemical categories than any other flea species<sup>12</sup>.

More recently, several new classes of drugs for application to the animal as spray/spot-on treatments have been introduced, such as fibronyl and nitenpyram. However, despite the large number of products and modes of application available, infestation of dogs and cats with fleas continues to be a problem for many pet owners.

Selamectin (STRONGHOLD™, Pfizer New York) is a novel topically applied single-entity avermectin endo- and ecto-parasiticide recently released<sup>13</sup>. The avermectins (16-membered macrocyclic lactones) are a class of anti-parasitic compounds, which have acaricidal, insecticidal, and nematocidal activity available for several years for use in livestock and horses. The avermectins (ivermectin, milbemycin oxime, moxidectin) are currently licensed for use in companion animals against only internal parasites. Selamectin, which is available as a spot-on, is the first avermectine endo- and ecto-parasiticide for use in dogs and cats against flies (adults, larvae, eggs) mites, heartworms, roundworms and hookworms<sup>13</sup>.

The following study was designed to confirm the efficacy and safety of selamectin in the treatment and control of natural infestations of fleas in dogs.

## MATERIALS AND METHODS

### Study animals:

The dogs included in the study belonged to various breeds and crossbreeds, males and females and to various age groups (> 6 months). Owners provided individual animal identification. All the animals were of good health throughout the study.



ναι εγκεκριμένες επίσης και για ζώα συντροφιάς, έχουν όμως ένδειξη μόνο για ενδοπαράσιτα. Σε αντίθεση η σελαμεκτίνη, που κυκλοφορεί με τη μορφή διαλύματος επίχυσης σε σημείο (spot-on), έχει σχεδιαστεί από την αρχή για την καταπολέμηση τόσο των εξωπαρασίτων (ενήλικοι ψύλλοι, αυγά και προνύμφες ψύλλων, ψώρες) όσο και των ενδοπαρασίτων (δироφιλάριες, ασκαρίδες, αγκυλοστόματα) στο σκύλο και τη γάτα<sup>13</sup>.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του νέου αυτού σκευάσματος κάτω από συνθήκες φυσικής μόλυνσης στο σκύλο.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Σκύλοι που χρησιμοποιήθηκαν:

Οι σκύλοι που περιελήφθησαν σε διάφορες φυλές και διασταυρώσεις και στα δύο φύλα, ήταν ποικίλων σωματικού βάρους και ηλικίας μεγαλύτερης των 6 εβδομάδων. Ως σήμανση χρησιμοποιήθηκε αυτή του εκάστοτε ιδιοκτήτη. Από τη στιγμή της πρώτης δειγματοληψίας, όπως και αργότερα καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, όλοι οι σκύλοι βρισκόνταν σε καλή θρεπτική κατάσταση και γενική κατάσταση υγείας.

### Διαχείριση των ζώων

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε από το Δεκέμβριο του 1999 έως και τον Αύγουστο του 2000 σε τρία διαφορετικά κυνοκομεία και συγκεκριμένα στο:

**Κυνοκομείο 1:** το αποτελούσαν 20 ζώα, από τα οποία τα 5 πήραν μέρος στη μελέτη ως κύριοι ασθενείς και τα υπόλοιπα 15 ως δευτερεύοντες ασθενείς.

**Κυνοκομείο 2:** το αποτελούσαν 400 περίπου ζώα και υπήρχε δυνατότητα απομόνωσης των μολυσμένων από ψύλλους ζώων κατά τη διάρκεια του πειραματισμού σε ξεχωριστό χώρο χωρίς να έρχονται σε επαφή με τα υπόλοιπα ζώα του κυνοκομείου. Στη μελέτη πήραν μέρος 10 ζώα (όλα κύριοι ασθενείς).

**Κυνοκομείο 3:** το αποτελούσαν 12 ζώα από τα οποία τα 5 αποτέλεσαν κύριους ασθενείς και τα υπόλοιπα 7 δευτερεύοντες ασθενείς.

Όλοι οι ιδιοκτήτες των ζώων, αφού ενημερώθηκαν για το σκοπό της μελέτης, έδωσαν εγγράφως τη συγκατάθεσή τους για τη διεξαγωγή του πειραματισμού. Επίσης υπάρχει και σχετική άδεια από τη Διεύθυνση Κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης (αριθμ. εγγράφου 13/8028, 1-10-99).

Οι συνθήκες διαμονής και διατροφής των ζώων παρέμειναν όπως είχαν. Επίσης στα κυνοκομεία 1 και 3 οι κύριοι ασθενείς συνέχισαν να έρχονται σε επαφή με τα υπόλοιπα ζώα (δευτερεύοντες ασθενείς) του κυνοκομείου, τα οποία θεραπεύτηκαν ομοίως. Σε καμία περίπτωση δεν υπήρχε επαφή με ζώα εκτός του εκάστοτε κυνοκομείου.

### Παράσιτα

Φυσική μόλυνση με *Ctenocephalides* spp. Απαραίτητη προϋπόθεση για να συμπεριληφθεί ένα ζώο ως κύριος α-

## Management

The animals were coming from 3 different shelters and more precisely:

**Shelter one:** 20 dogs of which 5 as principal test animals (primary patients) and the rest 15 as secondary patients.

**Shelter two:** 10 dogs (all primary patients) kept in isolation in the quarantine facilities of a 400-dog shelter.

**Shelter three:** 12 dogs of which 5 as primary patients and the rest 7 as secondary patients.

The owners or caretakers of the shelters gave their permission after being informed about the aim of the study. The local Veterinary authorities also gave permission for conducting the study.

Dogs were kept in normal shelter arrangements and there was contact between the principal animals and the other dogs in shelter 1 and 3. The other dogs had also been treated with selamectin. There was no contact with dogs or with cats from outside the shelters.

## Organism

Natural challenge with *Ctenocephalides* spp. Animals included in the study had to have a flea comb count of greater than or equal to 10 fleas when combed before treatment on day 0.

## Procedures

The study was conducted at a three dog shelters in Greece. Twenty animals in total were included in the study as primary patients.

Day 0 of the study was defined as the day on which the animals were treated with selamectin. Prior to treatment on Day 0 the details of each animal were recorded, a clinical examination was performed and each dog was weighed. The body weight was used to determine the correct dosage (table 1). The compound (STRONGHOLD™) in Greece is available as a spot-on in various concentrations (6%, 12%) and quantities (0.25, 0.50, 1.00 and 2.00 ml) regarding to animal species and body weight. The drug was administered in the proposed dosage of 6mg/kg body weight<sup>14</sup>. Treatment was applied topically to the skin of the animal's back between the shoulder blades. Dogs were not allowed to be groomed, washed or to swim within two hours after treatment. Dogs that were in contact with the primary patients ( $\geq 10$  fleas/animal) were designated as secondary patients (none or  $< 10$  fleas/animal) and also received treatment with selamectin. There were a total of 22 secondary patients. Primary and secondary patients were observed about 2 hours after each treatment administration to assess possible reaction to treatment and any abnormality was recorded.

On days 30 and 60, prior to treatment administration, each animal was weighed again (primary and secondary patients), assessed for flea infestation by comb counting, which lasted at least 10 minutes, and clinical examination (primary patients only) and then treated with selamectin



σθηνής ήταν να παρασιτείται το λιγότερο από 10 ενήλικους ψύλλους κατά την εξέταση με την ειδική χτένα πριν από τη θεραπεία την ημέρα 0.

### Πειραματικός σχεδιασμός

Όπως αναφέρθηκε ήδη, ο πειραματισμός έλαβε χώρα σε 3 κυνοκομεία στην ευρύτερη περιοχή Θεσσαλονίκης. Συνολικά 20 σκύλοι αποτέλεσαν τα πειραματόζωα ως κύριοι ασθενείς.

Ημέρα 0 του πειραματισμού ορίστηκε η ημέρα που έγινε η πρώτη χορήγηση σελαμεκτίνης. Πριν από τη χορήγηση του φαρμάκου, καταγράφηκαν λεπτομερώς τα στοιχεία κάθε ζώου, έγινε πλήρης κλινική εξέταση και πάρθηκε το σωματικό του βάρος. Το υπό μελέτη σκεύασμα (STRONGHOLD™) είναι στη χώρα μας διαθέσιμο στο εμπόριο με τη μορφή spot-on σε διαφορετικές περιεκτικότητες (6% και 12%) και ποσότητες (αμπούλες των 0,25, 0,50, 1,00 και 2,00 ml) ανάλογα με το είδος και το σωματικό βάρος του ζώου. Το φάρμακο χορηγήθηκε στη συνιστώμενη δόση των 6 mg /kg ΣΒ<sup>14</sup>. Η ακριβής δόση του φαρμάκου υπολογίστηκε για κάθε ζώο ξεχωριστά σύμφωνα με το ατομικό σωματικό του βάρος (βλ. Πίνακα 1). Η θεραπεία χορηγήθηκε τοπικά στο δέρμα του κάθε ζώου στην περιοχή της ράχης ανάμεσα από τις 2 ωμοπλάτες. Για δύο ώρες μετά τη θεραπεία τα ζώα δεν ήρθαν σε επαφή με νερό. Όλα τα υπόλοιπα σκυλιά του εκάστοτε κυνοκομείου, που έρχονταν σε επαφή με τους κύριους ασθενείς (≥ 10 ψύλλους/ζώο), χαρακτηρίστηκαν ως δευτερεύοντες ασθενείς (κανένας ή < 10 ψύλλους/ζώο) και έλαβαν και αυτά θεραπεία με τον ίδιο τρόπο. Συνολικά υπήρξαν 22 δευτερεύοντες ασθενείς. Τόσο οι κύριοι όσο και οι δευτερεύοντες ασθενείς παρακολούθηθηκαν στενά για 2 ώρες μετά από κάθε χορήγηση του φαρμάκου αλλά και αργότερα, καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, σε ημερήσια βάση, για την παρουσία τυχόν παρενεργειών από τη χρήση του.

Τις ημέρες 30 και 60 πριν από τη χορήγηση του φαρμάκου, κάθε ζώο ζυγιζόταν ξανά (κύριοι και δευτερεύοντες ασθενείς), ελεγχόταν ο παρασιτισμός τους και γινόταν καταμέτρηση των ψύλλων μετά από χτένισμα διάρκειας τουλάχιστον 10 λεπτών με την ειδική χτένα (κύριοι ασθενείς). Οι ψύλλοι που απομακρύνονταν με το χτένισμα επανατοποθετούνταν στο εκάστοτε ζώο. Στη συνέχεια γίνονταν οι θεραπείες με τη σελαμεκτίνη (κύριοι και δευτερεύοντες ασθενείς) με τον ίδιο τρόπο. Την ημέρα 90 έγινε απλώς παρασιτολογική εξέταση για παρουσία ψύλλων.

Για την καλύτερη εκτίμηση και επεξεργασία των αποτελεσμάτων τα κλινικά συμπτώματα παρασιτισμού από ψύλλους που περιελάμβαναν κνησμό, ερύθημα, παρουσία κοπράνων ψύλλου, εφελκίδες, βλατίδες, αλωπεκία και δερματίτιδα/ πυοδερματίτιδα κατηγοριοποιήθηκαν ως εξής:

- Βαθμίδα 0 – απόντα
- Βαθμίδα 1 – ήπια
- Βαθμίδα 2 – μέτρια, και
- Βαθμίδα 3 – έντονα

**Πίνακας 1.** Καθορισμός της δόσης του σκευάσματος STRONGHOLD (αμπούλες spot-on) στο σκύλο.

**Table 1.** Dosage determination of STRONGHOLD in dogs

Σ.Β. / B.W STRONGHOLD (kg)	Περιεκτικότητα Potency (% w/v)	Ποσότητα που χορηγήθηκε (ml) Volume to be administered (ml)
έως / up to 2,5	6	0,25
> 2,5 – 5	12	0,25
> 5 – 10	12	0,50
> 10 – 20	12	1,00
> 20 – 40	12	2,00
> 40 – 60	12	2,00 + 1,00
> 60 – 80	12	2,00 + 2,00

(primary and secondary patients).

Flea comb counts of the number of live adult fleas present on each primary patient and clinical observations were made on Day 0 and on Days 30, 60, and 90 ( $\pm 3$  days). Fleas removed by combing were placed back on the animals.

Clinical signs of flea infestation did incorporate the assessment of pruritus, erythema, flea faeces, scaling, papules, alopecia, and dermatitis/pyodermitis and were scored in the following manner.

- 0 - Absent
- 1 - Mild
- 2 - Moderate
- 3 - Severe

The owners or caretakers of the shelters were informed that the use of medicated shampoos (for example, flea shampoos) or any other drug was not permitted during the study.

### STATISTICAL METHODS

Before statistical analysis flea counts were transformed by taking the natural logarithm of the count + 1. Transformed flea counts were analysed using a general mixed model repeated measures analysis of variance. Pair wise comparisons between period 0 and periods 1, 2 and 3 were made using Fisher's protected LSD. Period least-squares means were calculated. Geometric means were calculated for each period by back-transforming the least-squares means. The number of animals with fleas, the minimum and maximum number of fleas, and the geometric mean number of fleas for each period were calculated. Percentage reductions were calculated using the following formula:

$$\% \text{ Reduction} = \frac{A - B \times 100}{A}$$

where A = Geometric mean flea comb count for period 0

B = Geometric mean flea comb count for period Y, where Y = 1, 2, and 3

Frequency distributions of clinical sign scores were also calculated for each period.

**Πίνακας 2.** Ζωντανοί ενήλικοι ψύλλοι και ποσοστά μείωσης των σκύλων στη διάρκεια του πειραματισμού**Table 2.** Live adult flea count results and percentage of reduction throughout the trial

Ημέρα της μελέτης Day of study	Αριθμός ζώων Number of dogs	Αριθμός ζώων με ψύλλους Number of dogs with fleas	Ελάχιστος αριθμός ψύλλων / ζώο Minimum flea count per dog	Μέγιστος αριθμός ψύλλων / ζώο Maximum flea count per dog	Γεωμετρικός μέσος όρος Geometric mean	% Μείωση Reduction
0	20	20	10	22	12,25	-
περίοδος - period 0						
30	20	1	0	1	0,04	99,7
περίοδος - period 1						
60	20	0	0	0	0,00	100,0
περίοδος - period 2						
90	20	0	0	0	0,00	100,0
περίοδος - period 3						

**Πίνακας 3.** Κατανομή συχνότητας των συμπτωμάτων από μόλυνση με *Ctenocephalides* spp κατά τη διάρκεια του πειραματισμού**Table 3.** Frequency distributions of clinical signs of *Ctenocephalides* spp infestation throughout the trial

Ημέρα της μελέτης Day of study	βαθμίδα 0 score 0	βαθμίδα 1 score 1	βαθμίδα 2 score 2	βαθμίδα 3 score 3
0	6/20	7/20	6/20	1/20
περίοδος - period 0				
30	30,0 %	35,0 %	30,0 %	5,0 %
περίοδος - period 1				
60	12/20	6/20	2/20	0/20
περίοδος - period 2				
90	60,0 %	30,0 %	10,0 %	0,0 %
περίοδος - period 3				
	17/20	2/20	1/20	0/20
	85,0 %	10,0 %	5,0 %	0,0 %
	19/20	1/20	0/20	0/20
	95,0 %	5,0 %	0,0 %	0,0 %

Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού δεν έγινε χρήση κανενός άλλου εξωπαραιοτοκτόνου όπως επίσης και άλλου είδους φαρμάκου στα ζώα.

### Στατιστική επεξεργασία

Αρχικά οι μετρήσεις του αριθμού των ψύλλων μετασχηματίστηκαν με τον υπολογισμό του φυσικού λογαρίθμου της κάθε μέτρησης +1. Οι αριθμοί αυτοί αναλύθηκαν με τη χρήση ενός σύνθετου μοντέλου επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ανάλυσης διακύμανσης. Στη συνέχεια έγιναν συγκρίσεις κατά ζεύγη μεταξύ των ημερών 0 και 30, 60 και 90 με τη χρήση του τεστ πολλαπλών συγκρίσεων (Fisher LSD). Οι μέσες τιμές των αποτελεσμάτων κάθε εξέτασης και οι αντίστοιχοι γεωμετρικοί μέσοι όροι υπολογίστηκαν με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

Υπολογίστηκε επίσης ο αριθμός των ζώων με ψύλλους, ο ελάχιστος και ο μέγιστος αριθμός ψύλλων που ανευρέθηκαν και ο γεωμετρικός μέσος όρος των ψύλλων για κάθε μία από τις παραπάνω εξετάσεις. Η επί τοις εκατό μείωση του παρασιτισμού υπολογίστηκε σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο:

$$\% \text{ Μείωση} = \frac{A - B \times 100}{A}$$

Όπου Α = γεωμετρικός μέσος όρος αριθμού ψύλλων κατά το χτένισμα για την εξέταση κατά την ημέρα 0

Β = γεωμετρικός μέσος όρος αριθμού ψύλλων κατά το χτένισμα για την εξέταση Υ όπου Υ = 1,2 και 3

### RESULTS

Twenty (20) dogs with confirmed naturally acquired infestations of minimum 10 adult fleas were enrolled in the study. All dogs finalized the study.

The results are shown in details on Tables 1 and 2.

Only one live adult flea was recovered on only one animal on study day 30, a reduction of the geometrical mean of 99.7 % ( $p \leq 0.0001$ ) versus the start of the study. Dead fleas were found on 3 animals on day 30 (1 or 2 per animal). No live or dead fleas were found on day 60 or on day 90.

At study beginning on day 0, seventy percent of study animals had various clinical signs of flea infestation. These signs gradually decreased and by the end of the study on day 90, only one animal remained with a score of 1, indicating a low intensity in a small area of the body. All other animals were free of clinical signs.

In shelter three, the dogs were also infested with *Ixodes gibbosus* ticks at the start of the study. At the second treatment, most ticks had disappeared. At the third treatment, *Rhipicephalus sanguineus* ticks were identified. On the last day of the study, one *Rhipicephalus sanguineus* tick was found in one dog.

All primary dogs were in good health on day 0 and remained so for the rest of the study. No abnormal clinical signs or suspected adverse drug events were observed after treatment of the 20 primary patients or the 22 secondary patients.



Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε σε  $p < 0,05$

Σε ό,τι αφορά τις κατηγορίες των κλινικών συμπτωμάτων, υπολογίστηκαν οι κατανομές συχνοτήτων για κάθε χρονική περίοδο.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στους Πίνακες 2 και 3.

Μετά τη χορήγηση του φαρμάκου, ένας μόνο ζωντανός ενήλικος ψύλλος βρέθηκε σε ένα ζώο της μελέτης την Ημέρα 30, και αυτό είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του γεωμετρικού μέσου όρου κατά 99,7% ( $p \leq 0,0001$ ) σε σχέση με την αρχή της μελέτης. Νεκροί ψύλλοι βρέθηκαν σε 3 ζώα την ημέρα 30 (1 ή 2 ανά ζώο). Στις επόμενες εξετάσεις τις ημέρες 60 και 90 του πειραματισμού δεν βρέθηκαν ούτε ζωντανοί ούτε νεκροί ψύλλοι.

Σε ό,τι αφορά την εξέλιξη των κλινικών συμπτωμάτων την ημέρα που ξεκίνησε ο πειραματισμός, το 70% των ζώων παρουσίαζε διάφορα κλινικά συμπτώματα μόλυνσης από ψύλλους. Τα συμπτώματα αυτά μειώθηκαν σταδιακά σε τρόπο ώστε στο τέλος της μελέτης (ημέρα 90) ένα μόνο ζώο να απομείνει στη βαθμίδα 1, που μεταφράζεται σε μικρής έντασης αλλοιώσεις σε περιορισμένη περιοχή του σώματος. Όλα τα υπόλοιπα ζώα ήταν άνευ συμπτωμάτων.

Όλοι οι ψύλλοι που ταυτοποιήθηκαν (δειγματοληπτικά στα ζώα με  $>$  από 10 ψύλλους/ζώο κατά την προκαταρκτική μελέτη και οι νεκροί ψύλλοι κατά τη διάρκεια του πειραματισμού) ανήκαν στο είδος *C. felis*.

Εκτός από τη μόλυνση από ψύλλους τα ζώα στο κυνοκομείο αριθμ. 3, στην αρχή του πειραματισμού (Η 0) βρέθηκαν να είναι μολυσμένα και με κρότωνα του είδους *Ixodes gibbosus*. Κατά τη διάρκεια της δεύτερης εξέτασης (Η 30) δεν ανευρέθηκαν καθόλου κρότωνα, ενώ κατά την τρίτη εξέταση (Η 60) στα ζώα εμφανίστηκαν κρότωνα του είδους *Rhipicephalus sanguineus*, οι οποίοι κατά την πλειονότητά τους είχαν και αυτοί εξαφανιστεί την τελευταία ημέρα του πειραματισμού (Η 90). Συγκεκριμένα και σε ό,τι αφορά τους κύριους ασθενείς βρέθηκε ένας μόνο ενήλικος κρότωνας (Η 90).

Όλα τα ζώα ολοκλήρωσαν τον πειραματισμό. Όλοι οι κύριοι ασθενείς είχαν άριστη υγεία την ημέρα 0 που ξεκίνησε ο πειραματισμός και παρέμειναν έτσι μέχρι το τέλος του. Καμία παρενέργεια δεν παρατηρήθηκε τις πρώτες ώρες μετά τη θεραπεία, αλλά ούτε και αργότερα, έως το τέλος του πειραματισμού.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής επιβεβαιώνουν ότι, κάτω από φυσικές συνθήκες μόλυνσης, η χορήγηση της σελαμεκτίνης για 3 συνεχόμενες μηνιαίες δόσεις των 6 mg/kg ΣΒ είναι πολύ αποτελεσματική για τη θεραπεία και τον έλεγχο του παρασιτισμού από ψύλλους στο σκύλο.

Κατά την παρούσα μελέτη δεν θεωρήθηκε απαραίτητη η ταυτοποίηση σε είδος των ανευρισκόμενων ψύλλων,

## DISCUSSION

Data confirm that under field conditions three consecutive monthly doses of selamectin are highly effective in the treatment and control of fleas in dogs.

During the current survey identification of flea species was not done mostly because fleas were kept alive and placed back to the animal. Besides, it is well known that the predominant species of fleas in most European countries (U.K.<sup>1,15</sup>, Germany<sup>16,17</sup> and France<sup>18</sup>) and in Greece<sup>2</sup> are *C. felis* and *C. canis*. Thereby, regardless that all fleas that were identified at the beginning of the trial belonged to the species *C. felis*, it was considered that the trial animals were infected by both species.

Comparisons of flea counting techniques (counting fleas after removal with a comb, counting fleas while parting the hair coat with the thumb, counting the number of fleas on a specific area of an animal) have demonstrated that removal of fleas with a comb provides the most accurate method for differentiating between medium and low flea burdens, and for assessing the actual number of fleas present on an animal<sup>19,20,21</sup>. The duration of combing in the present studies was at least 10 minutes but was extended further if an investigator continued to find fleas. The duration of combing was set to at least 10 minutes in order to be in accordance with previous surveys<sup>22,23</sup>. This regimen would be expected to ensure that the number of fleas counted was highly representative of the number of fleas actually on the animal at the time. Fleas were replaced on the animal after combing, but the animal was returned to the home environment shortly after combing, where it would have been re-exposed to flea challenge. The studies were conducted during the season of flea activity, and it is reasonable to assume that flea infestations established in the households would ensure an adequate environmental challenge throughout the study period.

The high reduction of fleas after treatment with selamectin (99.7% on day 30 and 100% on day 90) demonstrated in this study was of total agreement with results of similar surveys in experimentally<sup>22,23,24</sup>, and naturally infected dogs (90.7% on day 30 and 99.1% and day 90<sup>25</sup>, and 92.1% on day 30 and 99.8% on day 90<sup>26</sup>). More over, the results of this study as well as results taken from other comparative studies had shown that selamectin is as effective as other modern commercial insecticides, such as fibronil and imidacloprid<sup>27,28</sup>, are.

Regardless of the availability of numerous effective compounds it is quite possible for flea control programs to fail. One potential reason for such a failure is resistance of the insects to the chemicals used. Resistance of *C. felis* has been reported to at least five categories of insecticides, including carbamates, organophosphates, pyrethroids, pyrethrins and organochlorines<sup>3,13</sup>. Introduction of a control agent such as an avermectin, which has a different mode of action from those chemicals in frequent use, may allow improved control of some intractable flea problems.



που εξάλλου δεν θα ήταν εφικτή λόγω του ότι οι ψύλλοι επαναποθετούνταν στο εκάστοτε ζώο. Εξάλλου, όπως είναι γνωστό και από προηγούμενες μελέτες, τα κυρίαρχα είδη ψύλλων που βρίσκονται στο σκύλο τόσο σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες (Αγγλία<sup>1,15</sup>, Γερμανία<sup>16,17</sup> και Γαλλία<sup>18</sup>) όσο και στη χώρα μας<sup>2</sup> είναι ο *C. felis* και ο *C. canis*. Έτσι λοιπόν, και παρ' ότι κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής ο περιορισμένος αριθμός ψύλλων που ταυτοποιήθηκε ανήκε στο είδος *C. felis*, θεωρήθηκε ότι τα ζώα της παρούσας μελέτης ήταν μολυσμένα και με τα δύο αυτά είδη ψύλλων.

Η σύγκριση των διαφόρων τεχνικών, που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση του αριθμού των ψύλλων που παρασιτούν σε ένα ζώο (μέτρηση μετά από χτένισμα με ειδική χτένα, μέτρηση μετά από διαχωρισμό του τριχώματος του ζώου με τα δάχτυλα, μέτρηση του αριθμού των ψύλλων σε μια συγκεκριμένη περιοχή του σώματος) έχει αποδείξει ότι η μέτρηση των παρασίτων μετά από χτένισμα του ζώου είναι η πιο ακριβής μέθοδος καταμέτρησης, ιδιαίτερα όταν αφορά μέτριες ή ήπιες μολύνσεις ή όταν θεωρείται αναγκαία η ακριβής καταμέτρηση των ψύλλων ανά ζώο<sup>19,20,21</sup>. Η εξέταση αυτή διαρκούσε το λιγότερο 10 λεπτά ανά ζώο. Το χρονικό όριο των 10 λεπτών ορίστηκε με βάση προηγούμενες σχετικές μελέτες<sup>22,23</sup> έτσι ώστε τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα. Στη συνέχεια, οι ψύλλοι επαναποθετούνταν στο σκύλο και το ζώο επέστρεφε στο χώρο διαμονής του. Το περιβάλλον αυτό θεωρήθηκε εν δυνάμει μολυσμένο (ήταν το φυσικό περιβάλλον του ήδη μολυσμένου σκύλου), αν λάβουμε μάλιστα υπόψη το ότι η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε εποχή που ήταν δραστήριοι οι ψύλλοι (τέλη χειμώνα – άνοιξη). Τα παραπάνω λοιπόν εξασφάλιζαν και την επιθυμητή δυνατότητα επαναμόλυνσης των πειραματοζώων.

Τα υψηλά ποσοστά μείωσης του παρασιτισμού μετά από τη χορήγηση του φαρμάκου που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη (99,7% στις 30 ημέρες και 100% στις 90 ημέρες) συμφωνούν με τα ευρήματα άλλων ερευνητών τόσο σε πειραματικούς<sup>22,23,24</sup> όσο και σε φυσικώς μολυσμένους σκύλους (90,7% στις 30 ημέρες και 99,1% στις 90 ημέρες<sup>25</sup>, και 92,1% στις 30 ημέρες και 99,8% στις 90 ημέρες<sup>26</sup>).

Τα παραπάνω αποτελέσματα όπως επίσης και συγκριτικές μελέτες, έδειξαν ότι η σελαμεκτίνη είναι εξίσου αποτελεσματική κατά των ενηλίκων ψύλλων σε σχέση με τα υπόλοιπα σύγχρονα εντομοκτόνα που κυκλοφορούν στην αγορά, όπως είναι το *fenitrothion* και το *imidacloprid*<sup>27,28</sup>. Επιπλέον, η σελαμεκτίνη μειώνει τη μόλυνση του περιβάλλοντος από τους ψύλλους παρεμποδίζοντας την εξέλιξη τόσο των αυγών όσο και των προνυμφών τους. Το βασικό πλεονέκτημα όμως της σελαμεκτίνης, που όπως αναφέρθηκε ανήκει στην ομάδα των αβερμεκτινών, εκτός του ότι εμφανίζει και ενδοπαρασιτοκτόνο δράση, είναι ότι ανήκει σε μια νεοεισερχόμενη ομάδα φαρμάκων σε ό,τι αφορά το σκύλο και τη γάτα. Αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία λόγω του ότι, όπως ήδη αναφέρθηκε, οι ψύλλοι, και ιδιαίτερα ο *C. felis*, έχουν ήδη αναπτύξει αντίσταση ενάντια στις περισσότερες ομάδες παλαιότερων εντομοκτόνων όπως είναι τα καρβαμαδικά, τα οργανοφωσφορικά,

Additionally, and despite the fact that efficacy against ticks were not the objective in this study, its worth to mention the good results obtained from the infected animals in shelter 3. The effect of such treatment was expected, especially as far as it concerns *Rhipicephalus sanguineus*<sup>15,29</sup>, because it has been observed previously. No data existed for *Ixodes gibbosus*. It has to be mentioned that selamectin is not licensed to be effective against ticks.

Conclusively the results from the study reported in this paper demonstrate that selamectin is both effective, and remains effective for at least 4 weeks, and safe against naturally infections of *Ctenocephalides* spp in dogs. □

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Chesney C.J. Species of fleas found on cats and dogs in south west England: further evidence of their polyxenous state and implications for flea control. *Vet Record* 1995, 136, 356-358
- Koutinas A.F., Papazahariadou M.G., Rallis T.S., Tzivara N.H., Himonas C.A. Flea species from dogs and cats in northern Greece: environment and clinical implications. *Vet. Parasitology* 1995, 58, 109-115
- Rust M.K., Dryden, M.W. The biology, ecology and management of the cat flea. *Annu. Rev. Entomol.* 1997, 42, 451-473.
- Kristensen, S., Haarlov N., Mourier H., A study of skin diseases in dogs and cats. IV. Patterns of flea infestation in dogs and cats in Denmark. *Nord. Vet. Med.* 1978, 30, 401-413.
- Plant J.D. Recognizing the manifestations of flea allergy in cats. *Vet. Med.* 1991, 10, 482-486.
- Saridomichelakis M.N., Koutinas A.F., Gioulekas D. and Leonitidis L. Canine atopic dermatitis in Greece: Clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Vet Immunol Immunopathol* 1999, 69, 61-73.
- Saridomichelakis M.N., Koutinas A.F. A retrospective study of 10 spontaneous cases of feline atopic dermatitis. *Eur J Comp Anim Pract* 2001, 11, 177-183
- Carlotti D.N., Costargent F. Analysis of positive skin tests in 449 dogs with allergic dermatitis. *Eur. J. Comput. Ann. Pract.* 1994, 4, 42-59.
- Yeruham I., Rosen S., Hadani A. Mortality in calves, lambs and kids caused by severe infestation with the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) in Israel. *Vet. Parasitol.* 1989, 30, 351-356.
- Yaphe W., Giovengo S., Moise N.S. Severe cardiomegaly secondary to anaemia in a kitten. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993, 202, 961-964
- El-Gazzar L.M., Milio J., Koehler, P.G., Patterson R.S. Insecticide resistance in the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Econ. Ent.* 79, 132-134.
- Bossard R.L., Hinkle N.C., Rust M.K. Review of insecticide resistance in cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.* 1998, 35, 415-422.
- Bishop B.F., Bruce, C.I., Evans N.A., Goudie, A.C., Gratton K.A.F., Gibson S.P., Pacey M.S. Perry D.A., Walshe N.D.A., Witty M.J. Selamectin: a novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 2000, 91, 163-176.
- McTier T.L., Jernigan A.D., Rowan T.G., Holbert M.S., Smothers C.D., Bishop B.F., Evans N.A., Gratton K.A.F., Giles C.J. Dose selection of selamectin for efficacy against adult flies (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 2000, 91, 177-185.
- Beresford-Jones W.P. Prevalence of fleas on dogs and cats in an area of central London. *J. Small Anim. Pract.* 1981, 22, 27-29.



οι πυρεθρίνες και τα πυρεθροειδή<sup>3,13</sup>. Έτσι λοιπόν η εισαγωγή ενός νέου φαρμάκου με τελείως διαφορετικό τρόπο δράσης από τα συνήθως χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα μπορεί να προσφέρει πραγματικά πολλά στον έλεγχο του παρασιτισμού από ψύλλους στο σκύλο και τη γάτα.

Επιπρόσθετα, και παρ' ότι δεν ήταν το άμεσο αντικείμενο της παρούσης μελέτης, γι' αυτό άλλωστε και δεν έγινε ανάλυση των αποτελεσμάτων, αξίζει να σχολιαστούν οι παρατηρήσεις που αφορούν τη δράση της σελαμεκτίνης εναντίον των κροτώνων. Η δράση αυτή του φαρμάκου ήταν αναμενόμενη και ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά τον *Rhipicephalus sanguineus*<sup>15,29</sup>, για τον οποίο έχουν αναφερθεί παρόμοια αποτελέσματα. Αντίθετα για τον κρότωνα *Ixodes gibbosus*, ο οποίος ανευρέθη σε ζώα ενός κυνοκομείου, δεν υπάρχουν προηγούμενες αναφορές. Σημειώνεται ότι το σκεύασμα δεν κυκλοφορεί με ένδειξη εναντίον των κροτώνων.

Τέλος, εκτός από την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου στην παρούσα μελέτη, και σύμφωνα με προηγούμενους ερευνητές, έχει επιβεβαιωθεί τόσο η ασφάλεια<sup>30,31</sup> όσο και η υπολειμματική δράση του φαρμάκου για το λιγότερο 4 εβδομάδες<sup>15</sup>. □

16. Liebis von A., Brandes R., Hoppenstedt K. Zum Befall von Hunden und Katzen mit Zecken und Flohen in Deutschland. Prakt. Tierarzt. 1985, 817-824.
17. Muller von J., Kutschmann K. Flohnachweise (Siphonaptera) auf Hunden im einzugsbereich der Magdeburger Poliklinik für kleine Haus – und Zootiere Angrew. Parasitol. 1985, 26, 197-203.
18. Franc M., Choquart P., Cadiergues M.C. Repartition des especes de puces rencontrees chez le chien en France. Rev. Med. 1998, 149, 1135-140.
19. Dryden M.W., Boyer J.E., Smith V., Techinques for estimating on-animal populations of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). J. Med. Entomol. 1994, 31, 631-634.
20. Benchaoui H.A., Clemence R.G., Clements P.J.M., Jones R.L., Watson P., Shanks D.J., Smith D.G., Sture G.H., Jernigan A.D., Rowan T.G. Efficacy and safety of selamectin against fleas on dogs and cats presented as veterinary patients in Europe. Vet. Parasitol. 2000, 91, 223-232.
21. Heckenberg K., Costa S.D., Gregory L.M., Michael B.F. Endris R.G., Shoop W.L. Comparison of thumb-counting and comb-counting methods to determine *Ctenocephalides felis* infestation levels on dogs. Vet. Parasitol. 1994, 53, 153-157.
22. Boy M.G., Six R.H., Thomas C.A., Novotny M.J., Smothers C.D., Rowan T.G., Jernigan A.D. Efficacy and safety of selamectin against fleas and heartworms in dogs and cats presented as veterinary patients in North America. Vet. Parasitol. 2000, 91, 233-250.
23. Ritzhaupt L.K., Rowan T.G., Jones R.L. Evaluation of efficacy of selamectin, fipronil and imidacloprid against *Ctenocephalides felis* in dogs. J.Am.Vet.Med.Assoc. 2000, 217(11), 1669-71.
24. Gregory L.M., Zakson M., Endris R.G., Shoop W.L. A further comparison of the thumb-counting and comb-counting techniques used to determine *Ctenocephalides felis* infestation levels on dogs. Vet. Parasitol. 1995, 56, 349-352.
25. McTier T.L., Jones R.L., Holbert M.S., Murphy M.G., Watson P., Sun F., Smith D.G., Rowan T.G., Jernigan A.D. Efficacy of selamectin against adult flea infestations (*Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*) on dogs and cats. Vet. Parasitol. 2000, 91, 187-199.
26. McTier T.L., Shanks D.J., Jernigan A.D., Rowan T.G., Jones R.L., Murphy M.G., Wang C., Smith D.G., Holbert M.S., Blagburn B.L. Evaluation on the effects of selamectin against adult and immature stages of fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. Vet. Parasitol. 2000, 91, 201-212.
27. Shanks D.J., Rowan T.G., Jones R.L., Watson P., Murphy M.G., Smith D.G., Jernigan A.D. Efficacy of selamectin in the treatment and prevention of flea (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats housed in simulated home environments. Vet. Parasitol. 2000, 91, 213-222.
28. Dryden M.W., Denenberg T.M., Bunch S. Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. Vet. Parasitol. 2000, 93(1), 69-75.
29. Jernigan A.D., McTier T.L., Chieffo C., Thomas C.A., Krautmann M.J., Hair J.A., Young D.R., Wang C., Rowan T.G. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestations on dogs. Vet. Parasitol. 2000, 91, 359-375.
30. Payne-Johnson M., Maitland T.P., Sherington J., Shanks D.J., Clements P.J.M., Murphy M.G., McLoughlin A., Jernigan A.D., Rowan T.G. Efficacy of selamectin administered topically to pregnant and lactating female dogs in the treatment and prevention of adult roundworm (*Toxocara canis*) infestations and flea (*Ctenocephalides felis felis*) infestations in the dams and their pups. Vet. Parasitol. 2000, 91, 347-358.
31. Novotny M.J., Krautmann M.J., Ehrhart J.C., Godin C.S., Evans E.I., McCall J.W., Sun F., Rowan T.G., Jernigan A.D. Safety of selamectin in dogs. Vet. Parasitol. 2000, 91, 377-391.