

The attached documentation is concerning the Clinical Trial performed by Prof. C. Genchi, at Dept. of Veterinary Parasitology, Veterinary Medicine, University of Milan, Italy.

**The study**, concerning electronic tick and flea repeller's use, was conducted on 3 groups of dogs, as follows:

- **Group 1:** N° 5 domestic dogs parasites free
- **Group 2:** N° 5 domestic weakly infested dogs
- **Group 3:** N° 15 severe infested dogs, living in kennel.

**The results** observed by the Investigator have been as follows:

- **Group 1:** no infestation of parasites was observed
- **Group 2:** N° 4 out of 5 dogs were free from parasites at the 7<sup>th</sup> day control. 1 dog out of 5 still showed a weak presence of parasites at the 7<sup>th</sup> day control but, at the 9<sup>th</sup> day control, no parasites were observed. Their absence was still documented during the control at day 35<sup>th</sup>.
- **Group 3:** a 76% reduction in infestation was observed after 7 days of device's use;  
a 97% reduction in infestation was documented during the control at day 35<sup>th</sup>.

Two subjects showed reinfestation at day 9<sup>th</sup>, due to the high presence of parasites in the environment where the dogs of group 3 lived.

The control at day 15<sup>th</sup> put in evidence a 80-90% reduction in parasites.

**The conclusions** regarding the device's use have been as follows: satisfactory, rapid repellent action, successful in removing parasites, effective in case of reinfestation, well tolerated.

14 APR. 1993

DATA. \_\_\_\_\_

RELAZIONE SULLA ATTIVITA' DI UN DISPOSITIVO ELETTRONICO AD EMISSIONE ULTRASONICA (40 Kz) PER IL CONTROLLO DELLE INFESTAZIONI DA ZECHE E DA PULCI DEL CANE E DEL GATTO.

#### MATERIALI E METODI

Per la prova sono stati utilizzati 25 cani di differente razza, sesso ed età (Tabella 1), alcuni di proprietà, altri ricoverati in un canile riconosciuto ad elevato rischio di infestazione da zecche.

Il dispositivo è stato fissato ad un comune collare e quindi applicato ai soggetti in prova. A 5 cani (no. protocollo 1-5), tutti soggetti di proprietà, il dispositivo è stato applicato a scopo preventivo, tra la fine di luglio e l'inizio di agosto, prima della comparsa dei parassiti sul mantello degli animali nel settembre 1992; a ulteriori 5 cani (no. protocollo 6-10), anch'essi di proprietà, l'applicazione è stata effettuata in presenza di infestazione (7-18 agosto).

Un'ultima prova è stata condotta su 15 cani (no. protocollo 11-25; durata della prova 13 agosto-6 settembre 1992) tenuti in un canile dove sono normalmente ricoverati dai 70 ai 90 cani. I cani, a gruppi di 3, sono stati scelti sulla base della intensità della infestazione tra i 6-8 soggetti presenti in 5 differenti box. Le caratteristiche del canile e le modalità di mantenimento degli animali facilitano l'infestazione da zecche. Per tali ragioni, di norma, sono effettuati trattamenti routinari con una soluzione di Asuntol e Neguvon al fine di mantenere l'infestazione quanto possibile sotto controllo.

14 APR. 1993

DATA \_\_\_\_\_

Il protocollo sperimentale prevede:

- 1) che almeno il 70% dei soggetti (5/7) presenti in ogni box scelto per la prova fossero infestati da zecche
- 2) che il tempo intercorso tra il trattamento acaricida e l'applicazione del collare fosse almeno di 30 giorni
- 3) l'applicazione del collare a 15 soggetti (3 soggett/box) con infestazione da zecche medio-elevata ( $\geq 15$ )
- 4) il trattamento di 6 soggetti, risultati ancora positivi, con Asuntol e Neguvon dopo 7 giorni dalla applicazione del dispositivo al fine di stabilire eventuali differenze nei due regimi di trattamento (vedi Tabella 1 e 2.2).

I cani sono stati sottoposti a controllo clinico per stabilire eventuali segni di disturbo e intolleranza conseguenti all'applicazione del dispositivo e a controlli parassitologici per stabilirne l'efficacia acarifuga ai giorni 1, 2, 3, 5, 7, 9, 14 e 35 dalla applicazione (giorno 0) (vedi Tabella 2.2).

Esemplari di zecca sono stati raccolti nel corso della prova per l'identificazione specifica.

14 APR. 1993

DATA: \_\_\_\_\_

Tabella 1. Dati anamnestici relativi ai cani utilizzati per la prova.

cani No.	seesso	eta' anni	razza	proprietà s/n	trattamenti pregressi*
1	M	2	meticcio	S	1991
2	M	7	p. tedesco	S	1991
3	F	5	meticcio	M	1991
4	M	2	fox terrier	M	1991
5	F	8	cocker	M	1991
6	F	3	p. tedesco	M	1991
7	F	1	cocker	S	-
8	M	8	meticcio	M	-
9	M	5	setter ing.	S	1991
10	F	4	setter ing.	S	1991
11	F	5	meticcio	n	13/7/92
12	M	1	meticcio	n	13/7/92
13	M	2	meticcio	n	13/7/92
14	F	4	meticcio	n	30/6/92
15	M	3	meticcio	n	30/6/92
16	M	1	meticcio	n	30/6/92
17	M	10	setter ing.	n	30/6/92
18	M	1	meticcio	n	30/6/92
19	M	1	meticcio	n	13/7/92
20	M	8	meticcio	n	13/7/92
21	F	9	p. tedesco	n	13/7/92
22	F	6	meticcio	n	13/7/92
23	F	2	meticcio	n	13/7/92
24	M	4	meticcio	n	13/7/92
25	F	2	meticcio	n	13/7/92

\* prodotti ad azione acaricida.

14 APR. 1993

DATA: \_\_\_\_\_

## RISULTATI E CONSIDERAZIONI

Tutti gli esemplari di zecca raccolti nel corso della prova sono risultati appartenere alla specie Rhipicephalus sanguineus.

Per quanto riguarda la tollerabilità del prodotto in prova, nessun soggetto a cui è stato applicato il collare munito di dispositivo ha dato segni di intolleranza o disturbo, pertanto possiamo affermare che, sul piano clinico, gli ultrasuoni emessi non sono in grado di interferire sul normale comportamento del soggetto.

In relazione all'efficacia, nel gruppo di 6 cani in cui il dispositivo è stato applicato a scopo preventivo, prima della messa in evidenza degli acari sul mantello degli animali, non sono mai stati osservati episodi di infestazione per tutta la stagione a rischio (agosto-ottobre). Buoni anche i risultati ottenuti nei soggetti di proprietà dove, pur tenendo conto delle basse cariche iniziali (1-5 zecche/soggetto), in 7a giornata dalla applicazione del dispositivo 4 dei 5 soggetti trattati sono risultati negativi ai controlli parassitologici. In 9a giornata in nessun soggetto era possibile mettere in evidenza la presenza di zecche e la situazione si manteneva tale fino alla 35a giornata (Tabella 2.1). Un controllo effettuato alla fine della stagione a rischio (ottobre 1992) ha permesso la messa in evidenza di una unica zecca (femmina matura) su un solo soggetto. Particolarmente interessanti sono infine i risultati ottenuti nella prova condotta sui 15 soggetti ricoverati nel canile, dove l'elevata pressione della popolazione parassitaria era da tempo conosciuta e testimoniata dalla necessità di ripetuti trattamenti acaricidi con prodotti chimici (Tabella 2.2). A 7 giorni dalla applicazione del dispositivo la riduzione del numero totale di zecche presenti sui cani è stata pari al 76% (da 430 a 102). In 35a giornata, per i soggetti sottoposti solo all'azione del dispositivo ad ultrasuoni, la percentuale di riduzione ha raggiunto valori pari al 97% (8 zecche rinvenute alla fine della prova contro le 275 osservate al giorno 0); nei 6 cani trattati in 7a giornata con una soluzione di Asunto1 e Neguvon l'efficacia è stata del 92%.

Per quanto riguarda l'efficacia nei confronti dei valori di prevalenza (numero di soggetti ancora infestati/numero di soggetti trattati), nel primo gruppo la percentuale di riduzione è stata del 50% (3 soggetti negativi su 6 trattati), nel gruppo sottoposto alla sola azione del dispositivo ad ultrasuoni del 67% (3 positivi su 9 trattati). I dati, pur non differenziandosi in

14 APR. 1993

DATA \_\_\_\_\_

modo significativo sul piano statistico ( $\chi^2 = .012$   $p > .05$ ), indicano che l'attività del dispositivo ad ultrasuoni è per lo meno uguale a quella dei più comuni composti chimici ad attività acaricida impiegati per la lotta contro le zecche nel nostro Paese.

L'azione degli ultrasuoni appare particolarmente rapida nel provocare l'allontanamento delle forme giovanili (larve e ninfe) e delle zecche maschio, forme che per le loro caratteristiche biologiche presentano un rapporto meno stretto con l'ospite (pasti di sangue meno prolungati). Il dato è confermato anche dai risultati dei conteggi delle zecche sui soggetti no. 16, 17, 19, 21, 22 sui quali sono stati osservati in 9a e 14a giornata ninfe probabilmente contratte dall'ambiente dopo l'applicazione del dispositivo a causa della elevata pressione parassitaria. In taluni casi i fenomeni di reinfestazione hanno comportato a un brusco e significativo aumento della carica parassitaria come nel caso del soggetto no. 17 (da 5 zecche in 7a giornata a 20 in 9a) e del soggetto no. 22 (da 2 zecche in 7a giornata a 10 in 9a). Nonostante ciò, in 15a giornata i due soggetti presentavano una riduzione del numero di zecche rispettivamente del 90% e dell'80% a riprova della capacità del dispositivo di mantenere sotto controllo anche gli episodi di reinfestazione.

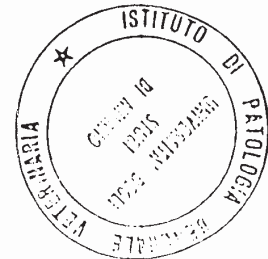
Da ultimo i nostri risultati non sembrano indicare differenze significative di efficacia conseguenti alla lunghezza del pelo o dalla taglia dell'animale. L'effetto "repellente" è graduale e raggiunge il massimo dopo 2-4 settimane dalla applicazione: i primi acari ad allontanarsi sono quelli localizzati nelle regioni periorbitali e del capo.

Sulla base dei risultati sopra esposti è possibile concludere che il dispositivo ad ultrasuoni utilizzato per la prova è ben tollerato dal cane. In relazione alla sua efficacia nel provocare l'allontanamento dei parassiti dal cane, questa si è dimostrata più che soddisfacente e comunque non inferiore a quella di due principi attivi, quali l'Asuntol e il Neguvon, di cui è riconosciuta l'attività acaricida.



Claudio Genchi

Professore Ordinario di  
Parassitologia Veterinaria



14 APR. 1993

DATA \_\_\_\_\_

Tabella 2.1 Efficacia acarifuga di un dispositivo ad emissione ultrasonica nel cane.

cane	mantello	numero di zecche osservate								
		giorno								
		0	1	2	3	5	7	9	15	35
cani di proprietà										
6	medio/corto	1	1	1	1	0	0	0	0	0
7	lungo	2	2	1	1	1	0	0	0	0
8	corto	5	5	3	3	2	1	0	0	0
9	lungo	2	2	2	1	0	0	0	0	0
10	lungo	3	3	2	2	2	0	0	0	0

14 APR. 1977

DATA

Tabella 2.2 Efficacia acarifuga di un dispositivo ad emissione ultrasonica nel cane.

cane No.	mantello	numero di zecche osservate								
		giorno 0	1	2	3	5	7	9	15	30
cani ricoverati in canile										
11	medio/corto	15	10	10	10	8	6*	2	2	2
12	medio	30	25	20	20	15	10*	2	2	2
13	corto	15	10	10	8	4	2	2	1	0
14	corto	40	16	16	16	8	7	7	5	3
15	medio	10	8	8	8	3	2*	2	2	0
16	medio	35	21	15	14	10	1	2(1)	2(1)	0
17	lungo	30	20	20	15	15	5	20(1)	2	2
18	corto	50	45	40	30	20	10	10	4	0
19	medio	15	6	6	3	3	1	2(1)	2(1)	0
20	lungo	>50	30	30	30	25	25*	25	1	0
21	corto	30	25	20	10	10	5	2	2(1)	0
22	corto	15	10	9	8	8	2	10(1)	2(1)	0
23	medio/lungo	45	30	30	30	9	9	4	3	3
24	medio	40	25	25	18	10	10*	5	1	1
25	corto	18	15	10	10	9	9*	1	1	0
Totale		430	296	269	230	157	102			
efficacia			31%	37%	47%	63%	76%			
soggetti trattati anche con acaricidi								37	9	5
efficacia								40%	85%	92%
soggetti trattati con soli ultrasuoni								59	21	8
efficacia								78%	92%	97%

\* trattamento per spugnatura con soluzione acquosa di Asuntol e Neguvon.

1) ninfe.



**REPORT ON THE ACTIVITY OF AN ELECTRONIC DEVICE WITH ULTRANOSIC EMISSION (40 KHz) FOR MONITORING THE TICK AND FLEA INFESTATION ON CATS AND DOGS**

**MATERIALS AND METHODS**

Tests have been made on 25 dogs of different breeds, sex and age (Table 1), some domestic and some hosted in a kennel assessed "at high risk of tick infestation".

The device has been fixed to a common collar and then applied on the dogs subject to testing. The device was applied on 5 domestic dogs (protocol nr.1-5) for preventive purposes between the end of July and the beginning of August - before parasites appeared on the animals' coat in September 1992 and on 5 other dogs (protocol 6-10), domestic as well, already infested (August 7 to 18).

A final test has then been made on 16 dogs (protocol nr.11-25, from August 13 to September 6, 1992) kept in a kennel hosting 70-90 dogs; the dogs, grouped three by three, were chosen according to the level of infestation present in 6/8 subjects kept in 5 different boxes. The conditions of the kennel and state of maintenance of the animals, in fact, make tick infestation more probable. For these reasons, routine treatments with a solution containing Asuntol and Nalugon are carried out in order to keep infestation under control.

The experimental protocol states that:

- 1) at least 70% subjects (5/7) present in each box chosen for testing should be infested with ticks
- 2) the lapse of time between the parasiticide treatment and the application of the collar could not be shorter than 30 days
- 3) the collar should be applied to 15 subjects (5 for each box) with a level of infestation assessed as medium/high ( $\geq 15$ )
- 4) a further treatment with Asuntol and Nalugon should be administered to 6 subjects found positive to infestation after 7 days from the application of the collar, in order to establish the differences between the treatments (see Table 1 and 2.2)

The dogs also underwent clinical tests to establish if any disturb or allergy might occur as a consequence of the collar and parasitological tests to assess its on days 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 35<sup>th</sup> from the application (day 0). (see table 2.2)

During the tests, several specimens of ticks have been observed and collected for identification.

**Table 1: anamnestic data regarding the dogs used for testing**

Dog #	Sex	A g e	Breed	Domestic Y/N	Previous treatments*
1	M	2	Half-breed	S	1991
2	M	7	German shepherd	S	1991
3	F	5	Half-breed	S	1991
4	M	2	Fox Terrier	S	1991
5	F	8	Cocker	S	1991
6	F	3	German shepherd	S	1991
7	F	1	Cocker	S	-
8	M	8	Half-breed	S	-
9	M	5	English Setter	S	1991
10	F	4	English Setter	S	1991
11	F	5	Half-breed	N	13/7/92
12	M	1	Half-breed	N	13/7/92
13	M	2	Half-breed	N	13/7/92
14	F	4	Half-breed	N	30/6/92
15	M	3	Half-breed	N	30/6/92
16	M	1	Half-breed	N	30/6/92
17	M	10	English Setter	N	30/6/92
18	M	1	Half-breed	N	30/6/92
19	M	1	Half-breed	N	30/6/92
20	M	8	Half-breed	N	13/7/92
21	F	9	German Shepherd	N	13/7/92
22	F	6	Half-breed	N	13/7/92
23	F	2	Half-breed	N	13/7/92
24	M	4	Half-breed	N	13/7/92
25	F	2	Half-breed	N	13/7/92

\*products with parasiticide power

## RESULTS AND CONCLUSIONS

All the specimens collected during the tests turned out to belong to 1 species, *Rhipicephalus sanguineus*.

As far as the tolerability of the product is concerned, none of the subjects to which the collar was applied showed either symptoms related to allergy or disturbance; we can consequently state that ultrasonic waves emitted do not interfere with the normal behaviour of the animals.

With reference to the effectiveness of the device applied on the group of 5 dogs for preventive purposes before the mites appeared on the animals' coats, no cases of infestation have been observed during the whole season at risk (from August to October). Good results have also been obtained on the domestic subjects; though the initial number of parasites was limited (1-5 ticks per subject), parasitological tests made after 7 days from the application turned out to be negative for 4 subjects out of five. After 9 days, no ticks were found on any of the subjects, and the situation did not vary until the 35<sup>th</sup> day after the application (Table 2.1). A further test made at the end of the season at risk (October 1992) proved that only 1 tick (mature female) was found on 1 subject.

Finally, the results obtained on the tests carried out on dogs living in the kennels are particularly interesting since the high pressure of the parasite population present therein had been proved since a long time and had required several parasiticide treatments with chemical products (Table 2). After 7 days from the application of the device, the total number of ticks found on the dogs had decreased by 76% (from 430 to 102). After 35 days, the percentage had reached 97% (8 ticks found at the end of the test as opposed to 275 observed on day 0) for the subjects treated only with the collar, while the reduction percentage on the 6 dogs treated with Asuntol and Neguvon on the 7<sup>th</sup> day of the test was 92%.

As for the effectiveness of the device towards the **prevalence values** (i.e. the number of subjects still infested/the number of subjects treated), the reduction percentage was 50% for the first group (3 negative subjects out of six treated) and 67% for the second group, which included subjects treated only with the ultrasonic device (3 positive subjects out of 9 treated).

Although these data are not significantly different on the statistical level ( $\chi^2=0.012$   $p>.05$ ), they prove that the activity of the ultrasonic device is at least equal to the one of the most common chemical parasiticide products used in Italy.

The action of the ultrasonic waves is particularly effective and rapid in fighting the ticks at their early life stages (larvae and nymphs) and the male ticks; due to their biological features, in fact, their relationship with the host is not so tight and their blood feeds are not prolonged.

Such result is also confirmed by the observation of ticks made on subjects nr. 16, 17, 19, 21 and 22, on which some nymphs – probably contracted because of the high pressure of the parasite population – were found on the 9<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day after the application of the device.

In such cases, the episodes of re-infestation have caused a sudden and dramatic increase of the parasite presence, as happened to subject nr 17 (from 5 ticks on the 7<sup>th</sup> day to 20 ticks on the 9<sup>th</sup> day) and to subject nr. 22 (from 2 ticks on the 7<sup>th</sup> day to 10 ticks on the 9<sup>th</sup> day).

Yet, on the 15<sup>th</sup> day both subjects showed a reduction in the number of ticks equal to 90% and 80% respectively, thus proving the effectiveness of the device in keeping the episodes of re-infestation under control.

Finally, our results do not differentiate significantly in terms of effectiveness related either to the length of the coat or to the animal size. The “repulsive” effect is gradual and reaches the highest level after 2-4 weeks from the application; the first parasites removed are those present on the dogs’ head and periorbital regions.

On the basis of the above mentioned results, we can conclude that the ultrasonic device used during the tests is well tolerated by the dog; the effectiveness of the device in removing the parasites from the dog has been proved as very successful and, however, as powerful as that of two active principles such as Asuntol and Neguvon whose parasiticide action is well renowned.

Claudio Genchi  
Professor of Veterinary Parasitology

**Table 2.1 Parasiticide effectiveness of a device emitting ultrasonic waves on dogs**

---

Dog	Coat	Number of ticks observed								
		Day								
		0	1	2	3	5	7	9	15	35
Domestic dogs										
6	Medium/short	1	1	1	1	0	0	0	0	0
7	Long	2	2	1	1	1	0	0	0	0
8	Short	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	3	2	1	0	0	0
9	Long	2	2	2	1	0	0	0	0	0
10	Long	3	3	2	2	2	0	0	0	0

**Table 2.2 Parasiticide effectiveness of a device emitting ultrasonic waves on dogs**

Dog	Coat	Number of ticks observed								
		Day								
		0	1	2	3	5	7	9	15	35
Dogs kept in kennels										
11	Medium/short	15	10	10	10	6	6*	2	2	2
12	Medium	30	25	20	20	15	10*	2	2	2
13	Short	15	10	10	8	4	2	2	1	0
14	Short	40	16	16	16	8	7	7	5	3
15	Medium	10	8	8	8	3	2*	2	2	0
16	Medium	35	21	15	14	10	1	2 (1)	2 (1)	0
17	Long	30	20	20	15	15	5	20(1)	2	2
18	Short	50	45	40	30	20	10	10	4	0
19	Medium	15	6	6	3	3	1	2(1)	2(1)	0
20	Long	>60	30	30	30	25	25*	25	1	0
21	Short	30	25	20	10	10	5	2	2(1)	0
22	Short	15	10	9	8	8	2	10(1)	2(1)	0
23	Medium/long	45	30	30	30	9	9	4	3	3
24	Medium	40	25	25	18	10	10*	5	1	1
25	Short	18	15	10	10	9	9*	1	1	0
<b>Total</b>		<b>430</b>	<b>296</b>	<b>269</b>	<b>230</b>	<b>157</b>	<b>102</b>			
<b>Effectiveness</b>		<b>31%</b>	<b>37%</b>	<b>47%</b>	<b>63%</b>	<b>76%</b>				
Subjects treated also with parasiticide products								37	9	5
<b>Effectiveness</b>								40%	85%	92%
Subjects treated only with ultrasonic waves								59	21	8
<b>Effectiveness</b>								78%	92%	97%

(1) treatment made by sponging dogs with a solution of Asuntol and Neguvon

\* nymphs

Translation carried out by a skilled translator on Kem-o-Tek Italia's behalf.  
The Translation has been written according to the original Italian text.