

**UFRRJ  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DISSERTAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DO PRICK TEST COMO MÉTODO AUXILIAR NO  
DIAGNÓSTICO DE DERMATITE ALÉRGICA À PICADA DE PULGA EM  
CÃES**

**LAIS DE JESUS MORAES**

**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO DO PRICK TEST COMO MÉTODO AUXILIAR NO**  
**DIAGNÓSTICO DE DERMATITE ALÉRGICA À PICADA DE**  
**PULGA EM CÃES**

**LAIS DE JESUS MORAES**

*Sob a orientação do Professor*

**Julio Israel Fernandes**

*e Co-orientação do Professor*

**Victor do Espírito Santo Cunha**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ

Maio de 2021

## FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M827a Moraes, Lais de Jesus, 1989-  
AVALIAÇÃO DO PRICK TEST COMO MÉTODO AUXILIAR NO  
DIAGNÓSTICO DE DERMATITE ALÉRGICA À PICADA DE PULGA EM  
CÃES / Lais de Jesus Moraes. - Seropédica, 2021.  
34 f.

Orientador: Julio Israel Fernandes.  
Coorientador: Victor do Espírito Santo Cunha.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 2021.

1. alergia. 2. caninos. 3. percutâneo. 4. puntor.  
I. Israel Fernandes, Julio, 1979-, orient. II. do  
Espírito Santo Cunha, Victor, 1971-, coorient. III  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS.  
IV. Título.



ATA DE DEFESA DE TESE Nº 136 / 2021 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.034980/2021-18

Seropédica-RJ, 21 de maio de 2021.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**  
**LAÍS DE JESUS MORAES**

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre(a) em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/05/2021

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese.

(Assinado digitalmente em 25/05/2021 10:59 )  
DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)  
Matrícula: 2318733

(Assinado digitalmente em 22/05/2021 18:04 )  
JULIO ISRAEL FERNANDES  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)  
Matrícula: 4563410

(Assinado digitalmente em 21/05/2021 19:21 )  
ARY ELIAS ABOUD DUTRA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 781.060.877-00

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelas oportunidades e pelas dificuldades superadas na vida. Aos meus pais Luiz Moraes e Angela Moraes por me guiarem desde o começo pelo caminho do conhecimento. Ao meu marido Wagner Barros por toda paciência e apoio durante toda essa jornada.

Agradeço ao meu orientador Julio Fernandes pela paciência, ensinamentos e por todo o suporte que me foi dado, e ao meu co-orientador Victor Cunha pela ajuda e orientações. Agradecimentos especiais à minha amiga Monica Padilla por me ajudar diretamente no desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço a todos os colaboradores e funcionários da UFRRJ que mantiveram a universidade em boas condições para que essa pesquisa fosse realizada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

## RESUMO

MORAES, Lais de Jesus. **Avaliação do prick test como um método auxiliar de diagnóstico de dermatite alérgica a picada de pulga em cães.** 2021. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

A dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP) é uma doença dermatológica comum no Brasil, que traz desconforto tanto para o animal, quanto ao tutor. O diagnóstico normalmente é feito através da anamnese, exame físico e resposta à terapia. Esses métodos são questionados pelo proprietário, hoje mais esclarecido e exigente, que busca um diagnóstico conclusivo, objetivo e rápido. Alguns estudos foram feitos com o teste intradérmico (TID) para auxiliar o diagnóstico dessa doença, porém os resultados apresentaram divergências. Uma alternativa seria a utilização do *prick test* (PT), que tem sido amplamente aceito na medicina humana como um método rápido, seguro, confiável e de baixo custo. O objetivo do estudo foi avaliar o *prick test* como método auxiliar no diagnóstico de dermatite alérgica à picada de pulga em cães. Foram selecionados 24 cães do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da raça beagle, machos e fêmeas, com idade igual ou superior a um ano. Esses animais foram alocados em dois grupos: o grupo 1 contendo 12 beagles sabidamente sem DAPP e o grupo 2 composto por 12 cães com diagnóstico clínico de DAPP. Os animais foram contidos fisicamente, colocados em decúbito lateral e tiveram a região do tórax tricotomizada e higienizada com solução fisiológica. Foi utilizada uma gota de cada solução: para o controle negativo foi utilizada uma solução salina glicerinada (50% de glicerol - estabilizante de proteínas) e fenolada (0,45% de fenol – conservante), controle positivo (histamina) e o extrato de pulga total, todos em duplicata. Esses foram inoculados na derme com o auxílio de um puntor Duotip-Test II. As leituras foram realizadas após 15 minutos e sendo consideradas reações positivas aquelas pápulas que apresentaram diâmetro ortogonal médio igual ou superior a 3 mm da média do diâmetro do controle negativo. Foi feito também a leitura 24 e 48 horas depois para avaliar reações tardias. As reações observadas ao extrato das pulgas nos dois grupos foram fracas e consideradas como não reagentes. Os resultados encontrados indicam que o *prick test* utilizado nesse estudo não foi capaz de auxiliar no diagnóstico da DAPP. Sendo assim, mais estudos com pacientes atendidos na rotina clínica e com outros extratos são necessários para que se possa avaliar melhor a acurácia da técnica.

**Palavras-chave:** alergia, caninos, percutâneo, puntor.

## ABSTRACT

MORAES, Lais de Jesus. **Evaluation of the prick test as an auxiliary diagnostic method for flea allergy dermatitis in dogs.** 2021. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Flea allergy dermatitis (FAD) is a common dermatological disease in Brazil, which brings discomfort for the animal and for the guardian. The diagnosis is usually based on anamnesis, physical examination and response to the treatment. These methods are questioned by the owner, now more enlightened and demanding, who wants a conclusive, objective and quick diagnosis. Some studies were made with the intradermal test (ID) to help on the disease diagnosis, but some results had divergencies. An alternative to help the diagnosis would be the use of prick tests (PT), which have been widely accepted in human medicine for being fast, safe, reliable and a low-cost method. The present study aimed to evaluate PT as an auxiliary tool in the diagnosis of FAD. 24 beagle dogs from the Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), male and female, aged one year or more were selected. These animals were divided into two groups: group 1 containing 12 beagles known to have no FAD and group 2, composed of 12 dogs with clinical diagnosis of FAD. The animals were physically restrained, placed in lateral decubitus and had the chest area trichotomized and cleaned. One drop of each solution was used: for the negative control, a glycerin saline solution (50% glycerol - protein stabilizer) and phenolate (0.45% phenol - preservative), positive control (histamine) and the whole body flea extract, all in duplicate. There were inoculated into the dermis with the aid of a Duotip-Test II puntor. The readings were taken after 15 minutes and those papules that had mean orthogonal diameter equal to or greater than 3 mm of the mean diameter of the negative control were considered positive reactions. Reading 24 and 48 later was also done to assess delayed reactions. The reactions observed to the flea extract in both groups were weak and considered to be non-reactive. The results found indicate that the prick test used in this study was not able to assist in the diagnosis of FAD. Therefore, further studies with patients seen in the clinical routine and with other extracts are necessary in order to better assess the accuracy of the technique.

**Key words:** allergy, canines, percutaneous, puntor.

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO DE LITERATURA

	Pág.
Tabela 1: Comparativo entre o <i>prick test</i> e o teste intradérmico em diversos critérios no diagnóstico de alergias .....	9



## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1: Animais portadores de dermatite alérgica à picada de pulga. A) Alopecia causada pelo auto traumatismo, localizada na região lateral do tórax e região caudo dorsal. B) Alopecia e piodermite secundárias à doença de base. (Gentilmente cedida pelo professor Julio Fernandes .....)	5
Figura 2: Padrão de localização das lesões da dermatite alérgica à picada de pulgas (Hnilica; Patterson, 2016) .....	6
Figura 3: Animal portador de dermatite alérgica à picada de pulga. A) Dia 0 – notar alopecia generalizada associada ao quadro de blefarite. B) Mesmo animal submetido ao tratamento com isoxazolina no dia +60 (Gentilmente cedida pelo professor Julio Fernandes).....)	7
Figura 4: Realização de inspeção à procura de pulgas ou excrementos com um pente fino (Gentilmente cedida pelo professor Julio Fernandes) .....	8
Figura 5: Realização do <i>prick test</i> com um puntor DuoTip Test II em um canino portador de dermatite alérgica à picada de pulga (Arquivo pessoal) .....	10
Figura 6: Contenção física e tricotomia da região lateral do tórax para a demarcação dos pontos de aplicação do controle negativo, controle positivo e do extrato de corpo total de pulgas .....	13
Figura 7: Demarcação dos pontos de inoculação do controle negativo, controle positivo e extrato.....)	14
Figura 8: Demarcação das pápulas com caneta dermográfica 15 minutos após a inoculação do controle negativo (A), controle positivo (B) e extrato de pulgas (C) .....	15

## **LISTA DE ABREVIACÕES**

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

DAPP – Dermatite alérgica à picada de pulga

FAD – Flea Allergy Dermatitis

HPVA – Hospital Veterinário de Pequenos Animais

ID – Intradermal Test

TID – Teste Intradérmico

LQPEV – Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

PT – Prick Test

RJ – Rio de Janeiro

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Definição	2
2.2	Etiopatogenia	2
2.3	Prevalência	3
2.4	Sinais Clínicos	4
2.5	Diagnóstico clínico e diagnósticos diferenciais	7
2.6	Testes Diagnósticos	8
2.7	Manejo Clínico	11
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
ANEXOS		
A-	Trabalho Científico	20
B-	Autorização da CEUA	34

## 1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, a relação homem-animal tem ficado cada vez mais estreita, principalmente com os cães e gatos. Muitos têm sido considerados membros da família, trazendo benefícios tanto para a saúde física, como para a saúde mental do ser humano. Visando o bem-estar, tanto humano quanto animal, a medicina veterinária vem buscando fornecer qualidade de vida para as pessoas e os animais através da manutenção e restauração da saúde.

A dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP) é umas das alergopatias mais comuns no Brasil em cães. De apresentação clínica diversa, os animais acometidos podem apresentar uma dermatite pruriginosa, eritematosa e papular, causando alopecia autoinduzida, pelagem áspera e opaca. À medida que os sinais vão se agravando, nota-se hiperpigmentação com hiperqueratose, por vezes, liquenificação. As regiões mais acometidas descritas na literatura incluem a região lombossacra, base da cauda, região caudomedial das coxas e região inguinal. Entretanto, não é possível afirmar que os tipos de lesões e localizações citadas é patognomônico da doença. Esses fatores causam diminuição na qualidade de vida do animal em função do prurido, infecções secundárias, além do desconforto de seu tutor por ver o animal com prurido intenso.

O diagnóstico da DAPP normalmente é feito através do histórico, anamnese, exame físico, presença da pulga e a resposta à terapia ectoparasiticida. Esses métodos são questionados pelo proprietário incrédulo, hoje mais esclarecido e exigente, que busca um diagnóstico conclusivo e objetivo, visto que cães apresentam infestação de pulgas sem sinais clínicos cutâneos, conforme eles mesmos relatam. Dessa forma, um método, rápido, prático e eficaz é de grande valia para o diagnóstico da mesma.

Estudos já foram realizados tentando diagnosticar DAPP com testes intradérmicos (com saliva ou corpo total de pulgas) e sorológicos em cães, mas, até então, não se obteve uma resposta conclusiva. De acordo com Deboer; Hillier (2001), nenhum teste alérgico é completamente sensível e específico. Apesar de pouco estudado em cães, o *prick test* (PT) tem sido amplamente utilizado na medicina humana como ferramenta auxiliar no diagnóstico de doenças alérgicas mediadas por IgE, mecanismo semelhante nos casos de DAPP em cães. Esse teste tem como vantagem ser rápido, indolor e de baixo custo, viabilizando seu uso no próprio consultório durante o atendimento.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi verificar o *prick test* como método auxiliar no diagnóstico de dermatite alérgica à picada de pulga em cães.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Definição

As dermatopatias alérgicas representam um grupo de doenças responsáveis por elevada casuística na clínica de pequenos animais, sendo a DAPP uma das queixas mais comuns feitas ao médico veterinário (MILLER JR et al., 2012). A DAPP é uma hipersensibilidade resultante da reação aos antígenos presentes na saliva da pulga. Essa doença caracteriza-se por inflamação crônica da pele, acompanhada de prurido, afetando humanos e animais de companhia, especialmente os cães (LEUNG, 1995; SCOTT et al., 2001). O fator predisponente mais importante para a DAPP é a exposição ao agente causador, predominantemente *Ctenocephalides felis felis*, que resulta em sensibilização e subsequente hipersensibilidade (VON RUEDORFFER et al., 2003) causada pela reação aos antígenos presentes na saliva do inseto (SCOTT et al., 2001; LAFFORT-DASSOT et al., 2004; GROSS et al., 2009; HEINRICH et al., 2018).

### 2.2 Etiopatogenia

Na DAPP, as reações imunológicas aos antígenos salivares participantes do processo são a hipersensibilidade imediata do tipo I, hipersensibilidade tardia do tipo IV e uma reação de fase tardia mediada por IgE (FOSTER, 2006; GROSS et al., 2009).

A hipersensibilidade imediata, também chamada de hipersensibilidade do tipo I, ocorre logo após a picada da pulga em animais pré sensibilizados, ativando uma cadeia de eventos depois da ligação do alérgeno ao IgE. A hipersensibilidade tardia (tipo IV) manifesta-se de 24 a 48 horas após a picada da pulga, com presença de células em resposta ao ingresso de linfócitos e macrófagos (HALLIWELL et al., 1987; REEDY et al., 1999; GROSS et al., 2009).

Estudos foram realizados com o objetivo de se determinar quais substâncias encontradas na saliva de pulgas, como polipeptídios, aminoácidos e compostos aromáticos, podem ser potencialmente alergênicos (LEE et al., 1997; SALZO, 2016). Além disso, se a liberação de histamina, anticoagulantes e enzimas proteolíticas, que levam à irritação da pele (GROSS et al., 2009), podem ocasionar a hipersensibilidade: imediata, intermediária e tardia (PATEL; FORSYTHE, 2010). Os resultados demonstraram que existe um grande número de alérgenos com peso molecular entre 40kDa e 128kDa de saliva de pulgas que causam hipersensibilidade em cães, comprovado em um estudo onde mais de 2000 glândulas salivares de pulgas fêmeas

adultas foram dissecadas, extraídas e fracionadas, para produção de extrato e que posteriormente seu potencial alergênico foi testado através de injeções intradérmicas (LEE et al., 1999).

Greene et al. (1993) relataram que alérgenos de pulgas foram identificados em 20 cães com DAPP, através da pesquisa de anticorpos IgE mensurados por quimioluminescência. No mínimo, 15 diferentes componentes foram identificados com peso molecular entre 14 a 150 kDa ligados à IgE, e cada soro demonstrou um padrão diferente de ligação. Nenhuma reação foi encontrada em cães normais. Já McDermott et al. (2000), num estudo de uma proteína de 18kDa isolada de saliva da pulga do gato (*C. felis felis*), encontraram 100% e 80% de reação positiva ao teste intradérmico em cães com DAPP experimentalmente e em ocorrência natural, respectivamente. Essa proteína, nomeada de *Cte f 1*, é o primeiro e mais importante antígeno descrito na DAPP.

A manifestação ocorre de acordo com a sensibilidade do animal para o antígeno em questão, independente da carga parasitária. Alguns pacientes desenvolvem a doença por um mínimo contato com o parasito, onde muitas vezes não são encontrados no animal (GROSS et al., 2009). Acredita-se que, quando o cão entra em contato com a pulga mais precocemente e inúmeras vezes, maior é a chance de desenvolver imunidade e não se tornar alérgico à picada do mesmo ou apresenta sinais característicos de DAPP mais brandos (GAMITO, 2009).

### 2.3 Prevalência

Dentre as doenças de pele, as dermatites alérgicas são as mais frequentes em cães (CARDOSO et al., 2011; GASPARETTO et al., 2013). A DAPP é umas das doenças dermatológicas alérgicas mais comuns em regiões onde há a presença de pulgas (HEINRICH et al., 2018; GROSS et al., 2009; LAFFORT-DASSOT et al., 2004; SCOTT et al., 2001).

A ocorrência da DAPP é considerada sazonal, sendo maior no verão nos países com estações do ano bem definidas, por serem mais quentes e úmidos. Em locais de climas tropicais é perene, pois a diferença climática não sofre tanta alteração durante o ano, tornando o ciclo do *Ctenocephalides felis felis* mais favorável (PATEL; FORSYTHE, 2010; SALZO, 2016).

Para Laffort-Dassot (2009) e Hnilica; Patterson (2016), o prurido pode ser ou não sazonal, dependendo da localização geográfica e clima no qual o animal se encontra. Mesmo quando o prurido está presente durante todo o ano, os sinais clínicos são mais marcantes durante as estações mais quentes. Para Bruet et al., 2012, apenas 21% dos proprietários observaram sazonalidade na DAPP em seus cães, sendo relatada maior frequência no verão.

Em um trabalho onde foi analisado os diagnósticos dados em 17 hospitais veterinários norte-americanos, reportou-se que a dermatite alérgica à picada de pulgas foi quatro vezes mais prevalente do que outras doenças dermatológicas alérgicas (SISCHO et al., 1989). Enquanto, na França, a dermatite atópica canina foi tida como mais comum do que a DAPP (CARLOTTI; COSTARGENT, 1994).

Um estudo retrospectivo feito por Cardoso et al. (2011) sobre as dermatopatias em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual do Norte do Paraná, demonstrou que 4,29% dos casos foram classificados como dermatite alérgica à picada de ectoparasitas. Esse resultado foi similar ao encontrado por Gasparetto et al. (2013) no Mato Grosso.

A prevalência da dermatite alérgica à picada de pulgas em cães atendidos no setor de dermatologia do hospital veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 2005 a 2010, foi de 5,8% (AMARANTE, 2012). Já em uma pesquisa feita em São Paulo, no período de 2003 a 2005, dentre as dermatopatias apresentadas, DAPP correspondeu a 12,8% da casuística (PENA, 2006). Em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, a DAPP representou 16,5% do total das dermatopatias não tumorais (SOUZA et al., 2009) A dermatite alérgica a picada de ectoparasitas foi observada em 27,5% dos casos de dermatopatias alérgicas na Bahia (MACHADO, 2017).

De acordo com Miller Jr et al. (2012) e Rhodes; Werner (2018), não há predisposição racial ou sexual na dermatite alérgica à picada de pulgas. Porém, Carlotti; Costargent (1994) relataram uma predisposição racial em cães da raça Chow Chow, Pastor dos Pirineus, Fox Terrier, Pequinês, Spaniel e Setter.

Cães predispostos à DAPP que vivem em regiões endêmicas para pulgas normalmente apresentam os primeiros sinais clínicos entre 3 e 5 anos de idade (MILLER JR et al., 2012; RHODES; WERNER, 2018). O início dos sinais clínicos pode aparecer em qualquer idade, porém raramente se manifestam em animais abaixo de 6 meses (SCOTT et al., 2001).

## **2.4 Sinais Clínicos**

A manifestação clínica inicial do animal com DAPP é o prurido intenso seguido do surgimento de pápulas (Rhodes; Werner, 2018). Em resposta a irritação, ocorre o auto traumatismo ocasionando alopecias (figura 1), escoriações e alterações seboreicas. Estas podem evoluir para liquenificação, hiperpigmentação, infecções secundárias como a dermatite piotraumática, bacteriana e seboreica secundária (SCOTT et al., 2001; GAMITO, 2009). A localização das lesões (figura 2) se concentram na região lombossacral, dorsal, na região medial da coxa, ventre e flancos, os quais são locais de predileção das pulgas, facilitando a

identificação da dermatopatia (MILLER JR et al., 2012; HNILICA; PATTERSON, 2016; DIAZ; RADIN, 2020). Alguns cães podem apresentar o comportamento de “pular” subitamente e começar a se mordiscar (FOSTER & FOIL, 2003).

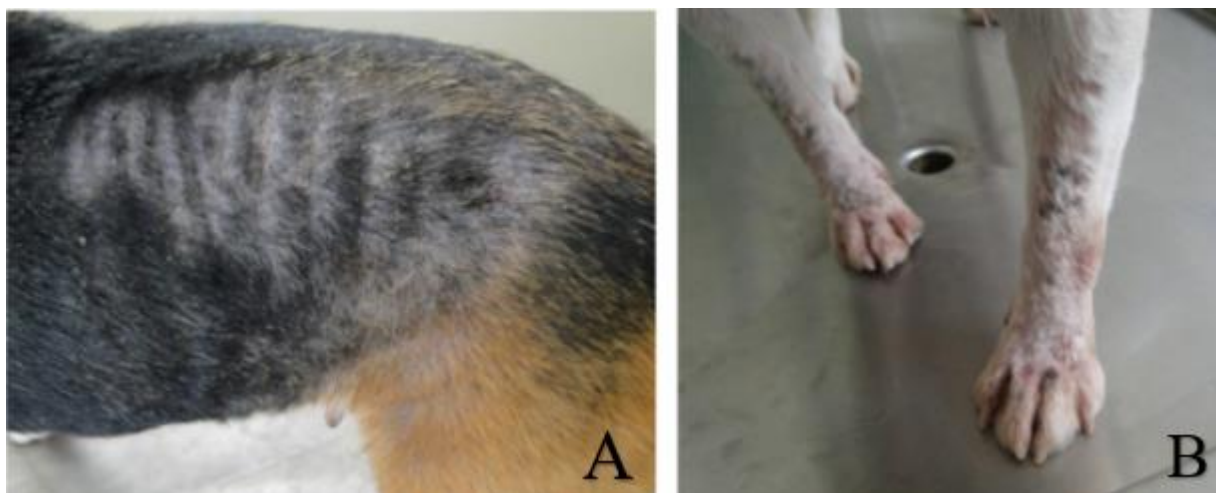


Figura 1: Animais portadores de dermatite alérgica à picada de pulga. A) Alopecia causada pelo auto traumatismo, localizada na região lateral do tórax e região caudo dorsal. B) Alopecia e piodermite secundárias à doença de base. (Fonte: professor Julio Fernandes - UFRRJ).

Uma vez que muitos cães com hipersensibilidade à picada de pulgas também são atópicos, sinais mistos de atopia e alergia são frequentemente vistos. Halliwell et al. (2001) sugerem que a dermatite atópica pode predispor cães a quadros de dermatite alérgica a picada de pulgas. Cães com sinais de otite, por exemplo, podem ter outra doença concomitante, como atopia ou hipersensibilidade alimentar. Infecções secundárias bacterianas e/ou por *Malassezia* sp. são frequentemente vistas, complicando o quadro clínico e intensificando o prurido. Alguns cães alérgicos também podem desenvolver granulomas por lambedura acral e dermatite piotraumática (MILLER JR et al., 2012).

Os cães que não são hipersensíveis à picadas de pulgas geralmente apresentam prurido transitório devido à atividade de alimentação das pulgas, mas a gravidade de seus sintomas são mais brandos do que os animais alérgicos (LAM; YU, 2009).



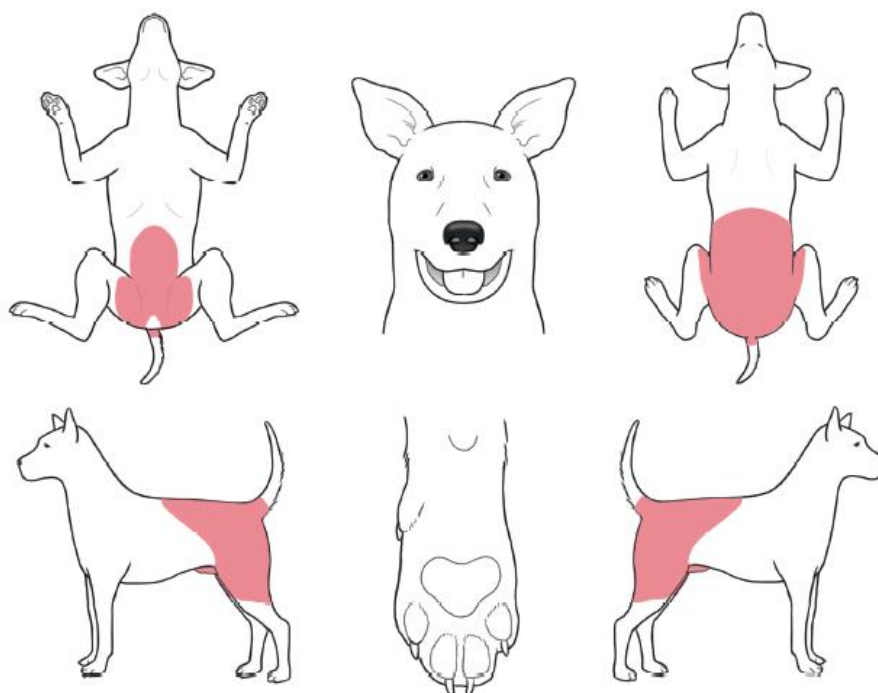


Figura 2: Padrão de localização das lesões da dermatite alérgica à picada de pulgas (regiões em cor rosa) (Hnilica; Patterson, 2016).

No estudo feito por Bruet et al. (2012), comparou-se as características do prurido causado pela DAPP, infestação por pulgas e dermatite atópica em cães, além da especificidade e sensibilidade diagnóstica. A presença do prurido primário foi considerada um diagnóstico com boa sensibilidade para atopia e hipersensibilidade à picada de pulgas, sendo que 81% dos proprietários dos cães com DAPP relataram a presença de prurido primário. A respeito da localização na DAPP, a região dorso-lombar, em conjunto com a região da cauda, teve uma sensibilidade de 69% e especificidade de 85%. Apenas a cauda houve uma sensibilidade de 12%, porém com especificidade de 97%. O ato de morder a região dorso-lombar teve uma sensibilidade de 63% e especificidade de 88%.

Nesse mesmo estudo, foi observado que a presença do reflexo podal era rara na DAPP (1%), importante característica para suspeita clínica de outras doenças pruriginosas, como sarna sarcóptica. A frequência e intensidade do prurido foi considerada alta em mais de 50% dos casos.

## 2.5 Diagnóstico clínico e diagnósticos diferenciais

O padrão ouro, atualmente descrito, para o diagnóstico de DAPP é através do histórico, anamnese e resposta à terapia. No histórico do animal deve conter informações como descrição, localização do prurido e lesões, idade do animal, visualização ou não de pulgas por parte do tutor, ambientes aos quais o animal tem acesso, presença ou não de outros animais na casa e a quanto tempo está apresentando o quadro. A melhora dos sinais com o uso de ectoparasiticidas dá suporte aos achados clínicos, dando maior credibilidade ao diagnóstico (figura 3) (MILLER JR et al., 2012).



Figura 3: Animal portador de dermatite alérgica à picada de pulga. A) Dia 0 - alopecia generalizada associada ao quadro de blefarite. B) Mesmo animal, 60 dias após tratamento com isoxazolina. (fonte: professor Julio Fernandes - UFRRJ).

Realizar inspeção no animal à procura de pulgas ou excrementos das mesmas deve ser feito com o auxílio de um pente fino metálico (figura 4) em todas as regiões corporais, além de inspecionar manualmente patas, espaços interdigitais, dorso, base das orelhas e abdômen (LAM; YU, 2009; PATEL; FORSYTHE, 2010).

Uma vez que DAPP está frequentemente associada à outras dermatopatias, um check-up para alergopatias deve ser feito, a fim de evitar que sinais atribuídos a atopia, alergia alimentar e intolerâncias mascarem os benefícios do controle de ectoparasitas, (DIDIER N. CARLOTTI; JACOBS, 2000; MILLER JR et al., 2012).



Figura 4: Realização de inspeção à procura de pulgas ou excrementos com um pente fino (Fonte: professor Julio Fernandes - UFRRJ).

As doenças dermatológicas pruriginosas podem ser incluídas como diagnósticos diferenciais para DAPP. As doenças mais comuns para diagnóstico diferencial são foliculite bacteriana, malasseziose, sarna sarcóptica, pediculose, demodicose, trombiculose, queiletielose, atopia e reação à alimentos (LAFFORT-DASSOT, 2009; MILLER JR et al., 2012; RHODES; WERNER, 2018).

## 2.6 Testes Diagnósticos

Os testes cutâneos podem ser classificados de acordo com a profundidade da pele em que os alergênicos são aplicados, tem-se como exemplos os testes intradérmicos (TID) e os testes percutâneos (figura 5) (KING; LOCKEY, 2003).

Testes alérgicos podem ser utilizados para o diagnóstico de DAPP, sendo mais utilizado o intradérmico (LAFFORT-DASSOT et al., 2004; HENSEL et al., 2004; SALZO, 2016). São inoculadas diluições de 1:1000 e 1:4000 de antígeno, ou a própria saliva da pulga, na pele do animal, observando se haverá reação e se essa é imediata, intermediária ou tardia (MILLER JR et al., 2012). A reação é observada através da formação de eritema cutâneo no local da inoculação. Stolper; Opdebeeck (1994) observaram a ocorrência de falsos positivos com essa técnica.

Na década de 90 desenvolveu-se a técnica de coleta e estudo da saliva de pulga, o que foi determinante para a purificação, caracterização e clonagem de antígenos salivares maiores. A maioria dos cães que apresentam hipersensibilidade à picada de pulgas, apresentam reação

imediate à injeção intradérmica, e essas parecem estar correlacionadas com a doença clínica (MILLER JR et al., 2012). No geral, os testes intradérmicos têm entre 50% e 90% de especificidade (cresce à medida que outras dermatopatias vão sendo descartadas) e 90% de sensibilidade (HILL, 2002).

O tipo de extrato utilizado tem grande influência no resultado do teste. Os ensaios feitos com saliva de pulga tiveram melhor correlação entre os sinais clínicos e o resultado do TID (LAFFORT-DASSOT et al., 2004). O teste percutâneo, teste por picada ou *skin prick test* é tido como teste de primeira opção em humanos para diagnóstico de alergias mediadas por IgE em pesquisas nos Estados Unidos (BERNSTEIN; STORMS, 1995) e Europa (EAACI et al., 1993). Ainda em humanos, os testes percutâneos são mais utilizados que os intradérmicos, devido ao seu menor custo, menor desconforto e menor risco de reações sistêmicas (DEMOLY et al., 2009), conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1. Comparativo entre o *prick test* e o teste intradérmico em diversos critérios no diagnóstico de alergias.

<b>Característica</b>	<b><i>Prick Test</i></b>	<b>Teste Intradérmico</b>
Simplicidade	+++	++
Velocidade	++++	++
Interpretação das reações positivas e negativas	++++	++
Desconforto	+	+++
Reações falso positivas	Raro	Possível
Reprodutibilidade	+++	++++
Sensibilidade	+++	++++
Especificidade	++++	+++
Detecção de anticorpos IgE	Sim	Sim
Segurança	++++	++

Fonte: Adaptado de ADKINSON JR et al. (2013).

Outras vantagens são: simplicidade, rapidez, facilidade de interpretação, maior especificidade, menor irritação e segurança. As desvantagens são a menor reprodutibilidade e menor sensibilidade comparado aos testes intradérmicos (ADKINSON JR et al., 2013).

Na medicina veterinária, poucos são os relatos do uso dessa técnica. Rossi et al. (2013) avaliou e comparou a resposta de substâncias controle em gatos saudáveis no teste percutâneo e no intradérmico. Foi observado que as pápulas formadas no *prick test* eram mais bem demarcadas e mais fáceis de se fazer a leitura. Para Carmona-Gil et al. (2019) o *prick test* é uma

ferramenta complementar e confirmatória importante no diagnóstico de dermatite atópica canina.



Figura 5: Realização do *prick test* com um puntor DuoTip Test II em um canino portador de dermatite alérgica à picada de pulga (Arquivo pessoal).

Os testes sorológicos também podem ser outra ferramenta auxiliar no diagnóstico. Esses testes são feitos através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para a detecção de imunoglobulinas IgE ou IgG específicas. A IgE ou IgG específica para *Ctenocephalides felis felis* no soro de um cão com suspeita de DAPP é detectada pela adição de uma antiglobulina ligada a uma enzima; o complexo imunoglobulina / antiglobulina / enzima é então detectado e medido por adição do substrato da enzima (TIZARD, 2017). No entanto, a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade variam, assim como a qualidade dos alérgenos utilizados (LAFFORT-DASSOT, 2009).

Um estudo encontrou altos níveis de IgE e IgG em cães alérgicos quando comparados aos do grupo controle (HALLIWELL; LONGINO, 1985), já outros dois mostraram o contrário (STOLPER; OPDEBEECK, 1994; LEE ET AL., 1999). Além disso, reações cruzadas com outros insetos podem ocorrer (PUCHEU-HASTON et al., 1996).

## 2.7 Manejo Clínico

O manejo clínico é fundamental não só para aliviar o desconforto dos animais, mas também para confirmar o diagnóstico de DAPP. Miller et al. (2012) reportaram que para um manejo eficiente é necessário reconhecer todos os fatores que estão acometendo o paciente. De acordo com ele, a hipersensibilidade à picada de pulgas frequentemente ocorre concomitante à outras alergias e o controle dessas é tão importante quando o combate as pulgas. O tratamento das infecções secundárias deve ser feito para diminuir o desconforto, além de que os sintomas podem ser aliviados com doses anti-inflamatórias de glicocorticoides em associação à terapia tópica. O aceponato de hidrocortisona oral teve bons resultados na redução do prurido, porém também enfatizam que tratamentos para infecções secundárias devem ser realizados (BONNEAU et al., 2009). Anti-histamínicos raramente são efetivos para o completo controle dos sintomas (RHODES; WERNER, 2018).

Um programa de manejo integrado na erradicação de pulgas é essencial, devido à progressiva tolerância dessas aos adulticidas. Deve-se, então, combinar reguladores do desenvolvimento de insetos com adulticidas e tratamento ambiental, uma vez que se estima que apenas 5% das pulgas estejam no cão, sendo o restante no ambiente (SCOTT et al., 2001; LAM; YU, 2009; HNILICA; PATTERSON, 2016). Entretanto, com o passar do tempo, alguns princípios ativos específicos vão perdendo o efeito devido à exposição crônica e à deriva genética da pulga (HNILICA; PATTERSON, 2016).

Cães tratados com o Bravecto® (fluralaner) tiveram uma boa remissão dos sinais clínicos, com 85,7% desses tendo resolução imediata das lesões quando comparadas com as lesões que tinham no início do estudo. Esse mesmo estudo comparou a eficácia do Bravecto® (fluralaner) com o Frontline® (fipronil) e, embora as pulgas devam se alimentar para serem expostas ao tratamento sistêmico, o grau de eficácia do controle de pulgas alcançado levou à eliminação dos sinais clínicos de DAPP em uma taxa mais alta do que o observado com o tratamento tópico com o fipronil (ROHDICH et al., 2014). Crosaz et al. (2016) também obteve bons resultados com o fluralaner oral no controle da DAPP.

Em um estudo realizado por Cavalleri et al., 2017, o lotilaner aliviou ou eliminou os sinais clínicos de DAPP. Os comprimidos de lotilaner tiveram eficácia acima de 99% na eliminação de pulgas dos cães na primeira avaliação pós tratamento (dia 14). A eficácia foi mantida até o dia 84, com melhorias correspondentes nos sinais de DAPP. O lotilaner também demonstrou melhor resultado no controle de pulgas do que o fipronil.

O sarolaner administrado por via oral em intervalos mensais em uma dosagem mínima de 2 mg / kg foi seguro e altamente eficaz contra infestações naturais de pulgas em cães, melhorando os sinais clínicos de DAPP (BECSKEI et al., 2016).

O Simparica Trio™, um comprimido contendo sarolaner, moxidectina e pirantel também se mostrou eficaz na redução dos sinais clínicos de DAPP. Devido a rápida redução na infestação por pulgas, os sintomas reduziram substancialmente com o tratamento (BECSKEI et al., 2020).

Em um outro estudo a selamectina tópica foi utilizada por 2 meses, com intervalos mensais, sem fazer um tratamento ambiental e com mínima intervenção terapêutica, e demonstrou efetividade na redução dos sinais clínicos de DAPP em cães e gatos (DICKIN et al., 2003). Outro tratamento feito com indoxicarbe tópico por 12 semanas, com intervalos de 4 semanas, obteve excelente controle dos sinais clínicos da doença, mesmo sem o uso concomitante de outro ectoparasiticidas ou terapia antipruriginosa (FISARA et al., 2014).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **Localização do estudo e aspectos éticos**

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), vinculado ao Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O mesmo recebeu aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição (IV-UFRRJ), sob o número 9733250419 (ANEXO A).

#### **Extrato de pulgas**

Para a realização do experimento, foram obtidas 10.000 pulgas adultas, não alimentadas, provenientes da colônia de *Ctenocephalides felis felis* mantida no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária LQEPV, vinculada ao Departamento de Parasitologia Veterinária do Instituto de Veterinária da UFRRJ. As pulgas foram separadas da colônia com o auxílio de um aspirador adaptado com uma pipeta Pasteur descartável, imediatamente congeladas e mantidas a -20°C até a preparação do extrato. Todas as pulgas foram enviadas ao laboratório FDA ALERGENIC Ltda para a fabricação de um extrato de corpo total de pulgas na concentração 1:20 peso/volume. Esse foi armazenado em uma temperatura entre 2 e 8°C. O extrato foi analisado quanto ao perfil proteico (SDS-PAGE) mediante eletroforese, para confirmação de que o processo de extração das proteínas foi eficiente.

### **Animais utilizados**

Para a realização dos testes foram utilizados um total de 24 cães adultos da raça beagle pertencentes ao LQEPV. Todos os animais possuíam idade igual ou superior a um ano e não foi feita distinção quanto ao sexo. A seleção foi baseada no histórico clínico do animal (animais que desenvolveram lesões cutâneas assim que eram desafiados com pulgas e / ou carrapatos) sendo metade dos cães com histórico clínico de DAPP (grupo experimental) e os outros 12 saudáveis. Foram excluídos os animais que tinham sido tratados com glicocorticoides orais, tópicos ou injetáveis, ciclosporina ou oclacitinib por um mínimo de 3 semanas antes do estudo.

### **Delineamento experimental**

Para a realização do experimento, os animais foram contidos fisicamente, colocados em decúbito lateral e tiveram a região do tórax tricotomizada e higienizada com solução fisiológica (Figura 6). Após a preparação do animal, foram feitas as marcações dos pontos de aplicação (controle negativo, positivo e teste) com uma caneta dermatográfica, com intervalos de três centímetros de distância cada (Figura 7). Esse processo foi realizado em duplicata, totalizando seis pontos de aplicação.



Figura 6: Contenção física e tricotomia da região lateral do tórax para a demarcação dos pontos de aplicação do controle negativo, controle positivo e do extrato de corpo total de



pulgas.

Para o controle negativo, foi utilizada uma solução salina glicerinada (50% de glicerol - estabilizante de proteínas) e fenolada (0,45% de fenol - conservante), e para o controle positivo, uma solução de histamina contendo 2,5 mg de histamina base por mililitro. Para o teste foi utilizado extrato de corpo total de pulgas, fabricado pela empresa FDA ALERGENIC Ltda, na concentração de 1:20 peso/volume. O extrato continha glicerol 50%, funcionando como estabilizante de proteínas, e fenol 0,45%, agindo como conservante.



Figura 7: Demarcação dos pontos de inoculação do controle negativo, controle positivo e extrato de corpo total de pulgas.

Com o cão em decúbito lateral, uma gota de cada substância foi colocada sobre a pele nos pontos previamente marcados e com ajuda do puntor Duotip-Test II® (um para cada aplicação), cada substância foi inoculada na derme fazendo uma puntura em um ângulo de 45°. O excesso das substâncias foi removido da pele com um papel toalha imediatamente após as punções e as leituras foram realizadas após 15 minutos, iniciando pelos controles positivos.

Para calcular o diâmetro das reações utilizou-se o diâmetro ortogonal médio. As pápulas formadas foram delimitadas com caneta dermatográfica para melhor visualização (Figura 8) e a leitura do diâmetro foi feita com o auxílio de uma régua dermatológica. Foram consideradas

como uma resposta positiva, aquelas pápulas que apresentaram diâmetro ortogonal médio igual ou superior a 3 mm da média do diâmetro do controle negativo. Os animais com reações negativas foram reavaliados 24 e 48 horas depois da realização do teste para verificar a ocorrência de reações tardias.

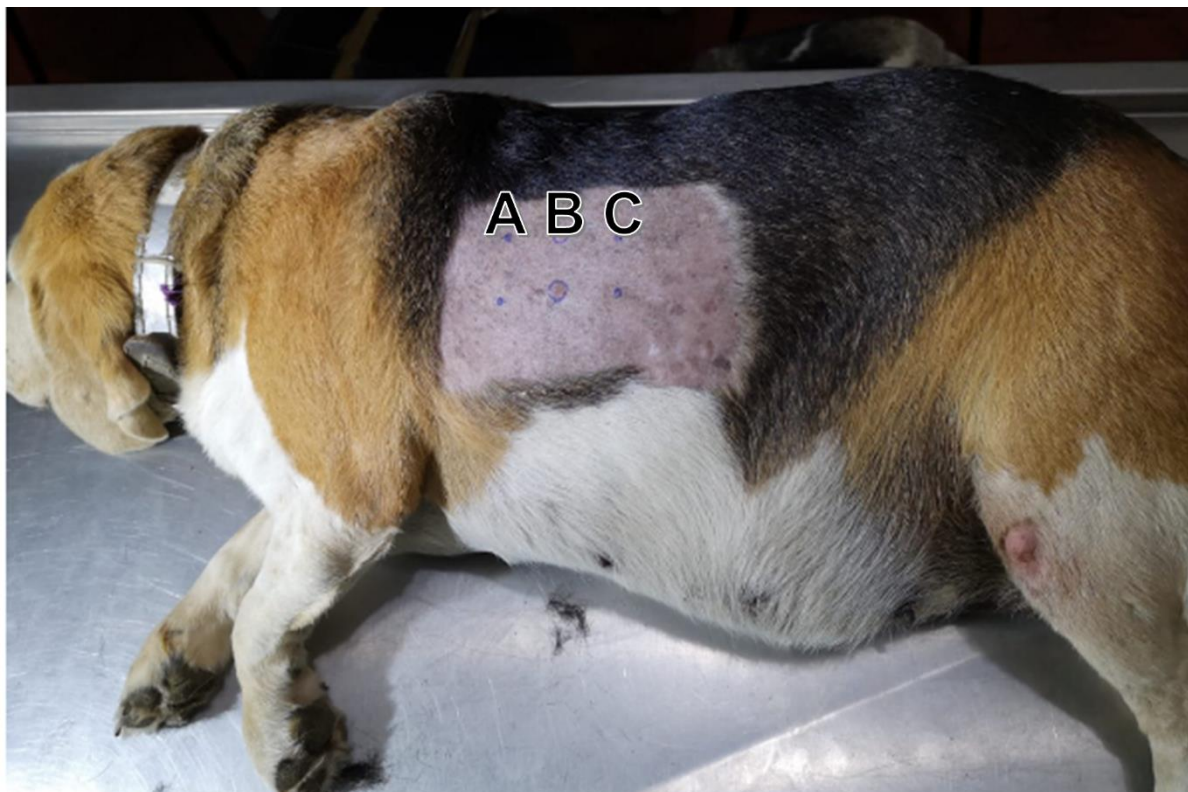


Figura 8: Demarcação das pápulas com caneta dermatográfica 15 minutos após a inoculação do controle negativo (A), controle positivo (B) e extrato do corpo de pulgas (C).

#### 4.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADKINSON JR, N. F. et al. **Middleton's allergy E-Book: Principles and practice**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2013.

AMARANTE, C. F. do. Análise epidemiológica das dermatopatias de uma população canina atendida no período de 2005 a 2010 no Setor de Dermatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2012. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Disponível em: < <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/1780>>

BECSKEI, C. et al. Efficacy and safety of a novel oral isoxazoline, sarolaner (Simparica™) in the treatment of naturally occurring flea and tick infestations in dogs presented as veterinary patients in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 222, p. 49–55, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716300322>>.

BECSKEI, C. et al. Efficacy of a novel oral chewable tablet containing sarolaner, moxidectin and pyrantel (Simparica Trio™) against natural flea and tick infestations on dogs presented as veterinary patients in Europe. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 72, 2020. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1186/s13071-020-3946-1>>.

BERNSTEIN, I. L.; STORMS, W. W. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint Task Force on Practice Parameters for the Diagnosis and Treatment of Asthma. The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the American College of Allergy, Asthma and Immunology. **Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology**, v. 75, n. 6 Pt 2, p. 543, 1995.

BONNEAU, S. et al. Therapeutic efficacy of topical hydrocortisone aceponate in experimental flea-allergy dermatitis in dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, n. 7, p. 287–291, 2009.

BRUET, V. et al. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 6, p. 1–8, 2012.

CARDOSO, M. J. L. et al. Dermatopatias em cães: Revisão de 257 casos. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 2, p. 66–74, 2011.

CARLOTTI, D. N.; COSTARGENT, F. Analysis of positive skin tests in 449 dogs with allergic dermatitis. **European journal of companion animal practice**, v. 4, p. 42–59, 1994.

CARLOTTI, D. N.; JACOBS, D. E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 11, n. 2, p. 83–98, 2000.

CARMONA-GIL, A. M.; SÁNCHEZ, J.; MALDONADO-ESTRADA, J. Evaluation of Skin Prick-Test Reactions for Allergic Sensitization in Dogs With Clinical Symptoms Compatible With Atopic Dermatitis. A Pilot Study. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. December, p. 1–8, 2019.

CAVALLERI, D. et al. A randomised, blinded, controlled field study to assess the efficacy and safety of lotilaner tablets (Credelio™) in controlling fleas in client-owned dogs in European countries. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 526, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-017-2479-8>>.

CROSAZ, O. et al. Open field study on the efficacy of oral fluralaner for long-term control of flea allergy dermatitis in client-owned dogs in Ile-de-France region. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1–5, 2016.

DEBOER, D. J.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): Fundamental concepts in clinical diagnosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 271–276, 20 set. 2001.

DEMOLY, P. et al. Middleton's allergy: principles and practice. 2009.

DIAZ, S.; RADIN, M. J. **Inflammatory Diseases of the Skin** *Veterinary Cytology*: Wiley Online Books., 1 set. 2020. . Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119380559.ch11>>.

DICKIN, S. K. et al. Efficacy of selamectin in the treatment and control of clinical signs of flea allergy dermatitis in dogs and cats experimentally infested with fleas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 5, p. 639–644, 2003.

EAACI, D. S. et al. Position paper: allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. **Allergy**, v. 48, n. 14 Suppl, p. 48–82, 1993.

FISARA, P. et al. An open, self-controlled study on the efficacy of topical indoxacarb for

eliminating fleas and clinical signs of flea-allergy dermatitis in client-owned dogs in Queensland, Australia. **Veterinary Dermatology**, v. 25, n. 3, p. 195–199, 2014.

FOSTER, A. P. Flea allergy dermatitis in the dog. **UK Vet Companion Animal**, v. 11, n. 8, p. 63–66, 2006.

FOSTER, A. P.; FOIL, C. S. **BSAVA manual of small animal dermatology**. [s.l.: s.n.]

GAMITO, M. S. R. **Dermatites parasitárias no cão** Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, , 2009. .

GASPARETTO, N. D. et al. Prevalência das doenças de pele não neoplásicas em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 359–362, 2013.

GREENE, W. K. et al. Characterization of allergens of the cat flea, *Ctenocephalides felis*: detection and frequency of IgE antibodies in canine sera. **Parasite Immunology**, v. 15, n. 2, p. 69–74, 1993.

GROSS, T. L. et al. Doenças de pele do cão e do gato: diagnóstico clínico e histopatológico. **Roca, São Paulo**. 889p, 2009.

HALLIWELL, R. E.; PRESTON, J. F.; NESBITT, J. G. Aspects of the immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 17, n. 1–4, p. 483–494, 1987.

HALLIWELL, R. E. W.; LONGINO, S. J. IgE and IgG antibodies to flea antigen in differing dog populations. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 8, n. 3, p. 215–223, 1985.

HEINRICH, N. A. et al. **Skin Diseases of the Dog and Cat**. [s.l.] CRC Press, 2018.

HENSEL, P. et al. Determination of threshold concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in canine intradermal testing. **Veterinary dermatology**, v. 15, n. 5, p. 304–308, 2004.

HILL, P. B. **Small animal dermatology: A practical guide to the diagnosis and management of skin diseases in dogs and cats**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2002.

HNILICA, K. A.; PATTERSON, A. P. **Small Animal Dermatology-E-Book: A Color Atlas and Therapeutic Guide**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2016.

KING, M. J.; LOCKEY, R. F. Allergen prick-puncture skin testing in the elderly. **Drugs & aging**, v. 20, n. 14, p. 1011–1017, 2003.

LAFFORT-DASSOT, C. et al. Diagnosis of flea allergy dermatitis: Comparison of intradermal testing with flea allergens and a FcεRI α-based IgE assay in response to flea control. **Veterinary Dermatology**, v. 15, n. 5, p. 321–330, 2004.

LAFFORT-DASSOT, C. Flea allergy in dogs: clinical signs and diagnosis. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 19, n. 3, p. 242–248, 2009. Disponível em: <[http://www.fecava.org/files/EJCAP\\_19-3\\_p\\_242\\_248\\_Laffort.pdf](http://www.fecava.org/files/EJCAP_19-3_p_242_248_Laffort.pdf)>.

LAM, A.; YU, A. Overview of flea allergy dermatitis. **Compendium (Yardley, PA)**, v. 31, n. 5, p. E1-10, 2009.

- LEE, S. E. et al. Putative salivary allergens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 69, n. 2–4, p. 229–237, 1999.
- LEE, S. E.; JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. Salivary antigens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. **Parasite immunology**, v. 19, n. 1, p. 13–19, 1997.
- LEUNG, D. Y. M. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic allergic diseases. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 96, n. 3, p. 302–319, 1995.
- MACHADO, G. A. C. Dermatopatias diagnosticadas em cães no hospital de medicina veterinária da Universidade Federal da Bahia por avaliações histopatológicas (2007-2016) e clínico-laboratoriais (2015-2017). 2017. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia. Disponível em: <<http://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/31758>>
- MCDERMOTT, M. J. et al. Identification, cloning, and characterization of a major cat flea salivary allergen (Cte f 1). **Molecular Immunology**, v. 37, n. 7, p. 361–375, 2000.
- MILLER JR, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. **Muller and Kirk's small animal dermatology**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2012.
- PATEL, A.; FORSYTHE, P. Dermatite alérgica à picada de pulgas. \_\_\_\_\_. **Dermatologia em pequenos animais. 1ed. Rio de Janeiro: Elsevier**, p. 28–34, 2010.
- PUCHEU-HASTON, C. M. et al. Allergenic cross-reactivities in flea-reactive canine serum samples. **American journal of veterinary research**, v. 57, n. 7, p. 1000–1005, 1996.
- REEDY, L. M.; MILLER, W. H.; WILLEMSE, T. Introduction to allergy. **Allergic Skin Diseases of Dogs and Cats. 2nd ed. London, UK: WB Saunders**, p. 1–24, 1999.
- RHODES, K. H.; WERNER, A. H. **Blackwell's five-minute veterinary consult clinical companion: small animal dermatology**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2018.
- ROHDICH, N.; ROEPKE, R. K. A.; ZSCHIESCHE, E. A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 83, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-83>>.
- ROSSI, M. A. et al. A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. **Veterinary dermatology**, v. 24, n. 5, p. 488-e115, 2013.
- SALZO, P. S. Dermatite atópica. **Tratado de Medicina Externa-Dermatologia Veterinária. São Caetano do Sul: Interbook**, p. 513–529, 2016.
- SCOTT, D. W.; MILLER, D. H.; GRIFFIN, C. E. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology, 6th edn. WB Saunders, Philadelphia**, 2001.
- SISCHO, W. M.; IHRKE, P. J.; FRANTI, C. E. Regional distribution of ten common skin diseases in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 6, p. 752–756, 1989.
- SOUZA, T. M. et al. **Prevalência das dermatopatias não-tumorais em cães do município de Santa Maria, Rio Grande do Sul (2005-2008) Pesquisa Veterinária Brasileira** scielo , , 2009.

STOLPER, R.; OPDEBEECK, J. P. Flea allergy dermatitis in dogs diagnosed by intradermal skin tests. **Research in veterinary science**, v. 57, n. 1, p. 21–27, 1994.

TIZARD, I. R. **Veterinary Immunology-E-Book**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017.

VON RUEDORFFER, U. et al. Flea Bite Hypersensitivity: New Aspects On The Involvement Of Mast Cells. **The Veterinary Journal**, v. 165, n. 2, p. 149–156, 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023302001600>>.

**ANEXO A****Trabalho nas normas do periódico****Pesquisa Veterinária Brasileira (A2) – Português****AVALIAÇÃO DO PRICK TEST COMO MÉTODO AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO  
DE DERMATITE ALÉRGICA À PICADA DE PULGA EM CÃES**

**Avaliação do *Prick Test* como método auxiliar no diagnóstico de dermatite alérgica à picada de pulgas em cães: estudo piloto<sup>1</sup>**

Lais J. Moraes<sup>2</sup>; Mónica Y. Padilla<sup>2</sup>; Vitor E.S Cunha<sup>3</sup>; Ciro E. de Oliveira<sup>4</sup>; Carlos A. Paiva<sup>3</sup>, Julio I. Fernandes<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em: Pesquisa Veterinária Brasileira

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Rodovia BR 465, Km 07 - Zona Rural, Seropédica - RJ, 23890-000, Brazil

<sup>3</sup> A\V Clínica de Alergia e Dermatologia Veterinária, Av Américas 5777/101 Barra da Tijuca, Rio de Janeiro – RJ, Brazil.

<sup>4</sup> Instituto de Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Rodovia BR 465, Km 07 - Zona Rural, Seropédica - RJ, 23890-000, Brazil

<sup>5</sup> Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. \*Corresponding author: [vetjulio@yahoo.com.br](mailto:vetjulio@yahoo.com.br)

**ABSTRACT.** - Moraes L.J; Padilla M.Y; Cunha V.E.S, de Oliveira C.E; Paiva C.A.; Fernandes J.I. 2021. **Avaliação do Prick Test como método auxiliar no diagnóstico de dermatite alérgica à picada de pulgas em cães: estudo piloto.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* xx(x):xxx-xxx. Medicine and Surgery Veterinary Department, Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, 23897-000 Seropédica, RJ, Brazil. E-mail: [fernandesji@ufrj.br](mailto:fernandesji@ufrj.br)

Flea allergy dermatitis (FAD) is an erythematous and papular pruritic dermatosis with high prevalence in areas where fleas are endemic. The diagnosis is based on historical, clinical data, response to the treatment and supported by intradermal and serological tests. The skin prick test (SPT) has been used in human medicine for the diagnosis of allergic diseases mediated by IgE and has been accepted as a fast, safe, reliable and low cost method. This test has been poorly studied in dogs and there is insufficient information on its use to identify sensitivity to flea allergens. The aim of the study was to evaluate reactions to flea whole body extract using SPT in dogs with a clinical history of FAD and dogs without history of the disease. The test was performed on the lateral region of the chest with the help of a Duotip-Test II® punctor. The reactions observed to the flea extract in both groups were weak and considered to be non-reactive. The results found indicated that the prick test used in this study was not able



to assist in the diagnosis of PADD. Therefore, further studies with patients seen in the clinical routine and with other extracts are necessary in order to better assess the accuracy of the technique.

**Keywords:** prick test, flea, intradermal test, allergen, dermatitis.

**RESUMO.** [Avaliação do *Prick Test* como método auxiliar no diagnóstico de dermatite alérgica à picada de pulgas em cães: estudo piloto]. A dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP) é uma dermatose pruriginosa eritematosa e papular de alta prevalência nas áreas onde as pulgas são endêmicas. O diagnóstico é realizado através do histórico, anamnese, exame físico, presença da pulga e a resposta à terapia ectoparasiticida. Esses métodos são questionados pelo proprietário incrédulo, hoje mais esclarecido e exigente, que busca um diagnóstico conclusivo. O *prick test* (PT) tem sido usado na medicina humana para o diagnóstico de doenças alérgicas mediadas por IgE e tem sido amplamente aceitado por ser um método rápido, seguro, confiável e de baixo custo. Este teste tem sido pouco estudado em cães e não existem informações suficientes sobre o seu uso para identificação da sensibilidade ao alérgeno da pulga. O objetivo deste estudo foi avaliar as reações ao extrato de corpo inteiro das pulgas mediante PT em cães com histórico clínico DAPP e cães sem histórico da doença. O teste foi realizado na região lateral do tórax com ajuda de um puntor Duotip-Test II®. As reações observadas ao extrato das pulgas nos dois grupos foram fracas e consideradas como não reagentes. Os resultados encontrados indicam que o *prick test* utilizado nesse estudo não foi capaz de auxiliar no diagnóstico da DAPP. Sendo assim, mais estudos com pacientes atendidos na rotina clínica e com outros extratos são necessários para que se possa avaliar melhor a acurácia da técnica.

**Palavras-chave:** teste percutâneo, pulga, teste intradérmico, alérgeno, dermatite.

## INTRODUÇÃO

A dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP) é uma das principais dermatoses pruriginosas em cães nas áreas onde as pulgas são endêmicas (Laffort-Dassot et al. 2004). Não existe uma predisposição por sexo ou raça e pode se desenvolver em cães de qualquer idade (Lam & Yu 2009). A DAPP é caracterizada por uma dermatite pruriginosa que afeta principalmente a região lombossacra, base da cauda, região caudomedial das coxas e região inguinal (Laffort-Dassot 2009; Bruet et al. 2012; Crosaz et al. 2016). Em resposta à irritação, ocorre o auto traumatismo ocasionando alopecias, escoriações e alterações seborreicas. Estas podem evoluir para liquenificação, hiperpigmentação, infecções secundárias como a dermatite piotraumática,

bacteriana e seborreica secundária (Scott et al. 2001; Gamito 2009), condições que afetam a qualidade de vida do animal.

Dados históricos, clínicos e avaliação da resposta ao tratamento são a base do diagnóstico e durante décadas os testes cutâneos têm sido necessários para o diagnóstico definitivo da doença (Laffort-Dassot 2009). O teste intradérmico (TID) é a técnica de eleição para identificação de sensibilização em cães, porém, pode gerar com frequência resultados falsos positivos e reações falsas negativas, causadas pelo tipo de extrato ou pela falta de técnica por parte do veterinário (Laffort-Dassot et al. 2004).

Os testes sorológicos para detecção de IgE ou IgG específicas também têm sido utilizados para o diagnóstico de DAPP, porém, a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade variam muito, e o seu uso na rotina clínica tem sido motivo de debate (Laffort-Dassot 2009). Os resultados existentes variam consideravelmente, alguns autores encontraram níveis maiores de anticorpos em cães com DAPP que em pacientes hígidos (Halliwell & Longino 1985), no entanto, outros encontraram o oposto (McKeon & Opdebeeck 1994).

Devido à escassez de testes para diagnóstico de DAPP, o teste cutâneo intradérmico com extratos de pulga ainda é a técnica de eleição para identificação de sensibilização em cães. No entanto, devido a que a sensibilidade e especificidade do teste podem variar dependendo do tipo de alérgeno de pulga utilizado (extrato do corpo inteiro ou alérgeno da saliva) e da experiência do médico na realização do procedimento (Laffort-Dassot et al. 2004) é necessário explorar outras opções para a confirmação do diagnóstico dessa doença. Uma alternativa aos testes intradérmicos seria a utilização dos testes percutâneos (PT) que tem sido usados em humanos para o diagnóstico de doenças alérgicas mediadas por IgE e são amplamente aceitos como métodos seguros, confiáveis e rentáveis (Fрати et al. 2018).

O PT de punção ou puntura ou também conhecidos como “*prick test*” tem sido pouco estudado em cães. Carnett e Plant (2018) usaram este teste em cachorros saudáveis com a finalidade de estabelecer as concentrações ótimas de oito alérgenos para atingir o limiar irritante, os resultados desse estudo demonstram que este teste tem uma garantia razoável de poucas reações falsas positivas em cachorros saudáveis; mais recentemente Carmona-Gil et al. (2019), realizaram um estudo piloto com este teste em cães atópicos.

A informação disponível sobre o uso PT para identificação da sensibilidade ao alérgeno da pulga é insuficiente, por tanto o objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade do teste no diagnóstico de DAPP.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Localização do estudo e aspectos éticos**

O estudo foi realizado no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), vinculado ao Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição (IV-UFRRJ), sob o número 9733250419.

### **Extrato de pulgas**

Foram obtidas 10.000 pulgas adultas, não alimentadas, provenientes da colônia de *Ctenocephalides felis felis* mantida no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária LQEPV, vinculada ao Departamento de Parasitologia Veterinária do Instituto de Veterinária da UFRRJ. As pulgas foram separadas com o auxílio de um aspirador adaptado com uma pipeta pasteur descartável, imediatamente congeladas e mantidas a -20°C até a preparação do extrato. Todas as pulgas foram enviadas ao laboratório FDA ALERGENIC Ltda para a fabricação de um extrato de corpo total de pulgas na concentração 1:20 peso/volume. O extrato foi analisado quanto ao perfil proteico (SDS-PAGE) mediante eletroforese, para confirmação de que o processo de extração das proteínas foi eficiente (Fig. 1).

### **Cães**

Um total de 24 cães da raça beagle, machos e fêmeas com idade igual ou superior a um ano, do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), foram incluídos no estudo. Todos os animais estavam vacinados e vermifugados no momento da seleção, sem a presença de lesões dermatológicas. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: Grupo 1: 12 cães saudáveis (grupo controle); Grupo 2: 12 cães com histórico de DAPP, confirmados a partir de resposta terapêutica (grupo experimental). Foram excluídos os animais que tinham sido tratados com glicocorticoides orais, tópicos ou injetáveis, ciclosporina ou oclacitinib por um mínimo de três semanas antes do estudo. Não foram descartadas outras doenças alérgicas nos cães.

### **Delineamento experimental**

Os animais foram contidos fisicamente e colocados em decúbito lateral. Foi realizada tricotomia na região lateral do tórax com auxílio de uma máquina de tosa, seguido de a higienização do local com solução salina fisiológica. Após a tricotomia e a higienização, foram feitas as marcações dos pontos de aplicação (controle negativo, positivo e teste) com uma caneta dermográfica, com intervalos de três centímetros de distância entre cada um, todas foram feitas em duplicata, totalizando seis pontos de aplicação (Fig. 2A). Para o controle negativo, foi utilizado solução salina glicerinada (50% de glicerol) e fenolada (0,45% de fenol) e para o controle positivo uma solução de histamina contendo 2,5 mg de histamina base por mililitro. Para o teste foi utilizado extrato de corpo total de pulgas, fabricado pela empresa FDA ALERGENIC Ltda, na concentração de 1:20 peso/volume. O extrato continha glicerol 50%, funcionando como estabilizante de proteínas, e fenol 0,45%, agindo como conservante.

Com o cão em decúbito lateral, uma gota de cada substância foi colocada sobre a pele do animal nos pontos previamente marcados e com ajuda de um puntor Duotip-Test II® (um para cada aplicação), cada substância foi inoculada na derme fazendo puntura em ângulo de 45° (Fig. 2B). O excesso das substâncias foi removido da pele com uma toalha de papel imediatamente após as punções e as leituras foram realizadas após 15 minutos, iniciando pelos controles positivos. Foram consideradas como uma resposta positiva, as pápulas que possuíram um diâmetro de 3 mm maior que o diâmetro da reação provocada pelo controle negativo. Para calcular o diâmetro das reações utilizou-se o diâmetro ortogonal médio. As pápulas formadas foram delimitadas com caneta dermográfica para melhor visualização (Fig. 2C) e a leitura do diâmetro foi feita com o auxílio de uma régua dermatológica (Fig. 2D). Os animais com reações negativas foram reavaliados 24 e 48 horas depois da realização do teste para verificar a ocorrência de reações tardias. A contenção dos animais foi apenas por meios físicos, não sendo necessário o uso de sedativos e/ou anestésicos para a realização do teste.

## RESULTADOS

O resultado do PT foi bem tolerado em todos os cães e não foram observadas reações adversas. Todos os animais do estudo tinham idades iguais ou superiores a um ano, o grupo com histórico de DAPP estava composto por 10 fêmeas e 2 machos e o grupo sem histórico de DAPP foi composto por 4 fêmeas e 8 machos. Os resultados da média do *prick test* nos animais portadores de DAPP e sem DAPP (grupo controle) estão descritos da tabela 1 e 2. Todos os animais tiveram uma reação positiva à histamina (controle positivo) em ambos os grupos, confirmando a funcionalidade do teste. As pápulas do controle positivo tiveram uma

média de  $6,08 \pm 1,21$  mm no grupo com DAPP e  $6,4 \pm 1,1$  mm no grupo sem DAPP, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $P=0,48$ ).

Nenhuma das reações ao extrato das pulgas foi considerada como positiva nos grupos. 91,6% dos cães do grupo com DAPP (11) apresentaram fraca reação ao teste com o alérgeno, com um diâmetro médio das pápulas de 1,29 mm e um desvio padrão de 0,8 mm. 58,3% dos animais do grupo sem DAPP (7) também apresentaram reação ao alérgeno com pápulas de diâmetro médio de 1,14 mm e um desvio padrão de 1,27 mm. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ( $P=0,74$ ). Os cães foram reavaliados 24 e 48 horas depois da realização do teste, mas nenhum deles apresentou reações tardias ao alérgeno, pelo que foi confirmado o resultado negativo em todos os pacientes.

Um total de 33% dos cães do grupo com DAPP e 33% do grupo sem DAPP apresentaram uma reação fraca ao controle negativo, com diâmetros médios de 1 mm e 1,37mm respectivamente..

## DISCUSSÃO

Mesmo após extensa revisão de literatura não foram encontrados trabalhos sobre a utilização do *prick test* como ferramenta diagnóstica para dermatite alérgica a picada de pulga em cães; os estudos existentes que usaram o PT avaliaram a viabilidade do teste em cães saudáveis (Carnett & Plant 2018) e em cães com dermatite atópica (Carmona-Gil et al. 2019), utilizando múltiplos alérgenos.

Atualmente, o teste intradérmico ainda é a técnica de eleição para identificação de sensibilização em cães, ao contrário da medicina humana, em que os testes percutâneos têm sido amplamente aceitados e são considerados como métodos seguros e confiáveis (Fрати et al. 2018). O teste intradérmico tem sido usado para o diagnóstico de DAPP, avaliando *in vivo* as reações de hipersensibilidade aos extratos de pulga (Laffort-Dassot et al. 2004). No entanto, com frequência, é necessária a sedação para conter adequadamente os pacientes e minimizar o estresse durante o procedimento, já que a contenção física pode causar liberação de corticosteroides endógenos, ou devido à agitação do animal, ocorrer injeção subcutânea acidental. Dessa maneira, pode-se inibir a resposta intradérmica e afetar os resultados do teste devido ao aumento dos falsos negativos (Graham et al. 2003).

A necessidade de sedação é uma das desvantagens do TID em comparação com o PT. Os estudos existentes que avaliam os PT em cães não tiveram necessidade sedação ou anestésicos

para o ótimo desenvolvimento do teste (Carnett & Plant 2018; Carmona-Gil et al. 2019), ocorrendo o mesmo neste estudo, no qual os animais não precisaram contenção química. Os beagles utilizados nesse estudo aceitaram a manipulação, entretanto, animais mais agitados ou que não estejam acostumados com a manipulação, por vezes, precisariam ser sedados.

No presente estudo, as reações ao extrato das pulgas foram fracas e não apresentaram diâmetro ortogonal médio de 3 mm superior ao controle negativo, motivo pelo qual não foram consideradas reações positivas. O extrato usado foi o extrato do corpo inteiro das pulgas o que pôde estar relacionado com os resultados obtidos, como já foi observado por Laffort-Dassot et al. (2004) nos TID. Nessa caso, a saliva das pulgas agiu como um melhor alérgeno, já que apresentou maior sensibilidade, especificidade e precisão em geral do que o extrato do corpo total das pulgas. Isso poderia ser explicado pelo fato de que os alérgenos estão presentes principalmente na saliva da pulga, que representa apenas 0,5% das proteínas nos extratos de pulgas de corpo total. Porém, as reações ao extrato de corpo inteiro também tiveram uma boa correlação com o diagnóstico da DAPP nesse estudo, ao contrário do que foi observado nos resultados deste trabalho.

As pulgas utilizadas para a fabricação do extrato de corpo total eram pulgas em condições experimentais e ainda não alimentadas, o que pode ter afetado a qualidade do extrato. No entanto, a imagem da eletroforese de proteínas realizada no extrato pelo fabricante, mostrou que o extrato continha inúmeras bandas de proteínas e, dentre elas, bandas com pesos moleculares condizentes com alérgenos de pulgas já descritos na literatura (Fig. 1)

A técnica inadequada seria outra possível explicação para os resultados negativos encontrados no grupo dos cães com DAPP. Variações não intencionais podem ocorrer quando o teste de proficiência não é feito rotineiramente no executor do *prick test*, podendo levar às alterações nos resultados (Fatteh et al. 2014). No entanto, o executor da técnica passou previamente por um teste de proficiência. Em Medicina, para que um operador passe no teste de proficiência é necessário que o coeficiente de variação fique abaixo de 20% (Oppenheimer & Harold 2005). Outro ponto importante em relação à confiabilidade da técnica foi a utilização de testes em duplicata, onde em todos os casos, extrato de pulgas e soluções controles, as duplicatas concordaram. Além disso, a literatura carece de informações sobre a padronização da técnica de extração das proteínas alergênicas das pulgas, tornando uma possibilidade o extrato ser de baixa qualidade e conseqüentemente afetando sensibilidade do teste. Porém, a eletroforese mostra que as proteínas alergênicas estavam presentes. O armazenamento é outro fator importante, Cox et.

al. (2011) cita que os extratos devem ser armazenados a 4°C ou de acordo com o fabricante, que nesse caso recomenda entre 2 e 8 °C. Os extratos foram mantidos em geladeira dotada de uma rede elétrica com gerador, logo permaneceram na temperatura indicada pelo fabricante.

Os pacientes selecionados para este estudo foram incluídos baseados somente no histórico devido ao fato de que os animais do LQEPV são infestados constantemente com pulgas e outros ectoparasitas para a realização de diferentes experimentos e as reações decorrentes desses processos são rigorosamente registradas nas fichas clínicas dos animais, assim como a resposta aos tratamentos implementados. Levando em conta que os dados históricos, clínicos e a avaliação da resposta ao tratamento são a base do diagnóstico, não foram feitos outros testes de diagnóstico para DAPP para a inclusão dos pacientes. A falta de confirmação do diagnóstico com um TID ou com ensaios de anticorpos IgE específicos, além de da falta de exclusão de pacientes com suspeita de outras doenças alérgicas limita os resultados deste estudo. É necessário realizar estudos futuros com critérios de inclusão mais estritos, avaliando a concordância entre os ensaios de anticorpos IgE específicos e os resultados dos PT.

## CONCLUSÃO

Os resultados encontrados indicam que o *prick test* utilizado nesse estudo não foi capaz de auxiliar no diagnóstico da DAPP. Sendo assim, mais estudos com pacientes atendidos na rotina clínica e com outros extratos são necessários para que se possa avaliar melhor a acurácia da técnica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernstein, L., Li, J. T., Bernstein, D. I., Hamilton, R., Spector, S. L., Tan, R., Sicherer, S., Golden, D. B. K., Khan, D. A., Nicklas, R. A., Portnoy, J. M., Blessing-Moore, J., Cox, L., Lang, D. M., Oppenheimer, J., Randolph, C. C., Schuller, D. E., Tilles, S. A., Wallace, D. V., Weber, R. 2008. Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter. *Am. Coll. Allergy, Asthma Immunol.* 100(3): 1–148.
- Bruet, V., Bourdeau, P. J., Roussel, A., Imparato, L., & Desfontis, J. C. 2012. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet. Dermatol.*, 23(6): 1–8. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01092.x>>

- Carmona-Gil, A. M., Sánchez, J., & Maldonado-Estrada, J. 2019. Evaluation of Skin Prick-Test Reactions for Allergic Sensitization in Dogs With Clinical Symptoms Compatible With Atopic Dermatitis. A Pilot Study. *Front. Vet. Sci.*, 6(December): 1–8. <<https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00448>>
- Carnett, M. J. H., & Plant, J. 2018. Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Vet. Dermatol.* 29(2): 117-147. <<https://doi.org/10.1111/vde.12514>>
- Cox, L., Esch, R. E., Corbett, M., Hankin, C., Nelson, M., & Plunkett, G. 2011. Allergen immunotherapy practice in the United States: guidelines, measures, and outcomes. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* 107(4): 289–299. <<https://doi.org/10.1016/j.anai.2011.06.018>>
- Crosaz, O., Chapelle, E., Cochet-Faivre, N., Ka, D., Hubinois, C., & Guillot, J. 2016. Open field study on the efficacy of oral fluralaner for long-term control of flea allergy dermatitis in client-owned dogs in Ile-de-France region. *Parasites and Vectors.* 9(1): 1–5. <<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1463-z>>
- DuoBrasil. 2017. *Duotip-Test® II, puntor unitário para realização de teste cutâneo alérgico (Prick Test)*. <http://duotestbrasil.com.br/produtos-medicos/duotip-test-ii/>
- Fatfeh, S., Rekkerth, D. J., & Hadley, J. A. 2014. Skin prick/puncture testing in North America: A call for standards and consistency. *Allergy, Asthma Clin. Immunol.* 10(1): 1–9. <<https://doi.org/10.1186/1710-1492-10-44>>
- Frati, F., Incorvaia, C., Cavaliere, C., Cara, G. Di, Marcucci, F., Esposito, S., & Masieri, S. 2018. The skin prick test. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 32(Suppl 1): 19–24.
- Graham, L. F., Torres, S. M. F., Jessen, C. R., Horne, K. L., & Hendrix, P. K. 2003. Effects of propofol-induced sedation on intradermal test reactions in dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 14(3): 167–176. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3164.2003.00337.x>>
- Halliwell, R. E., & Longino, S. J. 1985. IgE and IgG antibodies to flea antigen in differing dog populations. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 8(3): 215–223. <[https://doi.org/10.1016/0165-2427\(85\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0165-2427(85)90082-0)>



- Laffort-Dassot, C. 2009. Flea allergy in dogs: clinical signs and diagnosis. *Eur. J. Companion Anim. Pract.* 19(3): 242–248. <[http://www.fecava.org/files/EJCAP\\_19-3\\_p242\\_248\\_Laffort.pdf](http://www.fecava.org/files/EJCAP_19-3_p242_248_Laffort.pdf)>
- Laffort-Dassot, C., Carlotti, D.-N., Pin, D., & Jasmin, P. 2004. Diagnosis of flea allergy dermatitis: comparison of intradermal testing with flea allergens and a FceRI alpha-based IgE assay in response to flea control. *Vet. Dermatol.* 15(5): 321–330. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2004.00394.x>>
- Lam, A., & Yu, A. 2009. Overview of flea allergy dermatitis. *Compend. Contin. Educ. Vet.* 31(5): 220–225. <[https://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/28/253f70ad5511e087120050568d3693/file/PV0509\\_WEB\\_Yu\\_Dermatitis.pdf](https://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/28/253f70ad5511e087120050568d3693/file/PV0509_WEB_Yu_Dermatitis.pdf)>
- Masse, M. S., Granger Vallée, A., Chiriack, A., Dhivert-Donnadieu, H., Bousquet-Rouanet, L., Bousquet, P. J., & Demoly, P. 2011. Comparison of five techniques of skin prick tests used routinely in Europe. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 66(11): 1415–1419. <<https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02679.x>>
- McKeon, S. E., & Opdebeeck, J. P. 1994. IgG and IgE antibodies against antigens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*, in sera of allergic and non-allergic dogs. *Int. J. Parasitol.* 24(2): 259–263. <[https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90035-3](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90035-3)>
- Miller, W., Griffin, C., & Campbell, K. 2013. Hypersensitivity Disorders. In ELSEVIER (Ed.), *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology* (7th ed., pp. 376–377).
- Nelson, H. S., Rosloniec, D. M., McCall, L. I., & Iklé, D. 1993. Comparative performance of five commercial prick skin test devices. *J. Allergy Clin. Immunol.* 92(5): 750–756. <[https://doi.org/10.1016/0091-6749\(93\)90019-C](https://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90019-C)>
- Oppenheimer, John, and Harold S. Nelson. "Skin testing." *Annals of allergy, asthma & immunology* 96. no. 2 (2006): S6-S12.

Slater, J. E., & Esch, R. E. 2014. Preparation and Standardization of Allergen Extracts. In F. Adkinson, B. S. Bochner, W. Burks, W. W. Busse, S. T. Holgate, R. F. Lemanske, & R. E. O’Hehir (Eds.), *Middleton’s Allergy principles & practice* (8th ed., p. 473). ELSEVIER.

Stryk, S. V, & Slavin, R. G. 1997. Evaluation of Duotip test. *J. Allergy Clin. Immunol.* 149–150.

Werther, R. L., Choo, S., Lee, K. J., Poole, D., Allen, K. J., & Tang, M. L. K. 2012. Variability in skin prick test results performed by multiple operators depends on the device used. *World Allergy Organ. J.* 5(12): 200–204.  
<<https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e31827e6513>>

## SDS PAGE - Gel 14%

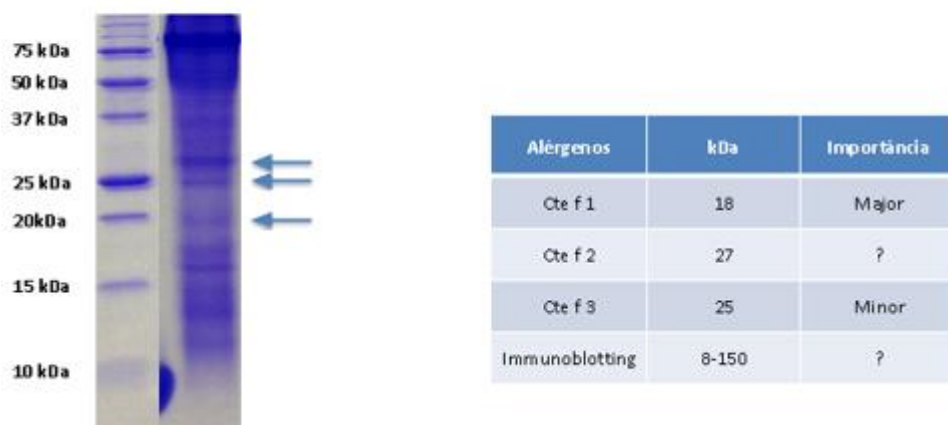


Figura 1: Análise do extrato do corpo total de *Ctenocephalides felis* em relação ao perfil proteico (SDS-PAGE) mediante eletroforese.

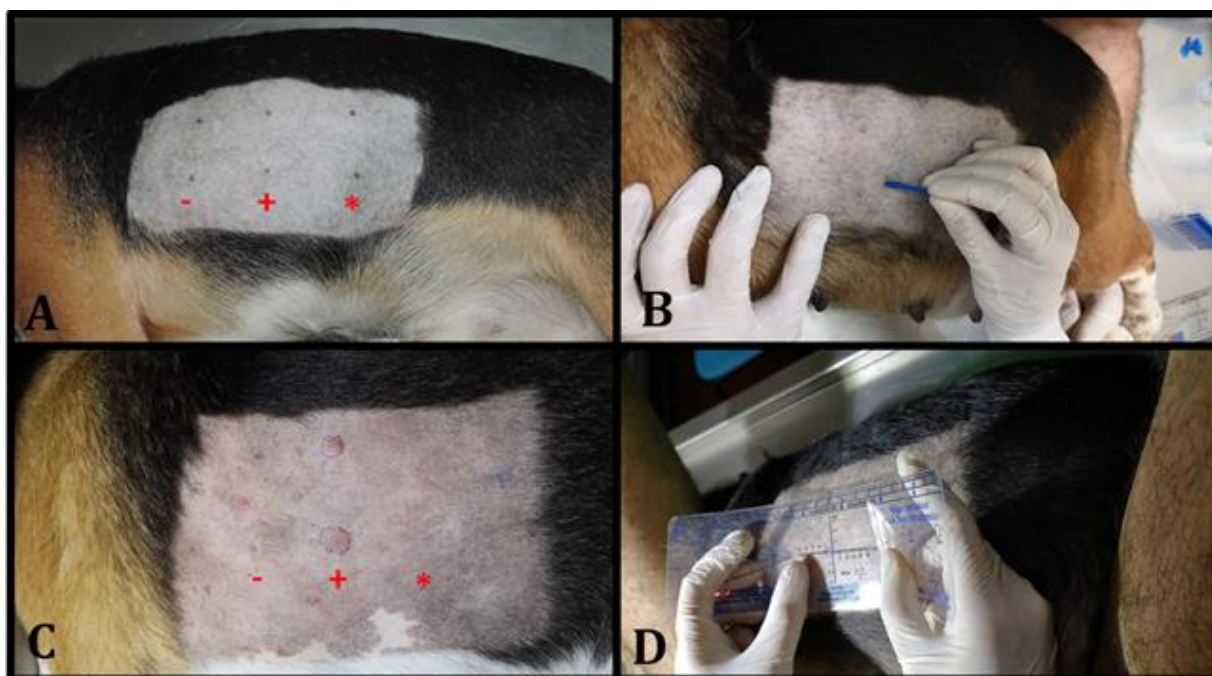


Figura 2: Fotografia demonstrando a realização do teste percutâneo. A: marcações dos pontos de aplicação. B: inoculação das soluções com um puntor Duotip-Test II®. C: reações 15 minutos após da inoculação, pápulas delimitadas com caneta dermatográfica. D: medição do diâmetro das pápulas com uma régua dermatológica. Controle negativo (-), Controle positivo (+), teste (\*).

Tabela 1- Diâmetro ortogonal médio das pápulas do controle negativo, controle positivo e do extrato de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* preparado a partir do corpo total em animais portadores de dermatite alérgica à picada de pulga submetidos ao *prick test*.

<i>Animal</i>	<b>Controle negativo (mm)</b>	<b>Controle Positivo (mm)</b>	<b>Extrato de Pulga (mm)</b>
<i>1</i>	0,5	6	2
<i>2</i>	0	5	0
<i>3</i>	0,75	6,25	1,75
<i>4</i>	0	5,5	2,5
<i>5</i>	0	7,75	1,25
<i>6</i>	0	4,75	0
<i>7</i>	0	8	2,5
<i>8</i>	0	5,75	1
<i>9</i>	0	4	1,5
<i>10</i>	0	6,25	1
<i>11</i>	2,25	7,5	1,5
<i>12</i>	0,5	6,25	0,5

Tabela 2- Diâmetro ortogonal médio das pápulas do controle negativo, controle positivo e do extrato de pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* preparado a partir do corpo total em animais não portadores de dermatite alérgica à picada de pulga submetidos ao *prick test*.

<i>Animal</i>	<b>Controle negativo (mm)</b>	<b>Controle Positivo (mm)</b>	<b>Extrato de Pulga (mm)</b>
<i>1</i>	0	6	0
<i>2</i>	0	5	0
<i>3</i>	1,75	6,75	3
<i>4</i>	0	6,5	0
<i>5</i>	0	7,75	0
<i>6</i>	0	6,5	2,25
<i>7</i>	0	6	0
<i>8</i>	0	6	1,25
<i>9</i>	1,25	8,25	3,5
<i>10</i>	0	4,5	1,25
<i>11</i>	0,5	6	0,5
<i>12</i>	2	7,75	2

## ANEXO B



**UFRRJ**  
Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**  
Instituto de Veterinária



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Acurácia do Teste Intradérmico e Skin Prick Test para Diagnóstico de Dermatite Alérgica à Picada de Pulgas", protocolada sob o CEUA nº 9733250419 (10.001342), sob a responsabilidade de **Júlio Israel Fernandes** e equipe; **Lais de Jesus Moraes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 05/08/2019.

We certify that the proposal "Accuracy of Intradermal Test and Skin Prick Test for Flea Allergy Dermatitis Diagnosis", utilizing 60 Dogs (males and females), protocol number CEUA 9733250419 (10.001342), under the responsibility of **Júlio Israel Fernandes** and team; **Lais de Jesus Moraes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 08/05/2019.

Finalidade da Proposta: *Pesquisa (Acadêmica)*

Vigência da Proposta: de 08/2019 a 02/2021

Área: *Medicina E Cirurgia Veterinária*

Origem:	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ			
Espécie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	idade: 1 a 15 anos N: 20
Linhagem:	beagles			Peso: 1 a 30 kg
Origem:	Hospital Veterinário da UFRRJ			
Espécie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	idade: 1 a 15 anos N: 40
Linhagem:	aleatórias			Peso: 1 a 50 kg

Local do experimento: A avaliação dos extratos será feita em animais oriundos da rotina do setor de dermatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e do LQEPV.

Seropédica, 23 de novembro de 2020

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias

Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro