

PESQUISA

Acesso Aberto

Estudo de campo aberto sobre a eficácia do fluralaner oral para o controle por longo prazo da dermatite alérgica a picada de pulgas em cães pertencentes a clientes na região de Ile-de-France.



Odile Crosaz¹, Elodie Chapelle¹, Noelle Cochet-Faivre¹, Diane Ka¹, Céline Hubinois² e Jacques Guillot^{1*}

Resumo

Retrospecto: Fluralaner é a primeira isoxazolina administrada oralmente a fornecer 12 semanas de atividade contra pulgas e carrapatos após uma única administração. Como resultado de sua potente atividade anti-pulgas, o fluralaner oral pode ser proposto como componente de uma estratégia para o controle da dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP) em cães. O estudo de campo aberto relatado aqui avaliou a eficácia do fluralaner para o controle por longo prazo (até 6 meses) da DAPP em cães afetados pertencentes a clientes, mantidos sob condições domiciliares comuns na região de Ile-de-France.

Métodos: Este foi um estudo aberto do pré-tratamento versus pós-tratamento. Cães pertencentes a clientes, com sinais clínicos de DAPP, foram recrutados e tratados com fluralaner oral (Bravecto®) na dose de 25-56 mg/kg de peso corporal nos dias 0 e 84. A condição dos cães era avaliada em cada visita (nos dias 0, 28, 84 e 168) usando os seguintes três parâmetros:

(i) extensão das lesões cutâneas baseada no sistema de pontuação para DAPP canina; (ii) severidade do prurido baseada na escala analógica visual do prurido; (iii) presença ou ausência de pulgas ou fezes de pulgas.

Resultados: Dos 26 cães incluídos inicialmente, 23 foram apresentados no dia 28, 20 no dia 84 e 16 para a avaliação final no dia 168. Dezoito dos 20 cães (90 %) apresentados no dia 84 e 15 dos 16 cães (94%) apresentados no dia 168 mostraram resolução clínica completa. Os escores clínicos da DAPP após o tratamento nos dias 28, 84 e 168 foram significativamente diferentes daqueles de antes do tratamento com uma redução de 89,8%, 98,8% e 99,8%, respectivamente. Os valores do índice do prurido após o tratamento nos dias 28, 84 e 168 foram significativamente diferentes daqueles de antes do tratamento com uma redução de 45,2%, 71,2% e 80,8%, respectivamente.

Conclusões: O presente estudo confirmou que o tratamento com fluralaner oral deve ser considerado eficaz para o controle por longo prazo dos sinais clínicos em cães afetados pela DAPP.

Unitermos: Fluralaner, Pulga, *Ctenocephalides felis*, Dermatite alérgica a picada de pulgas, Controle por longo prazo.

Retrospecto

Ctenocephalides felis é a principal espécie de pulga que infesta tanto cães como gatos. Ela também representa o ectoparasita mais importante para cães em muitas partes do mundo. Sem tratamento, a infestação persistente de pulgas pode induzir prurido intenso e trauma auto-inflicido. Com a exposição repetida, os cães podem desenvolver hipersensibilidade aos componentes da saliva da pulga, uma “condição” que leva à dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP) [1, 2]. Os cães predispostos à DAPP e que vivem em uma área endêmica, normalmente desenvolverão sinais clínicos aproximadamente aos 5 anos de idade. No entanto, os sinais clínicos podem aparecer em qualquer idade, particularmente se os animais mudarem de uma área de

baixa exposição ao risco para uma área onde as pulgas são endêmicas. Tendo ocorrido a sensibilização, basta um pequeno número de picadas de pulga para iniciar a reincidência clínica [3].

Nos cães, a apresentação clínica típica da DAPP é uma dermatite papular pruriginosa que fica concentrada nas ancas, tórax dorsal, flancos, rabo e área perineal. O prurido fica geralmente focalizado nas áreas caudais e no rabo, embora alguns cães expressem prurido generalizado. Os sinais clínicos podem incluir alopecia, crostas, hiperpigmentação, liquenificação e lesões de dermatite piotraumática. Infecções de pele secundárias frequentemente complicam o quadro clínico dos cães, que podem desenvolver foliculite bacteriana e/ou dermatite por *Malassezia* [1-3].

* Correspondência: jacques.guillot@vet-alfort.fr

¹ Department of Parasitology, Mycology and Dermatology, CHUVA, École nationale vétérinaire d'Alfort, UPE, Maisons-Alfort 94704, France
A lista completa de informações sobre os autores está disponível no final do artigo.



As isoxazolininas são uma nova classe de medicamentos antiparasitários que inibem os canais de cloreto ligados ao ácido gama-aminobutírico (GABA) e a glutamato com seletividade significativa para os receptores neuronais dos insetos comparados com os receptores dos mamíferos. Isto resulta em um excesso de estimulação neuronal e morte dos artrópodes. Até agora, esta nova classe inclui três moléculas: afoxolaner, fluralaner, sarolaner, que são todas formuladas para prescrição por veterinários na forma de comprimidos mastigáveis palatáveis para cães. O fluralaner é o primeiro princípio ativo administrado oralmente (Bravecto®, MSD Animal Health, Madison NJ) a fornecer 12 semanas de atividade inseticida contra pulgas e até 12 semanas de atividade acaricida contra importantes gêneros de carrapatos após uma única administração. Após a administração oral a cães, o fluralaner é rapidamente absorvido e fornece 100% de eficácia contra pulgas e carrapatos em 12 h. Os níveis sanguíneos são então mantidos e fornecem um alto nível de atividade exterminadora de pulgas e carrapatos por até 12 semanas [4, 5]. O fluralaner oral mostrou eficácia como componente de uma estratégia para o controle da DAPP [6-8]. Uma coleira de matriz de polímeros contendo uma combinação de imidacloprida a 10% e flumetrina a 4,5% foi licenciada para uso em cães e gatos e essa coleira confere uma proteção por longo prazo (8 meses) contra pulgas (e carrapatos).

O estudo de campo aberto relatado aqui avaliou a eficácia do fluralaner para o controle por longo prazo (até 6 meses) da DAPP em cães afetados pertencentes a clientes, mantidos sob condições domiciliares comuns na região de Ile-de-France.

Métodos

Este foi um estudo clínico de campo aberto do pré-tratamento versus pós-tratamento. O estudo foi conduzido no Hospital para Animais de Pequeno Porte da Faculdade de Veterinária Alfort (CHUVA, França) de junho de 2014 a julho de 2015. Os casos foram recrutados da população de pacientes caninos apresentada para exame na unidade de dermatologia do hospital.

Cães pertencentes a clientes, diagnosticados com DAPP, foram incluídos no estudo com o consentimento esclarecido por escrito de seus donos. Todos os cães vieram da região de Ile-de-France e cada um deles foi incluído independentemente. Durante o estudo, os cães foram mantidos em casa por seus donos e alimentados e exercitados de acordo com sua rotina usual.

Os cães foram diagnosticados com DAPP com base nos sinais clínicos compatíveis com as descrições publicadas [9, 10] e exibiam tanto prurido como lesões típicas da DAPP. As lesões compatíveis com DAPP incluíam: eritema, pápulas, alopecia, crostas, liquenificação e hiperpigmentação em áreas específicas (dorsolombar, anogenital, rabo), e/ou dermatite piotraumática.

Os cães eram excluídos do estudo se: (i) tivessem sido tratados com um tratamento antiparasitário externo nos 30 dias anteriores à apresentação; (ii) fossem suspeitos de terem sarna sarcóptica ou mostrassem reflexo otopodal positivo; (iii) fossem suspeitos de terem

dermatite atópica canina (DAC). O diagnóstico de DAC era baseado nos seguintes critérios clínicos [9]: lesões faciais, otite, pododermatite ou dermatite carpal ou tarsal. A ausência de pulgas ou fezes de pulga não estava incluída nos critérios de exclusão. Os cães não eram incluídos se não fosse possível tratar todos os animais do domicílio contra pulgas.

Durante a primeira visita (dia 0), a história clínica era coletada para cada cão e um exame clínico padrão realizado. O dono era solicitado a apresentar cada cão incluído para a avaliação clínica nos dias 0, 28 (D0 + 1 mês), 84 (D0 + 3 meses) e 168 (D0 + 6 meses). A condição dos cães era avaliada em cada visita usando os seguintes três parâmetros:

1. As lesões cutâneas eram medidas por um dermatologista veterinário usando o sistema de pontuação para DAPP canina (SSCFAD, baseada em Laffort-Dassot e outros [9]). Esse sistema de pontuação é baseado na avaliação de 6 lesões primárias e secundárias (eritema, pápulas, escoriações, alopecia, dermatite cerato-seborreica e liquenificação) em cada uma de 6 áreas do corpo (área dorsolombar, área lateral, patas traseiras, área anogenital, área ventral frontal e área ventral traseira). Cada lesão é pontuada de 0 (nenhum sinal clínico) a 10 (sinais severos). A pontuação mínima possível é 0 e a máxima possível (indicando as lesões mais severas) é 360.
2. A intensidade do prurido era avaliada pelo dono do cão usando uma escala analógica visual do prurido (PVAS) validada [11] usando uma pontuação de 0 a 10.
3. Presença ou ausência de pulgas ou fezes de pulgas. As pulgas eram contadas se fossem observadas.

Cada cão foi tratado com um comprimido de Bravecto® administrado de acordo com a dose recomendada no Resumo de Características do Produto com base no peso do cão no dia 0 e novamente no dia 84 (D0 + 3 meses). Os cães incluídos não receberam nenhum tratamento concomitante com quaisquer outros medicamentos para controle de pulgas ou qualquer medicamento com atividade antipruriginosa ou anti-inflamatória durante os 6 meses do estudo. Tratamentos com antissépticos ou antibióticos foram permitidos somente durante o primeiro mês do estudo. Os animais coabitantes residentes nos domicílios do estudo também receberam tratamento antiparasitário com indoxacarbe spot-on (Activyl®) para gatos (mensalmente), ou fluralaner oral (Bravecto®) para cães (a cada 12 semanas). Os donos eram solicitados a relatar quaisquer problemas de saúde ou eventos adversos observados após o tratamento. Um spray/pulverização antiparasitária podia ser usada para a casa, a critério do veterinário.

A redução na SSCFAD era calculada em cada momento usando a média aritmética da SSCFAD na seguinte fórmula:

Redução na SSCFAD (%)

$$= 100 \times (\text{média dia 0} - \text{t médio}) / \text{média dia 0}.$$

A redução na PVAS era calculada em cada momento usando a média aritmética da escala do prurido de acordo com a seguinte fórmula:

Redução na PVAS (%)

$$= 100 \times (\text{média dia 0} - \text{t médio}) / \text{média dia 0}.$$

Os valores da SSCFAD e da PVAS foram analisados por um modelo linear misto incluindo o dia como efeito fixo. A correção de Kenward-Rogers foi usada para determinar os graus de liberdade do denominador [12]. As médias dos mínimos quadrados foram usadas para comparações entre os tratamentos.

A hipótese nula era que não havia nenhuma diferença significativa no parâmetro dos testes entre o pré-tratamento e o pós-tratamento. Testes bicaudais foram usados para a comparação. A significância estatística era declarada quando $P \leq 0,05$. O software primário usado foi o SAS versão 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

Resultados

Vinte e seis cães pertencentes a clientes, com suspeita de DAPP, foram incluídos no estudo. Eles eram mestiços ou de raça pura, tinham entre 1 a 14 anos de idade e pesavam entre 4,5 e 40 kg. Havia 11 fêmeas e 15 machos. Quatro raças foram mais frequentemente representadas: Maltês (4), Jack Russell Terrier (4), Labrador Retriever (3) e Shih Tzu (3). Catorze cães viviam em uma casa com acesso a jardim, enquanto que 12 viviam exclusivamente em um apartamento. Catorze dos cães incluídos eram o único animal da residência, enquanto que 12 viviam com pelo menos um outro animal de estimação (Arquivo adicional 1).

Cinco dos 26 cães incluídos receberam tratamento antisséptico tópico durante o primeiro mês e nove receberam antibióticos (às vezes combinados com tratamentos antissépticos tópicos). Uma formulação em spray (contendo permetrina e (S)-metopreno) (Tiquanis[®]) foi usada para o controle dos estágios ambientais das pulgas em cinco casos. Dos 26 cães incluídos no dia 0, 23 foram apresentados no dia 28, 20 no dia 84 e 16 para a avaliação clínica final no dia 168.

O exame clínico na primeira visita verificou que os cães exibiam lesões principalmente em duas áreas do corpo: a área dorsolombar e a área anogenital. Dezoito dos 20 cães (90 %) apresentados no dia 84 e 15 dos 16 cães (94 %) apresentados no dia 168 mostraram resolução clínica completa. Uma melhora significativa nos sinais clínicos foi observada em todos os cães ao longo do período do estudo (Tabela 1 e Fig. 1). Os escores clínicos da DAPP após o tratamento nos dias 28, 84 e 168 foram significativamente diferentes daqueles de antes do tratamento no dia 0 (valores de $P < 0,0001$ para todos os 3 dias após o tratamento), com uma redução de 89,8 %, 98,8 % e 99,8 %, respectivamente. Os escores clínicos da DAPP nos dias 28, 84 e 168 após o tratamento não foram significativamente diferentes ($P = 0,3651$ para a diferença entre o dia 28 e o dia 84; $P = 0,3511$ para a diferença entre o dia 28 e o dia 168; $P = 0,9363$ para a diferença entre o dia 84 e o dia 168) uns dos outros.

A avaliação do prurido pelo dono diminuiu significativamente ao longo do mesmo período (Tabela 1). As escalas analógicas visuais do prurido nos dias 28, 84 e 168 após o tratamento foram significativamente diferentes daquelas de antes do tratamento (valores de $P < 0,0001$ para todos os 3 dias após o tratamento)

(Arquivo adicional 2), com uma redução de 45,2 %, 71,2 % e 80,8 %, respectivamente. Os valores da PVAS nos dias 84 e 168 após o tratamento foram significativamente diferentes daqueles do dia 28 após o tratamento ($P = 0,0031$ para a diferença entre o dia 28 e o dia 84; $P = 0,0002$ para a diferença entre o dia 28 e o dia 168), mas não foram significativamente diferentes entre si ($P = 0,2963$). A redução da SSCFAD e a redução da pontuação do prurido não foram afetadas pelo fato de o cão ter acesso a um jardim ou viver com outro animal de estimação no domicílio (dados não mostrados).

A média das contagens de pulgas foi 1,38 no Dia 0; esta diminuiu para 0,00 Dia 28, e continuou em 0,00 nos dias 84 e 168.

Um spray antiparasitário foi usado na residência (no dia 0) de apenas cinco dos casos (17 %). Devido a esse pequeno número, não foi possível mostrar qualquer diferença na resposta ao comparar as residências pulverizadas e aquelas que não foram pulverizadas.

Nenhum evento clínico adverso foi observado em qualquer cão após qualquer uma das duas administrações de fluralaner oral nos dias 0 e 84.

Discussão

Este é o primeiro relatório a mostrar o manejo bem-sucedido por longo prazo da DAPP, pois os cães incluídos foram solicitados a retornar para exames de acompanhamento em uma visita final 168 dias (6 meses) após o primeiro tratamento. Este relatório foi um estudo aberto porque tanto os investigadores como os donos sabiam qual tratamento estava sendo administrado aos cães. Não foi incluído um grupo controle não tratado por motivos éticos.

Tabela 1. Escores clínicos avaliados por um dermatologista veterinário e severidade do prurido avaliada pelos donos em cães afetados por DAPP após o tratamento com fluralaner oral.

Parâmetro	D0	D28	D84	D168
Número de cães	26	23	20	16
Valores médios da pontuação da SSCFAD	54	5,5	0,6	0,1
Valores médios da escala do prurido	7,3	4	2,1	1,4
Valor de P comparado com o D0		< 0,0001	<0,0001	<0,0001

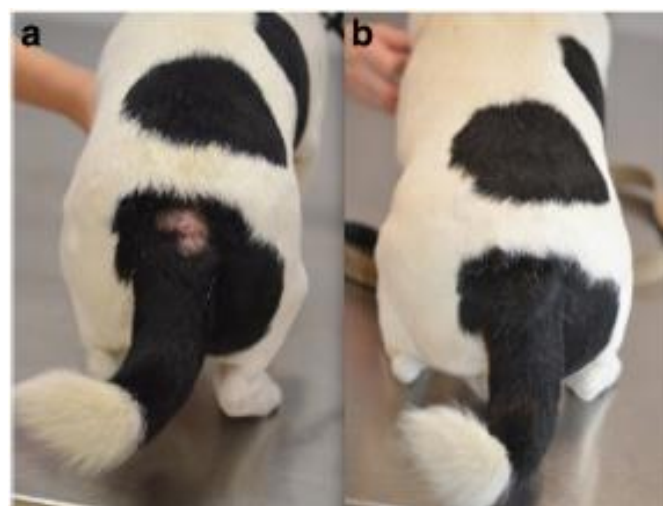


Fig. 1. Um Jack Russell Terrier de 6 anos de idade apresentando lesão dorsolombar no dia 0 (a) e o mesmo cão no dia 84 (b) mostrando resolução completa da lesão.

Até agora, existem poucos estudos clínicos de campo publicados relacionados a estratégias de tratamento para controlar a DAPP em cães [7, 8, 13]. Rohdich e outros [7] conduziram um estudo randomizado, multicêntrico na Europa para comparar a eficácia do controle de pulgas e carrapatos em cães durante um período de 12 semanas com uma dose oral única de fluralaner ou três tratamentos sequenciais tópicos com fipronil. Dos cães que exibiam DAPP clínica no início do estudo, 85,7% (30 de 35) do grupo tratado com fluralaner e 55,6% (10 de 18) do grupo tratado com fipronil foram avaliados em cada momento como não mostrando nenhum sinal clínico de DAPP até a conclusão do estudo. Fisara e outros [13] avaliaram a resposta clínica ao tratamento com indoxacarbe tópico a cada 4 semanas por 12 semanas em 25 cães pertencentes a clientes, com DAPP, na Austrália [12]. Dos 24 cães que completaram o estudo, 21 (87,5 %) mostraram resolução completa dos sinais clínicos na visita final. Fisara e outros [8] conduziram um estudo aberto para avaliar a resposta clínica em 20 cães afetados por DAPP na Austrália ao longo de um período de 12 semanas após um único tratamento oral com fluralaner [8].

Todos os sinais clínicos de DAPP nos cães incluídos neste estudo tinham desaparecido na avaliação final. Nos dois últimos estudos, a avaliação dos cães com DAPP foi baseada no índice de extensão e severidade da dermatite atópica canina versão 3 (CADESI-03) [8, 13]. A escala CADESI-03 é validada para pontuar as lesões cutâneas da doença atópica canina e é recomendada para uso nos estudos clínicos de cães atópicos, mas não para a DAPP. No presente estudo, foi usado um sistema de pontuação específico (SSCFAD) para avaliar a progressão dos sinais clínicos no decorrer do estudo. No entanto, esse sistema de pontuação, baseado em Laffort-Dassot e outros [9], não foi testado quanto à validade, confiabilidade (isto é, confiabilidade entre e intra-observadores e consistência interna e responsividade (isto é, sensibilidade à alteração). No presente estudo, 18 dos 20 cães (90 %) apresentados no dia 84 e 15 dos 16 cães (94 %) apresentados no dia 168 mostraram resolução clínica completa.

A avaliação da severidade do prurido nos cães é crítica e difícil. Vários métodos foram descritos, mas somente um foi validado: a Escala Analógica Visual do Prurido (PVAS) [11]. Essa escala foi usada em dois dos três estudos anteriores sobre a DAPP em cães [8, 13]. No presente estudo, a PVAS foi confirmada como sendo um método fácil e repetível para os donos.

A DAPP foi diagnosticada e afetava os cães com base nas lesões de pele compatíveis observadas em locais típicos do corpo, e por exclusão de outras doenças de pele pruriginosas primárias. Não foi feito o teste cutâneo com alérgenos de pulgas nos cães do estudo. Alguns autores [8, 10, 13] usaram injeção intradérmica de antígenos de pulga ou sorologia como critérios diagnósticos para a DAPP. No entanto, a reatividade imediata positiva para antígeno de pulga intradérmico pode ser observada em cães normais, e Kunkle e outros [14] relataram que 24% dos cães podem exibir reação falso-positiva a injeções de extrato de pulga. Laffort e

outros [9] demonstraram que o teste cutâneo com saliva de pulga pura forneceu a melhor correlação entre a abordagem clínica ao diagnóstico da DAPP e os testes intradérmicos, com uma sensibilidade de 93%, uma especificidade de 90%, e uma exatidão geral de 91% [9]. Vários inseticidas diferentes (e combinações) são sabidamente eficazes contra pulgas e podem ser usados para controlar os sinais clínicos da DAPP. Para fornecer o melhor controle possível da alergia a pulga, o medicamento antiparasitário deve combinar duas características principais: (i) uma rápida atividade adulticida; e (ii) uma longa duração da ação com eficácia persistente. O fluralaner satisfaz a ambos os critérios e é atualmente a única isoxazolina a fornecer eficácia inseticida contra pulgas >95% por 12 semanas [4, 5]. No presente estudo, não houve aumento na média dos escores da SSCFAD ou da PVAS no D84 ou D168, sugerindo que um controle das pulgas por longo prazo um modo eficaz de manejar os sinais clínicos da DAPP em cães.

Conclusões

Dois tratamentos com fluralaner oral efetivamente controlaram os sinais clínicos da DAPP em cães e reduziram a severidade do prurido, conforme avaliação do dono do cão durante um período de 6 meses. O fluralaner administrado oralmente é eficaz para o controle por longo prazo da DAPP.

Arquivos adicionais

Arquivo adicional 1: Descrição detalhada dos sinais de 26 cães afetados por DAPP incluídos inicialmente no estudo. (DOCX 29 kb).

Arquivo adicional 2: Dados adicionais sobre as análises estatísticas. (DOCX 131 kb).

Conflito de interesses

O estudo foi financiado pela MSD Animal Health. Os autores declaram que não têm interesses conflitantes.

Contribuições dos autores

JG, OC e CH conceberam o estudo. OC e EC conduziram a pesquisa e prepararam a minuta do manuscrito. JG, DK, NCF e CH revisaram o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Fangshi Sun pelas análises estatísticas e a Rob Armstrong e pela assistência com o manuscrito.

Detalhes dos autores

Department of Parasitology, Mycology and Dermatology, CHUVA, École nationale vétérinaire d'Alfort, UPE, Maisons-Alfort 94704, France. ²MSD Animal Health, Beaucauzé, France.

Recebido em: 18 de dezembro de 2015, Aceito em: 17 de março de 2016

Publicado online em: 23 de março de 2016

Referências

1. Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Canine fleabite hypersensitivity. In: Miller WH, Griffin CE, Campbell KL, editors. Muller & Kirk's small animal dermatology. 7th ed. St Louis:

- Elsevier; 2013. p. 405-10.
2. Griffin CE. Chapter 45: Flea allergy dermatitis. In: Birchard SJ, Sherding RG, editors. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. 3rd ed. St Louis: Saunders Elsevier; 2006. p. 474-80.
 3. Carlotti DN, Jacobs DE. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Vet Dermatol*. 2000;11:83-98.
 4. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC. The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors*. 2014;7:84. doi:[10.1186/1756-3305-7-84](https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-84).
 5. Taenzler J, Wengenmayer C, Williams H, Fourie J, Zschiesche E, Roepke RK, et al. Onset of activity of fluralaner (Bravecto™) against *Ctenocephalides felis* on dogs. *Parasit Vectors*. 2014;7:567. doi:[10.1186/s13071-014-0567-6](https://doi.org/10.1186/s13071-014-0567-6).
 6. Meadows C, Guerino F, Sun F. A randomized, blinded, controlled USA field study to assess the use of fluralaner tablets in controlling canine flea infestations. *Parasit Vectors*. 2014;16(7):375. doi:[10.1186/1756-3305-7-375](https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-375).
 7. Rohdich N, Roepke RKA, 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. *Parasit Vectors*. 2014;7:83. doi:[10.1186/1756-3305-7-83](https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-83).
 8. Fisara P, Shipstone M, von Berky A, von Berky J. A small-scale open-label study of the treatment of canine flea allergy dermatitis with fluralaner. *Vet Dermatol*. 2015;26:e98-e417. doi:[10.1111/vde.12249](https://doi.org/10.1111/vde.12249).
 9. Laffort-Dassot C, Carlotti DN, Pin D, Jasmin P. Diagnosis of flea allergy dermatitis: comparison of intradermal testing with flea allergens and a FceR1a- based IgE assay in response to flea control. *Vet Dermatol*. 2004;15:321-30.
 10. Bruet V, Bourdeau PJ, Roussel A, Imparato L, Desfontis JC. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol*. 2012;23:6. doi:[10.1111/j.1365-3164](https://doi.org/10.1111/j.1365-3164).
 11. Hill PB, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol*. 2007;18:301-8.
 12. Kenward MG, Roger JH. Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics*. 1997;53:983-97.
 13. Fisara P, Sargent RM, Shipstone M, von Berky A, von Berky J. 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. *Vet Dermatol*. 2014;25:e49-e195. doi:[10.1111/vde.12132](https://doi.org/10.1111/vde.12132).
 14. Kunkle GA, Jones L, Petty P. Immediate intradermal flea antigen reactivity in clinically normal adult dogs from south Florida, USA. *Vet Dermatol*. 2000;11:9-12.

Submeta seu próximo manuscrito à BioMed Central e ajudaremos em cada etapa:

- Aceitamos consultas pré-submissão
- Nossa ferramenta selecionadora ajuda-o a encontrar o periódico mais relevante
- Fornecemos suporte ao cliente 24 horas por dia
- Conveniente submissão online
- Revisão completa por pares
- Inclusão no PubMed e todos os principais serviços de indexação
- Máxima visibilidade para sua pesquisa

Submeta seu manuscrito em:
www.biomedcentral.com/submit

