

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PERFIL DE SENSIBILIZAÇÃO A ALÉRGENOS AMBIENTAIS, EM CÃES COM  
DERMATITE ATÓPICA, NA REGIÃO DE BOTUCATU -SP, UTILIZANDO O  
TESTE ALÉRGICO DE PUNTURA

VICTÓRIA GARDINAL MAZZIERO

BOTUCATU

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PERFIL DE SENSIBILIZAÇÃO A ALÉRGENOS AMBIENTAIS EM CÃES COM  
DERMATITE ATÓPICA, NA REGIÃO DE BOTUCATU – SP, UTILIZANDO O  
TESTE ALÉRGICO DE PUNTURA

VICTÓRIA GARDINAL MAZZIERO

Dissertação apresentada junto ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária para obtenção do  
título de Mestre.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Luiz Henrique  
de Araújo Machado

Coorientador: Prof. Dr. Marconi  
Rodrigues de Farias

BOTUCATU

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Mazziero, Victória Gardinal.

Perfil de sensibilização a alérgenos ambientais, em cães com dermatite atópica, na região de Botucatu-SP, utilizando o teste alérgico de puntura / Victória Gardinal Mazziero. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Luiz Henrique de Araújo Machado

Coorientador: Marconi Rodrigues de Farias

Capes: 50501062

1. Alergia. 2. Antígenos. 3. Análise de sensibilidade.
4. Hipersensibilidade. 5. Dermatologia veterinária.
6. Dermatite atópica.

Palavras-chave: Alergia; Antígeno; *Prick Test*; Puntura; Reação.

Nome da Autora: Victória Gardinal Mazziero

Título: PERFIL DE SENSIBILIZAÇÃO A ALÉRGENOS AMBIENTAIS EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA NA REGIÃO DE BOTUCATU – SP, UTILIZANDO O TESTE ALÉRGICO DE PUNTURA.

#### COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Luiz Henrique de Araújo Machado

Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

---

Profa. Dra. Maria Lucia Gomes Lourenço

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

---

Profa. Dra. Fabiana dos Santos Monti

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

PUC – Paraná – Curitiba

Data da Defesa: 29 de abril de 2024.

## SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	16
2.1 DISFUNÇÃO DE BARREIRA .....	16
2.2 DERMATITE ATÓPICA EXTRÍNSECA <i>VERSUS</i> INTRÍNSECA OU <i>SIMILI</i> ....	19
2.3 DERMATITE ATÓPICA STRITU SENSU <i>VERSUS</i> LATU SENSU .....	20
2.4 ALÉRGENOS AMBIENTAIS .....	24
2.4.1 Ácaros de poeira doméstica .....	24
2.4.2 Ácaros de armazenamento .....	25
2.4.3 Pólenes de gramíneas .....	26
2.5 DIAGNÓSTICO.....	26
2.5.1 Testes Alérgicos .....	28
2.5.1.1 Teste Alérgico Cutâneo de Puntura ( <i>Prick Test</i> ).....	30
2.5.1.1.1 Fundamentos Imunológicos .....	30
2.5.1.1.2 Fundamentos Técnicos.....	35
2.6 IMUNOTERAPIA.....	38
3 OBJETIVOS .....	40
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	41
4.1 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), FMVZ – UNESP BOTUCATU.....	41
4.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO.....	41
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	41
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	42
4.5 PRICK TEST UNITEST®PC.....	42
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	45
5 RESULTADOS .....	47
5.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO .....	47
5.2 PRICK TEST UNITEST®PC.....	50
5.2.1 Frequência de sensibilização a alérgenos ambientais .....	50
5.2.2 Co-sensibilização entre alérgenos ambientais.....	51
5.3 OCORRÊNCIA DE REAÇÕES ADVERSAS APÓS A EXPERIMENTAÇÃO ....	53
6 DISCUSSÃO .....	55

7 CONCLUSÕES.....61

**LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1 - Diagnósticos diferenciais para o prurido cutâneo em cães .....	27
QUADRO 2 - Critérios de <i>Favrot</i> aplicados em cães com suspeita de DAC .....	27
QUADRO 3 - Frequência de positividade aos critérios de Favrot dos cães participantes do estudo.....	48
QUADRO 4 - Principais manifestações clínicas apresentadas pelos participantes .....	49
QUADRO 5 - Coeficiente de significância (valor de p) e replicabilidade (boa ou fraca) entre as reações de alérgenos ambientais testados, após tratamento estatístico Kappa ..	53

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 - Frequência de raça dos cães participantes do estudo .....	47
TABELA 2 - Prevalência de cães com reações negativas e positivas em valores absolutos e em porcentagem a todos ou a pelo menos um: ácaros de poeira doméstica, ácaros de armazenamento e pólenes de gramíneas .....	50
TABELA 3 - Prevalência de reações negativas e positivas em valores absoluto e em porcentagem no <i>Prick Test UniTest®PC</i> .....	51
TABELA 4 - Frequência das associações de reações entre ácaros de poeira doméstica	51
TABELA 5 - Frequência das associações entre ácaros de armazenamento .....	52
TABELA 6 - Frequência das associações de reações entre pólenes de gramíneas .....	52

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Esquema das barreiras cutâneas de acordo com a estratificação da pele ...	17
FIGURA 2 - Disfunção imunológica e da barreira cutânea na DA .....	19
FIGURA 3 - A distribuição de lesões clínicas comuns na DAIs e Dass .....	21
FIGURA 4 - Hipótese de dupla exposição alérgica a alimentos em humanos atópicos .	22
FIGURA 5 - Um possível modelo da contribuição da disfunção da barreira cutânea para a marcha atópica.....	23
FIGURA 6 - A: reações papulares no teste de puntura (Prick Test) após 15 minutos da inoculação B: reações papulares no teste intradérmico (IDT) após 15 minutos da inoculação .....	29
FIGURA 7 – Fase de Sensibilização .....	32
FIGURA 8 – Fase Reativa .....	33
FIGURA 9 – Mancha inflamatória na DA (Dermatite Atópica) .....	35
FIGURA 10 - Puntores para Prick Test. A: Puntor de ponta múltipla UniTest®PC; B: Puntor Duotip-Test®II .....	36
FIGURA 11 - A SIT modifica as respostas celulares e humorais ao alérgeno ao criar uma resposta de tolerância.....	39
FIGURA 12 - Paciente com fenótipo crônico da DAC, se apresentando clinicamente com lignificação, hiperpigmentação e disqueratose em regiões A, B e C .....	42
FIGURA 13 - Puntores UniTest®PC (Lincoln Diagnostics, Decatur, EUA) posicionados na bandeja de alérgenos do mesmo fabricante.....	43
FIGURA 14 - Aplicação do extrato alergênico na pele de um cão com prurido crônico, utilizando puntores de plástico com ponta múltipla do tipo UniTest®PC em ângulo de 90° .....	44
FIGURA 15 - Mensuração da média ortogonal da reação papular pós puntura em dois cães com prurido crônico de origem alérgica .....	45
FIGURA 16 - Dermograma do prurido dos cães com DAC que participaram do estudo .....	49
FIGURA 17 - Dermografismo no local de puntura pelo Prick Test UniTest®PC .....	54

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- AMP** – peptídeo antimicrobiano
- As** – *Acarus siro*
- Bt** – *Blomia tropicalis*
- Cd** – *Cynodon dactylon*
- CEUA** – Comitê de Ética do Uso de Animais em Pesquisa
- DA** – Dermatite Atópica
- DAC** – Dermatite Atópica Canina
- Dass** – Dermatite Atópica *Stricto Sensu*
- Dals** – Dermatite Atópica *Latu Sensu*
- DC** – Células dendríticas
- Df** – *Dermatophagoides farinae*
- Dp** – *Dermatophagoides pteronyssinus*
- EC** – Estrato córneo
- EE** – Estrato espinhoso
- EG** – Estrato granuloso
- FcεRI** – Receptor de alta afinidade para anticorpos IgE
- HEP** - Histamine equivalent prick
- IDT** – Teste intradérmico
- IgE** – Imunoglobulina E
- IL-31** – Interleucina 31
- IFN** – Interferon
- Lm** – *Lolium multiflorum*
- Lp** – *Lolium perene*
- LC** – Célula de Langerhans
- ILC** – Célula linfóide inata
- MHC** – Molécula de histocompatibilidade maior
- NMF** – Fator natural de hidratação
- PAMP** – Padrões moleculares associados a patógenos
- SP** – serino protease
- Tyr** – *Tyrophagus putrescentiae*
- Th** – T helper
- Treg** – T regulatório

**TSLP** – Linfopoetina estromal tímica

**TLR** – Receptores Toll Like

**UBE** – Unidade Biológicas Equivalentes

**URA** – Umidade Relativa do Ar

**LISTA DE SÍMBOLOS**

**%** Porcentagem

**°C** Graus Celsius

**mg** Miligrama

**ml** Mililitro

**µg** Micrograma

**µl** Microlitro

**α** Alfa

**γ** Gama

MAZZIERO, V. G. **Perfil de sensibilização a alérgenos ambientais em cães com dermatite atópica na região de Botucatu – SP, utilizando o teste alérgico de puntura.** Botucatu, 2024. 77p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

## RESUMO

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença cutânea comum, recorrente, inflamatória, pruriginosa e heterogênea, desencadeada por fatores ambientais em indivíduos geneticamente susceptíveis. Acredita-se que a patogênese envolva uma disfunção de barreira cutânea e imunológica multifacetada, geralmente mediada por anticorpos IgE contra antígenos ambientais e/ou alimentares. Logo, a exposição à alérgenos, principalmente pela via percutânea, pode desencadear piora clínica em pacientes sensibilizados. O teste alérgico cutâneo de puntura - *Prick Test* quando usado na fase imunofenotípica adequada, surge como uma ferramenta valiosa na identificação dos principais agentes reacionais para cada paciente. Nesse contexto, o presente estudo objetivou trazer o perfil de sensibilização a alérgenos ambientais em cães com DAC na região de Botucatu – SP através da realização do *Prick Test* com o puntor de ponta múltipla UniTestPC. Para tanto, 59 cães atópicos foram triados a partir da rotina do Serviço de Dermatologia da FMVZ UNESP – campus Botucatu e foram submetidos ao teste alérgico de puntura. A reação foi interpretada como positiva quando o diâmetro médio da pápula fosse superior em 3mm ao controle negativo ou na presença de pseudópodes. Dentre os 59 cães com DAC que participaram do estudo, 84% (50/59) apresentaram reações positivas e 16% (9/59) tiveram reações negativas a todos os extratos alergênicos testados. Sendo que, do total de participantes 71,2% (42/59) reagiram a *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), 67,8% (40/59) a *Dermatophagoides farinae* (Df), 44,1% (26/59) a *Blomia tropicalis* (Bt), 35,6% (21/59) a *Acarus Siro* (As), 57,6% (34/59) a *Tyrophagus Putrescentiae* (Tyr), 27,1% (16/59) a *Cynodon dactylon* (Cn), 15,3% (9/59) a *Paspalum notatum* (Pn), 23,7% (14/59) a *Lolium perene* (Lp) e 39% (23/59) a *Lolium multiflorum* (Lm). O estudo foi pioneiro em caracterizar os principais gatilhos ambientais envolvidos na doença alérgica de cães atópicos da região de Botucatu -SP.

**Palavras-chave:** Alergia, *Prick Test*, antígeno, puntura, reação.

MAZZIERO, V. G. **Sensitization profile to environmental allergens in dogs with atopic dermatitis in the region of Botucatu – SP, using the allergic Prick Test.** Botucatu, 2024. 73p Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

## ABSTRACT

Canine atopic dermatitis (CAD) is a common, recurrent, inflammatory, pruritic and heterogeneous disease, triggered by environmental factors in genetically susceptible individuals. The pathogenesis is believed to involve a multifaceted immunological and dermal barrier dysfunction, usually mediated by IgE antibodies against environmental and/or food antigens. Therefore, exposure to allergens, especially percutaneously, can trigger clinical worsening in sensitized patients. The allergic skin prick test - Prick Test, when used in the appropriate immunophenotypic phase, emerges as an effective tool in identifying the main reaction agents for each patient. In this context, the present study aimed to reveal the sensitization profile for environmental allergens in dogs with CAD in the region of Botucatu – SP by carrying out the Prick Test with the UniTestPC multiple tip prick. To this end, 59 atopic dogs were screened from the routine of the Dermatology Service at FMVZ UNESP – Botucatu campus and underwent an allergic prick test. The occurrence was interpreted as positive when the mean diameter of the papule was 3 mm greater than the negative control or in the presence of pseudopods. Among the 59 dogs with CAD that participated in the study, 84% (50/59) collected positive responses and 16% (9/59) had negative reactions to all allergen extracts tested. Of the total number of participants, 71.2% (42/59) reacted to *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), 67.8% (40/59) to *Dermatophagoides farinae* (Df), 44.1% (26/59) to *Blomia tropicalis* (Bt), 35.6% (21/59) to an *Acarus Siro* (As), 57.6% (34/59) to a *Tyrophagus Putrescentiae* (Tyr), 27.1% (16/59) to a *Cynodon dactylon* (Cn), 15.3% (9/59) to a *Paspalum Notatum* (Pn), 23.7% (14/59) to *Lolium perenel* (Lp) and 39% (23/59) to *Lolium multiflorum* (Lm). The study was a pioneer in characterizing the main environmental triggers involved in allergic disease in atopic dogs in the Botucatu - SP region.

**Keywords:** Allergy, Prick Test, antigen, prick, reaction.

## 1 INTRODUÇÃO

O conceito de atopia vem do grego *atopos* “fora do lugar”, sendo a dermatite atópica (DA) sua primeira e principal manifestação. Ela é uma doença inflamatória crônica de pele, caracterizada por eczema e prurido, que passa pelas fases de exacerbação e melhora clínica. Embora não culmine na morte do paciente, a DA leva a uma perda substancial em sua qualidade de vida (YANG; FU; ZHOU, 2020).

A dermatite atópica canina (DAC) acomete cerca de 30% da população canina global, ou seja, depois dos humanos são a espécie mais acometida. Devido a extensa semelhança na patogênese e fenótipo entre eles, a espécie canina serve como modelo dessa complexa e importante doença (MARSELLA; GIROLOMONI, 2009, SANTORO; HOFFMAN, MARSELLA; GIROLOMONI, 2009, ARCIQUE; BAJWA, 2020, LABIB; YOSIPOVITCH; OLIVRY, 2022).

A DA apresenta componente genético, sendo inerente ao indivíduo, de transmissão vertical e heterogênea. Sendo que, se um, ou ambos os pais forem acometidos, o risco da criança desenvolver a doença atópica aumenta em três vezes e cinco vezes respectivamente (WEIDINGER *et al.*, 2018).

Na medicina são descritas peculiaridades nas apresentações clínicas e em citocinas-chaves com base na idade (RODUIT *et al.*, 2017) e etnia (BRUNNER; GUTTMAN-YASSKY, 2019). Já em cães, análises genéticas sugerem uma variedade de genes que mediam a doença entre raças (poligênica), o que justifica os diferentes padrões lesionais e resposta ao tratamento que ocorre na espécie (SHAW *et al.*, 2004, WILHEM; KOVALIK; FAVROT, 2010).

Considerando os fatores genéticos uma constante, as mudanças nas condições ambientais podem, por si só, determinar um maior desenvolvimento da doença clínica. Isto, apoiado pela “teoria da higiene” explica a incidência crescente da DA mundialmente (ANTURANIEMI *et al.*, 2020). Segundo esta teoria, medidas modernas industrializadas em sociedades ocidentais alteram a exposição microbiana benéfica e minimizam estímulos para a proteção imunológica. O mesmo ocorre para os cães que acompanharam esse estilo de vida, ou seja, que trocaram o ambiente externo de contato com bactérias benéficas e dietas cruas, por ambientes internos com maior exposição a ácaros de poeira doméstica e alimentos processados (FLOHR; YEO, 2011).

Logo, o desenvolvimento dos sinais clínicos é resultado de uma combinação de fatores genéticos (intrínsecos) e ambientais (extrínsecos) (BIZIKOVA *et al.*, 2015).

Sabendo que essa interação molda a resposta imune, a função de barreira e o microbioma da pele, se entende que a disfunção desses estão interconectados, dificilmente identificando o evento inicial dessa cascata (MARSELLA, 2021).

Uma barreira cutânea danificada é mais propensa a absorver antígenos externos e desenvolver uma resposta alérgica, com predomínio, pelo menos inicialmente, de uma resposta T *helper* (Th) 2 e produção de imunoglobulina E (IgE) contra antígenos específicos (SEHRA *et al*, 2016). Essa disfunção imunológica piora ainda mais o defeito de barreira, levando a um ciclo vicioso de inflamação e polisensibilização (GITTLER; KRUEGER; GUTTMAN-YASSKY, 2013).

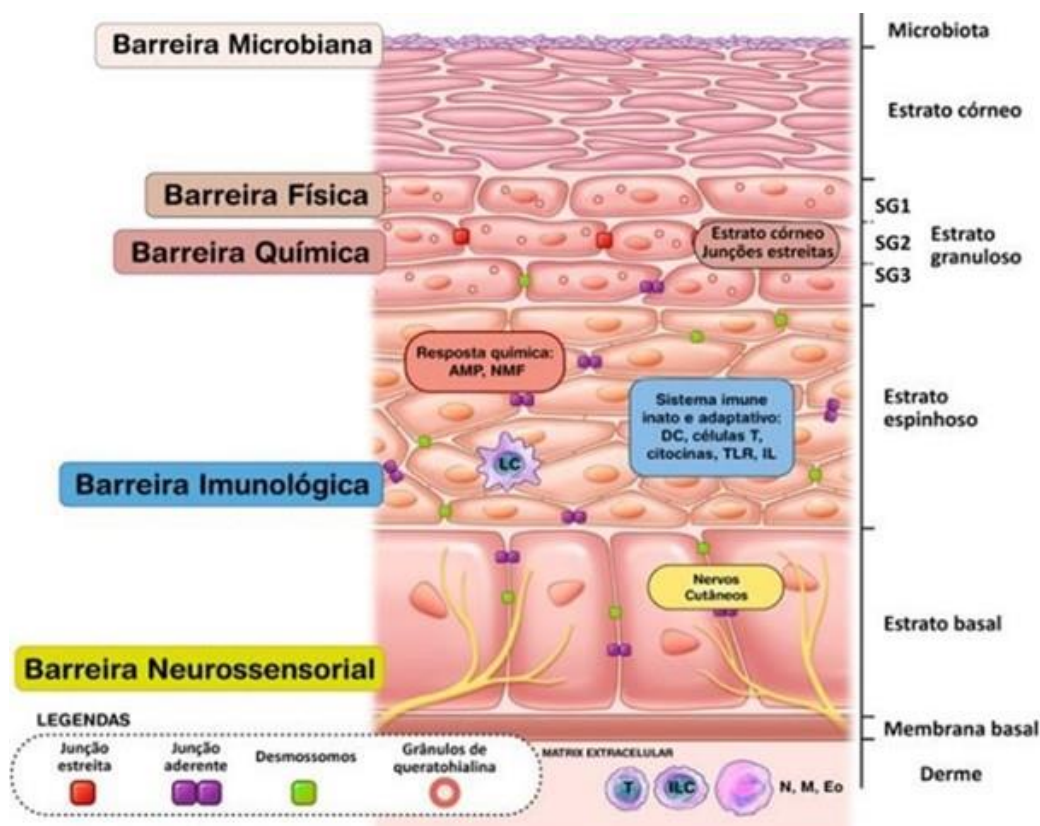
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DISFUNÇÃO DE BARREIRA

O progresso na compreensão da complexa composição e função da barreira epidérmica permite a melhor apreciação do papel ativo que ela desempenha no início e na manutenção da inflamação cutânea em pacientes com DA (MARSELLA, 2021).

A epiderme forma uma barreira física, química, imunológica, neurosensorial e microbiana entre o ambiente externo e o organismo (EYERICH *et al.*, 2018).

A microbiota produz peptídeos antimicrobianos (AMPs) e ácidos graxos livres que estimulam o sistema imune inato (SANTORO *et al.*, 2015). A barreira física é formada por corneócitos, desmossomos, lipídios e claudinas (proteínas que formam as junções intercelulares). A barreira química é composta pelo AMPs que combatem infecções e por moléculas que contribuem para a hidratação, como o fator natural de hidratação (NMFs). A barreira imunológica envolve componentes do sistema imune inato, por exemplo AMPs produzidos pelos queratinócitos e sistema imune adaptativo, por exemplo células de Langerhans (LC) e células linfóides inatas (ILC) (LUGER *et al.*, 2021). E os componentes do sistema neurosensorial funcionam como sensores de perigo, incluem queratinócitos e canais iônicos expressos nos nervos cutâneos, os quais, ao serem ativados liberam neuropeptídeos como a substância P, a qual está relacionado a prurido, dor e inflamação (Figura 1) (ROOSTERMAN *et al.*, 2006).



Esquema das barreiras cutâneas de acordo com a estratificação da pele iniciando da camada mais próxima à derme: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso (subdividido em SG1, SG2 e SG3) e estrato córneo (mais externo, onde a microbiota fica em contato).

AMP: peptídeo antimicrobiano; DC: célula dendrítica; Eo: eosinófilo; IL: interleucina; ILC: célula linfóide inata; LC: célula de Langerhans; M: macrófago; N: neutrófilo; NMF: fator de hidratação natural; TLR: receptor do tipo Toll

### FIGURA 1 - Esquema das barreiras cutâneas de acordo com a estratificação da pele

Fonte: Adaptado de LUGER *et al.* (2021).

O déficit de barreira epidérmica em cães com DAC pode ser mediado por mecanismos primários, como mutações no gene da filagrina e/ou mecanismos secundários, como por exemplo o ciclo coceira-coçar ou a expressão reduzida de proteínas estruturais epidérmicas em resposta a citocinas de um padrão de resposta imune T helper 2 (Th2) (DRISLANE; IRVINE, 2021).

Em biópsias realizadas em cães atópicos foi possível observar por microscopia eletrônica que a ultraestrutura da pele de pacientes alérgicos já é alterada, com um desarranjo ainda pior acontecendo após exposição à alérgenos ambientais e desenvolvimento de lesões (CLEUNG, 2013, HERMPRAPAI *et al.*, 2018).

Foi evidenciado grânulos anormais de querato-hialina, envelope cornificado defeituoso, juntamente com o afinamento da camada córnea. Além disso, proteínas que

fazem parte das junções oclusivas, como a claudina-1 (CLDN1) e do envelope cornificado, como a loricrina e involucrina estão diminuídas (KIM *et al.*, 2015, BERGMANN *et al.*, 2020).

Existem também anormalidades no metabolismo dos corpúsculos lamelares, com consequente perturbação na arquitetura e composição dos lipídeos extracelulares (PIEREZAN *et al.*, 2016). Há uma diminuição de ácidos graxos de cadeias longas e aumento de lipídios de cadeias curtas na estrutura das ceramidas, as quais por si só já estão reduzidas. (CHERMPRAPAI *et al.*, 2018). Conjuntamente se tem menor liberação de AMPs para espaço intercelular, predispondo a disbiose e infecção tegumentar pela bactéria *Staphylococcus pseudintermedius* e/ou pela levedura *Malassezia spp*, as quais se relacionam com a gravidade da doença (BRADLEY *et al.*, 2016).

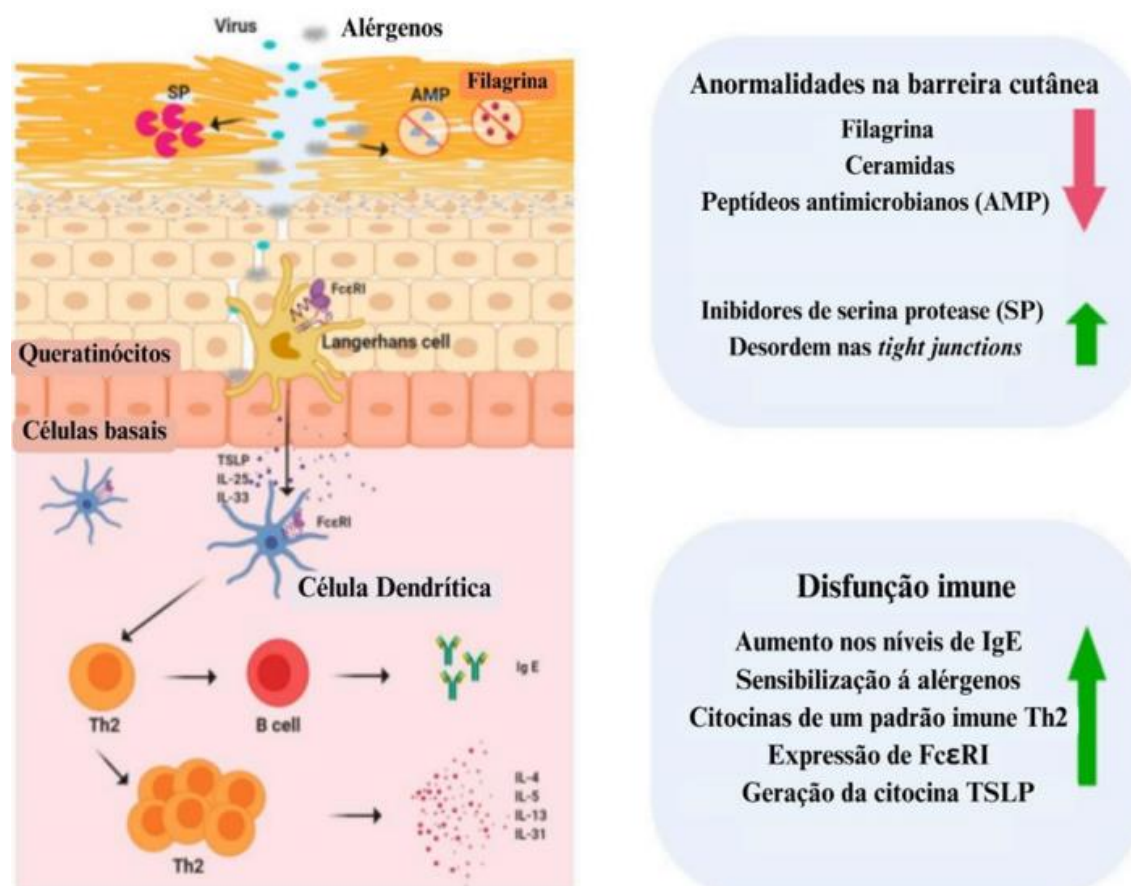
No caso de cães com expressão gênica diminuída de filagrina, a doença se manifesta de forma mais grave, uma vez que sua deficiência ocasiona redução na hidratação do estrato córneo (EC), perda de água transepidérmica e aumento do pH (YANG *et al.*, 2020). O pH cutâneo alcalinizado está relacionado com maiores índices de severidade das lesões, proliferação de bactérias potencialmente patogênicas, disqueratose e prejuízo na epidermopoiese (UBO *et al.*, 2012, ZAJAC *et al.*, 2015).

A pele que não funciona enquanto barreira deixa as terminações nervosas expostas, tornando-a hiper reativa ao meio externo. Inclusive parece haver mais terminações nervosas na epiderme de cães com DAC do que em saudáveis. Logo, para eles o prurido pode vir tanto de um estímulo neurogênico primário, como advindo de uma resposta imunoalérgica (WEIDINGER *et al.*, 2018).

A inflamação, ainda que de baixo grau, está presente no atópico alesional, nesse caso com um infiltrado de células T do tipo CD4 e em menor grau do tipo CD8. E no caso da pele lesional apresenta níveis aumentados de células linfoides inatas tipo II (ILC2s) e número ainda maior de células tipo Th2, sendo que ambas são fenotipicamente semelhantes e compartilham a produção das mesmas interleucinas. Nesse contexto, a citocina IL31 ganha importância ao se destacar como a principal na deflagração do prurido e inflamação cutânea (MARSELLA, 2021; SUÁREZ-FARINAS *et al.*, 2011).

Diante disso, se entende que os principais contribuintes para as anormalidades da barreira cutânea em cães atópicos incluem a diminuição da filagrina, ceramidas e AMPs; aumento da serino protease (SP); diminuição de inibidores de SP e desarranjo das junções oclusivas “*tight junctions*” (LUGER *et al.*, 2021). E em relação a imunopatogênese da DAC se tem um aumento nos níveis séricos de IgE, sensibilização a alérgenos,

predominância de citocinas Th2, aumento de células T, super expressão da linfopoietina estromal tímica (TSLP) e dos receptores de alta afinidade para anticorpos IgE (FcεRI) em células dendríticas inflamatórias epidérmicas e LCs (Figura 2) (MARSELLA, 2021; YANG *et al.*, 2020).



SP: serina protease; AMP: peptídeos antimicrobianos; IgE: imunoglobulina E; FcεRI: receptor de alta afinidade para IgE; TSLP: linfopoietina estromal tímica.

## FIGURA 2 - Disfunção imunológica e da barreira cutânea na DA

Fonte: Adaptado de YANG *et al.* (2020).

Nesse cenário disfuncional de aumento da permeabilidade epidérmica e hiperatividade imunológica, os atópicos se tornam predispostos a se sensibilizarem por via percutânea a alérgenos ambientais e/ou alimentares, e consequentemente desenvolverem um prurido de caráter imunoalérgico (LEUNG, 2013).

## 2.2 DERMATITE ATÓPICA EXTRÍNSECA VERSUS INTRÍNSECA OU SIMILI

A pele é hiper reativa do ponto de vista imunológico e sensorial, mas nem sempre

associada à alergia. Cerca de 80% dos cães com DA apresentam IgE sérica elevada para alérgenos ou reatividade nos testes alérgicos cutâneos, caracterizando a clássica “dermatite atópica extrínseca”. Porém existem pacientes clinicamente indistinguíveis dos clássicos atópicos, para os quais gatilhos ambientais e/ou alimentares não podem ser identificados pelos testes alérgicos atuais. Para esse subconjunto de pacientes usamos o termo “dermatite atópica intrínseca ou dermatite atópica *simili*” (PUNCHEU-HASTON *et al.*, 2015).

Em humanos a DA intrínseca é caracterizada por níveis normais de IgE total e ausência de IgE específica, início tardio, função de barreira cutânea inalterada e gravidade branda em comparação com a DA extrínseca. Imunologicamente tendem a apresentar menor expressão de IL-4, IL-5 e IL-13 e predominância de IFN- $\gamma$  vinda de uma resposta tipo Th1 (TOKURA, 2010).

Marsella (2021) sugere que os cães atópicos *simili* façam parte de um estágio inicial da doença e caso os testes alérgicos cutâneos fossem repetidos futuramente, passariam a apresentar resultados positivos. Outra possibilidade proposta é de que sejam cães reativos contra auto alérgenos ou antígenos atópicos que não são testados rotineiramente.

### 2.3 DERMATITE ATÓPICA STRITU SENSU VERSUS LATU SENSU

Em humanos a DA é a uma das apresentações da doença atópica, com ela sendo tipicamente a primeira e principal manifestação, podendo ser seguida por asma, rinite e alergia alimentar, como parte do que é chamado de “marcha atópica” (PALLER *et al.*, 2018). No caso dos cães, a progressão para sinais respiratórios já foi descrita, porém é incomum. Já a alergia alimentar é uma apresentação frequente nessa espécie (MARSELLA, 2021).

Diante desse cenário surgiram as seguintes denominações: DA *stritu sensu* (DAss) e DA *latu sensu* (DAIs). A DAss não é desencadeada por alimentos, ou seja, não é responsiva a dieta de eliminação. Nessa apresentação os alérgenos ambientais são os eliciadores da doença, com os primeiros sinais podendo ser sazonais em 45-76% dos casos. Já a DAIs é descrita como sendo desencadeada tanto por fatores ambientais como alimentares (PUNCHEU-HASTON *et al.*, 2015). Apesar de ambas serem consideradas clinicamente indistinguíveis (Figura 3), alguns cães com a DAIs podem apresentar sinais clínicos adicionais comumente não associado à DAss, como por exemplo má resposta a

glicocorticóides, prurido perianal, seborreia, idade atípica de início dos sinais e distúrbios gastrointestinais crônicos, principalmente êmese, diarréia e flatulência (PICCO *et al.*, 2008, MUELLER; OLIVRY, 2018).



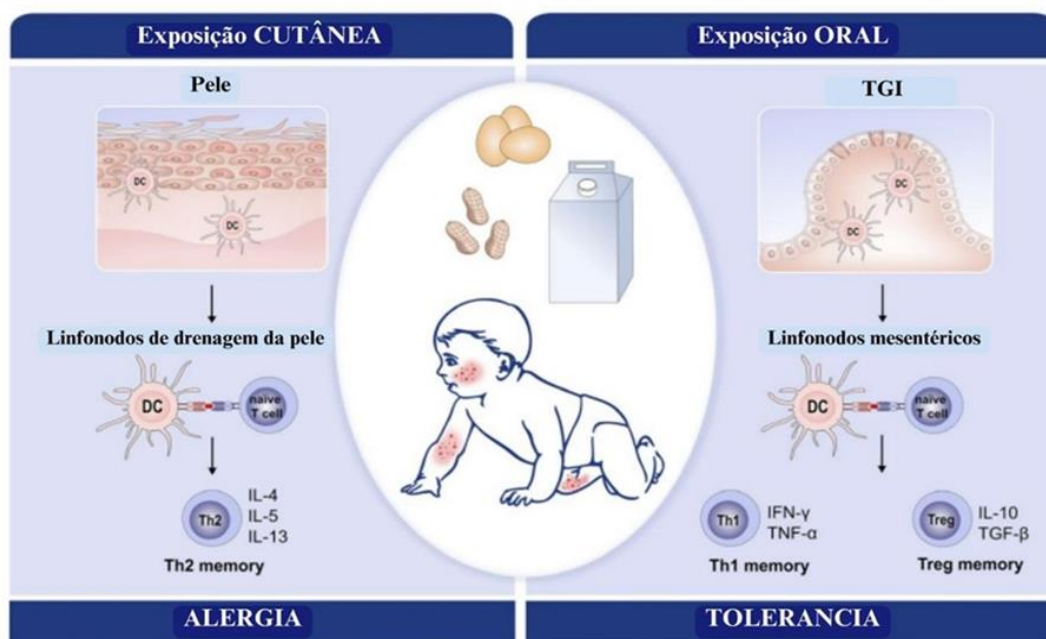
A: Periocular; B: Perioral; C: Superfície cervical ventral; D: Interdigital; E: Axilas; F: Pavilhão auricular; G: Flexura anticubital; H: Abdômen e virilha; I: Perianal.

### **FIGURA 3 - A distribuição de lesões clínicas comuns na DAIs e Dass**

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu.

Atualmente se sabe que a sensibilização alérgica á antígenos ambientais e alimentares em humanos atópicos se dá principalmente por via percutânea e não pela ingestão de alérgenos, como se acreditava anteriormente (DEBINSKA; SOZANSKA,

2023). Brough *et al.* (2020) traz que a exposição a antígenos, nos primeiros dias de vida, através de uma barreira cutânea disfuncional causa desvio das células Treg em direção a um padrão imune Th2, com subsequente progressão para a alergia alimentar. Enquanto isso, a exposição oral precoce causa desvio de células T para subtipos imunes tolerogênicos (Th1 e Treg) (Figura 4).



DC: células dendríticas; Treg: células T regulatórias; Th: células T helper; TGI: trato gastrointestinal.

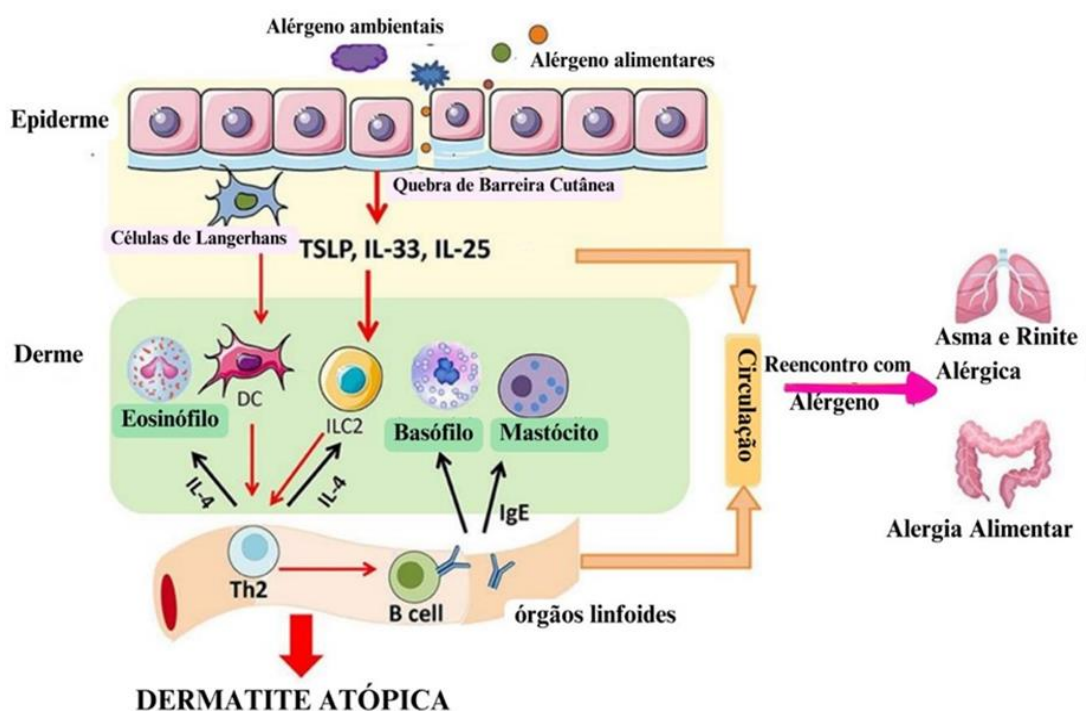
#### FIGURA 4 - Hipótese de dupla exposição alérgica a alimentos em humanos atópicos

Fonte: Adaptado de BROUGH *et al.* (2020).

Dados epidemiológicos sugerem que crianças atópicas expostas a óleo contendo extrato de amendoim podem se tornar sensibilizadas a esse alimento (LACK *et al.*, 2003). Achado semelhante foi descrito por Noti *et al.* (2014), em que camundongos sensibilizados percutaneamente a ovoalbumina e amendoim, passaram a apresentar alergia alimentar. Fukutomi *et al* (2014) traz um risco aumentado para o desenvolvimento de alergia ao trigo devido uso tópico de produtos para cuidado de pele e cabelos. E em crianças com DA a aplicação constante de cremes contendo aveia foi correlacionada com exacerbação das lesões cutâneas e maior sensibilização a esse cereal (BOUSSAULT *et al.*, 2007).

Estendendo essa realidade para cães atópicos, tanto os alérgenos ambientais como os alimentares são capazes de contornar a tolerância oral e sensibilizar o paciente por via

percutânea. Nesse processo, tais antígenos estimulam as células epiteliais a liberarem TSLP e IL33, que enquanto a primeira é considerada dispensável para a marcha atópica, a segunda é crucial, se tratando de uma citocina anafilactóide com muitas células expressando receptor para ela, inclusive as da mucosa intestinal. A IL-33 em sinergismo com IL-25 liberada pelo tufo intestinal estimulam as ILC2s, as quais liberam IL-4, IL-13 e IL-9, contribuindo para a diferenciação de eosinófilos, aumento na quantidade de mastócitos intestinais e posterior degranulação. Isso leva ao aumento da permeabilidade intestinal, conseqüente influxo de antígenos alimentares e desenvolvimento da alergia alimentar (Figura 5) (HAN *et al.*, 2018).



Os alérgenos entram na pele através da barreira cutânea danificada, estimulam as células epiteliais a liberarem TSLP, IL25 e IL33, as quais, pela corrente sanguínea podem chegar até o trato respiratório e digestivo, facilitando o desenvolvimento de asma, rinite e alergia alimentar. *TSLP*: linfopoetina estromal tímica; *IL*: interleucina; *ILC2*: células linfoides inatas tipo 2; *DCs*: células dendríticas; *Th*: células T helper; *IgE*: imunoglobulina E.

**FIGURA 5 - Um possível modelo da contribuição da disfunção da barreira cutânea para a marcha atópica**

Fonte: Adaptado de Yang, Fu e Zhou (2020).

## 2.4 ALÉRGENOS AMBIENTAIS

### 2.4.1 Ácaros de poeira doméstica

Os ácaros de poeira doméstica adaptaram suas necessidades ecológicas ao habitat humano, vivendo e multiplicando-se com sucesso dentro do ambiente intradomiciliar, onde desempenham um papel benéfico como recicladores biológicos e redutores de resíduos. São os principais agentes sensibilizantes em pacientes atópicos, se destacando os da espécie *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Dermatophagoides farinae* (Df) e *Blomia tropicalis* (Bt). Eles preferem consumir esporos de fungos, mas sua dieta também consiste em queratina presente em escamas de pele e pelo. Logo, os banhos frequentes acabam por diminuir a persistência desses alérgenos na superfície cutânea, propiciando um alívio temporário para o paciente alérgico (NUTTALL *et al.*, 2006).

No trabalho de Clarke *et al.* (2015) Df foi isolado em 58% das roupas de atópicos, sendo que o tecido de lã continha maior concentração de ácaros do que o tecido de algodão. Estendendo esse cenário para cães, o uso de roupas deve ser desencorajado.

As concentrações desses ácaros são maiores em locais que haja moveis e material têxtil, como sofás, tapetes, camas, carpete e colchões, os quais mantêm uma temperatura (20°C a 30°C) e umidade (60-75%) adequadas para seu desenvolvimento, bem como fornecem substratos para sua reprodução, predispondo assim suas altas concentrações no ambiente domiciliar (ASSUNÇÃO *et al.*, 2017).

A principal via de exposição aos ácaros é a percutânea, porém as vias inalatórias e oral também são importantes e com efeitos aditivos na sensibilização do cão atópico (MARSELLA; NICKLIN; LOPEZ, 2006).

No Brasil, Dp é comumente encontrado em zonas costeiras e marítimas com alta umidade. E Df, a espécie considerada mais relevante na DAC, é encontrada em maiores concentrações em zonas secas e quentes (CUNHA; SILVA; FACCINI, 2012). Já Bt é um ácaro de vida livre encontrado principalmente em regiões de clima tropical e subtropical (MUELLER *et al.*, 2016).

Os principais alérgenos derivados dos ácaros Df e Dp são originários do epitélio e de enzimas digestivas, sendo geralmente encontrados em *pellets* fecais. No caso do Df, Possebom *et al.* (2016) e Cunha *et al.* (2012) destacaram os alérgenos de alto peso molecular Der f 15 e Der f 18, porém, com o alérgeno de baixo peso molecular Der f 2 também sendo caracterizado no soro de cães atópicos. Em 2021 Ludwig *et al.* identificou

uma soropositividade de 77% para o alérgeno de alto peso molecular Zen 1, que compartilha epítomos de superfície com Der f 15 e 56% de soropositividade para Der f 2, os quais são considerados atualmente os principais alérgenos do ácaro. Os alérgenos Der f 15, Der f 18 e Zen 1 são O-glicosilados, assim como mucinas de *Toxocara canis*, ou seja, existe uma profunda reatividade cruzada entre Df e esse nematódeo (FAVROT; OLIVRY; IWASAKI, 2021).

No caso de Dp, os principais alérgenos são os de baixo peso molecular, Der p 1 e Der p2. Inclusive no trabalho Assunção *et al* (2017) Der p 1 foi o principal alérgeno encontrado no microambiente canino. Já para Bt, Blo t 5 é considerado o alérgeno derivado mais importante (FARIAS *et al.*, 2015).

#### **2.4.2 Ácaros de armazenamento**

Os ácaros de estocagem são representados principalmente pelas espécies: *Acarus siro* (As) e *Tyrophagus putrescentiae* (Tyr). Eles são associados às áreas úmidas da residência, como cozinha, banheiro e dispensa. Também são encontrados em alimentos secos ricos em proteína e gordura, como cereais e rações comerciais (MUELLER *et al.*, 2016).

Nas embalagens de ração para cães a contaminação inicial por ácaros de estocagem é indetectável, porém, caso sejam armazenados em locais com alta umidade (acima de 70%) e alta temperatura (acima de 27°C), como por exemplo em uma garagem, os ácaros poderão entrar e proliferar nos pacotes, invadindo por meio de selos defeituosos (OLIVRY; MUELLER, 2019). O crescimento populacional deles é maior diante uma densidade inicial alta de ácaros, quando os croquetes são triturados ou na presença de ambientes com excesso de mofo (GILL *et al.*, 2011).

Idealmente deve-se optar por rações novas e mantê-las em ambientes frescos, dentro de casa e selados. Brazis *et al.* (2008) recomenda que pequenas embalagens de ração seca sejam utilizadas na alimentação de cães alérgicos. O uso de rações contaminadas em uma dieta de eliminação pode levar a um diagnóstico errôneo de alergia alimentar em pacientes sensibilizados a ácaros de estocagem (OLIVRY; MUELLER, 2019).

Pelo trabalho de Marsella e Sardidomichelkis (2010) foi comprovado a relevância clínica da reatividade cruzada entre Tyr e ácaros de poeira doméstica, com a exposição ao ácaro de armazenamento levando a sinais clínicos em Beagles sensibilizados a Df.

### 2.4.3 Pólens de gramíneas

A polinose é a doença alérgica causada pela sensibilização do indivíduo a pólenes de plantas (flores, gramíneas ou árvores), principalmente os anemófilos, ou seja, aqueles carregados pelo vento a longas distâncias. Logo, a remoção das plantas do ambiente em que o cão atópico vive parece ser pouco benéfico (MUELLER; BETTENAY; TIDEMAN, 2000).

Ocorre com frequência em regiões de clima temperado, onde as estações do ano são bem definidas, mas no Brasil, cuja maior extensão do território apresenta clima tropical e subtropical com as estações pouco marcadas, os casos de polinose são descritos durante todo ano, ainda que em menor porcentagem. Dentre as plantas que produzem pólenes de alta alergenicidade, aquelas da família *Poaceae* se destacam, sendo elas comumente chamadas de gramíneas (ROSÁRIO FILHO, 2012).

É possível a sensibilização cruzada entre plantas não relacionadas devido a panalergenos, como polcalcina e profilina. O *Lolium multiflorum* (Lm) pertence a subfamília *Pooidea* e tem o “major” alérgeno do gupo 1 (Phl p1) e 5 (Phl p5) os quais podem conferir reatividade cruzada com espécies de outras subfamílias (VIERA, 2022).

Os panalergenos também estão envolvidos na “síndrome da alergia oral”, bem descrita na medicina. Ela é caracterizada por sintomas alérgicos provocados pela ingestão de frutas ou vegetais frescos em pacientes com rinite ou rinoconjuntivite alérgica sazonal (CZARNECKA-OPERACZ; JENEROWICZ; SILNY, 2008). Já se sabe que o mesmo pode acontecer em cães, tendo sido relatado o caso de um cão sensibilizado a extrato de cedro japonês que apresentou prurido e inflamação perioral após ingestão de tomate, devido a fruta e o pólen compartilharem semelhanças na sequência de aminoácidos (FUJIMURA *et al.*, 2002).

As principais gramíneas alergênicas no sul do Brasil são *Lolium multiflorum* (Lm) ou *Ryegrass*, *Cynodon dactylon* (Cn) ou grama Bermuda e *Paspalum Notatum* (Pn) ou grama Bahia (CERDEIRO *et al.*, 2021).

## 2.5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da DAC é realizado pelo histórico e sinais clínicos conjugados à exclusão de outras dermatopatias pruriginosas de origem infecto-parasitária, alérgica ou

neoplásica (Quadro 1) (HENSEL *et al.*, 2015). Aliado a isso, a satisfação de cinco dos oito critérios estabelecidos por Favrot *et al* (2010) (Quadro 2) permite atingir uma sensibilidade de 85,4% e uma especificidade de 79,1% na diferenciação de cães com ou sem a DA.

#### QUADRO 1 - Diagnósticos diferenciais para o prurido cutâneo em cães

Doenças parasitárias de pele	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Puliciose</li> <li>– Escabiose (<i>Sarcoptes scabiei</i>)</li> <li>– Demodicose</li> <li>– Queiletielose</li> <li>– Otoacaríase (<i>Otodectes Cynotis</i>)</li> <li>– Trombiculíase</li> <li>– Ácaros nasais (<i>Pneumonyssus caninum</i>)</li> </ul>
Infecções microbianas de pele	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Piodermite estafilocócica</li> <li>– Malasseziose</li> </ul>
Dermatopatias alérgicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Dermatite alérgica à picada de pulgas</li> <li>– Dermatite Atópica</li> <li>– Alergia/intolerância alimentar</li> <li>– Hipersensibilidade à picada de insetos</li> <li>– Dermatite alérgica de contato</li> </ul>
Doença neoplásica de pele	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Linfoma cutâneo</li> </ul>

Fonte: Adaptado de Hensel *et al.* (2015).

#### QUADRO 2 - Critérios de Favrot aplicados em cães com suspeita de DAC

1. Início dos sinais clínicos entre seis meses e três anos de idade
2. Redução do prurido após uso de corticosteróides
3. Cão predominantemente intradomiciliados
4. Presença de otite externa
5. Interdígitos afetados
6. Prurido primário
7. Bordas das orelhas não afetadas
8. Região dorso-lombar não afetada

Fonte: Adaptado de Favrot *et al.* (2010).

Embora os testes alérgicos cutâneos e/ou sorológicos possam facultar informações que aumentam a confiança no diagnóstico da DA, sua principal função é selecionar os

alérgenos que poderão ser incluídos na imunoterapia alérgeno específica, bem como auxiliar na decisão da dieta de eliminação (NUTTALL *et al.*, 2019).

### 2.5.1 Testes Alérgicos

Os alérgenos são antígenos que causam alergia e o epítopo é o sítio específico da molécula do antígeno onde receptores celulares e anticorpos se ligam. O conhecimento sobre alérgenos relevantes na Medicina Veterinária é baseado nas taxas de sensibilização identificadas por testes *in vivo* (testes alérgicos cutâneos e intradérmico) ou testes *in vitro* (sorológico para IgE específica). Ainda assim, o padrão ouro para o diagnóstico de alergia é o teste de provocação para o alérgeno, na intenção de identificar o significado clínico daquela sensibilização (MARSELLA *et al.*, 2012).

No caso dos testes *in vitro*, a dosagem dos níveis de IgE específico para alérgenos são mais fortemente associados a doença clínica em contraste com a dosagem de IgE total. No caso da dosagem de IgE específico, a detecção do anticorpo por método monoclonal é superior ao método de detecção policlonal, com o primeiro sendo mais acurado e uniforme, se ligando sempre no mesmo local da molécula IgE e sem possibilidade de reação cruzada com IGG (TOMMASO *et al.*, 2021). Ainda assim, a IgE específica elevada para alérgenos em cães sem sinais clínicos acontece, pois ela é apenas o testemunho de uma sensibilização, não sendo necessariamente relevante. A IgE é um anticorpo funcionalmente heterogêneo, com frações que se diferem em alergenicidade, mobilidade e capacidade de se ligar a outras moléculas (HENSEL *et al.*, 2015).

As vantagens dos testes sorológicos são: caracterização de forma quantitativa dos resultados, permitida realização do teste em animais com pele lesada, sem necessidade de parar com as medicações anti-inflamatórias previamente; ausência de risco para o animal e desnecessária sedação e tricotomia. Já as desvantagens incluem o alto custo e maior chance de falsos positivos (CARMONA-GIL; SÁNCHEZ; MALDONADO-ESTRADA, 2019).

Os testes cutâneos e ensaios sorológicos medem subconjuntos diferentes de resposta IgE a um antígeno. O teste *in vivo* intradérmico (IDT) mede indiretamente a reatividade dos mastócitos dérmicos ligados a IgE via FcεRI. Nessa forma a IgE apresenta uma meia vida de até 14 dias, diferente de quando está no soro, com uma meia vida máxima de três dias. Comparativamente ao teste sorológico, o IDT apresenta uma maior especificidade (WERFEL *et al.*, 2016).

Atualmente os testes alérgicos cutâneos são os mais utilizados na medicina. O teste de puntura (*Prick Test*) foi descrito pela primeira vez por Jack Pepys em 1975 como uma alternativa preferível ao IDT, com melhor acurácia e menor risco de reações sistêmicas (BERNSTEIN *et al.*, 2008). Em cães isso se replicou, com o *Prick Test* se mostrando mais vantajoso, com reações de pápula e/ou placa mais fáceis de interpretar (Figura 6) boa reprodutibilidade, menor desconforto durante o procedimento, desnecessária de sedação, sem intercorrências sistêmicas, rápida interpretação dos resultados, além de melhor especificidade (ROCHA, 2012; GENTRY; MESSINGER, 2016; CARMONA-GIL; SÁNCHEZ; MALDONADO-ESTRADA, 2019; FLEISCHMAN; MORRIS, 2023).



**FIGURA 6 - A: reações papulares no teste de puntura (*Prick Test*) após 15 minutos da inoculação B: reações papulares no teste intradérmico (IDT) após 15 minutos da inoculação**

Fonte: Arquivo pessoal.

O uso de extratos brutos são a base para os testes alérgicos cutâneos na veterinária, sendo os comercialmente disponíveis padronizados para humanos e não para cães. O limiar irritativo é definido quando pelo menos 90% dos cães saudáveis não reagem aquela concentração de alérgeno. Parece que os canídeos necessitam de extratos mais concentrados, existindo variações de limiares irritativos entre alérgenos. A falta de padronização acaba por limitar a qualidade diagnóstica do teste, podendo levar a falsos positivos ou falsos negativos (CARNETT; PLANT, 2018; ANSOTEGUI *et al.*, 2020).

Os métodos imunohistoquímicos como ELISA de inibição cruzada ou *western blotting* possibilitam a caracterização dos padrões moleculares dos alérgenos. Sendo eles

considerados importantes “*major*” quando encontrados em mais de 50% dos soros de pacientes sensibilizados (LUGER *et al.*, 2021).

Principalmente para pacientes polisensibilizados, o diagnóstico molecular apresenta clara vantagem em relação ao uso do extrato bruto do alérgeno, uma vez que o uso de substâncias purificadas ou alérgenos recombinantes é útil em distinguir entre co-sensibilização e reatividade cruzada. Tal ferramenta diagnóstica não está atualmente disponível na rotina clínica veterinária, tendo seu uso limitado para pesquisas acadêmicas (ARRUDA; MORENO; FERREIRA, 2013; ANSOTEGUI *et al.*, 2020).

### 2.5.1.1 Teste Alérgico Cutâneo de Puntura (*Prick Test*)

#### 2.5.1.1.1 Fundamentos Imunológicos

Os queratinócitos além de terem uma função estrutural, também estão envolvidos na imunidade inata com a produção de AMPs e na imunidade adaptativa com a produção de citocinas pró inflamatórias. As células de Langerhans (LC) são dendríticas, exclusivas da pele e mucosas, e são reconhecidas por suas grandes organelas chamadas de “grânulos de Birbeck”. Tais células ficam primordialmente no estrato espinhoso (EE), tendo em sua superfície a expressão dos receptores *Toll Like* (TLR) os quais são responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e geração de sinais que levam à produção de citocinas pró inflamatórias essenciais para a ativação da resposta imune inata. Já as células linfóides inatas (ILCs) também presentes na epiderme, tem função protetiva e atuam na regulação da inflamação e homeostase cutânea (WERFEL *et al.*, 2016).

Os receptores de proteases (PAR) são encontrados tanto nos axônios como nos queratinócitos, fazendo dessas células reativas a proteases. As proteases liberadas por alérgenos ambientais e/ou alimentares induzem os queratinócitos a produzirem as citocinas de dano epitelial: linfopoiética estromal tímica (TSLP), IL-25 e IL-33. Elas são pruridogênicas e desviam uma resposta T regulatória (Treg) para uma resposta do tipo Th2. Na fase aguda da DAC se tem o interrompimento da imunidade inata, passando a se destacar um predomínio do padrão imune Th2 (WEIDINGER *et al.*, 2018).

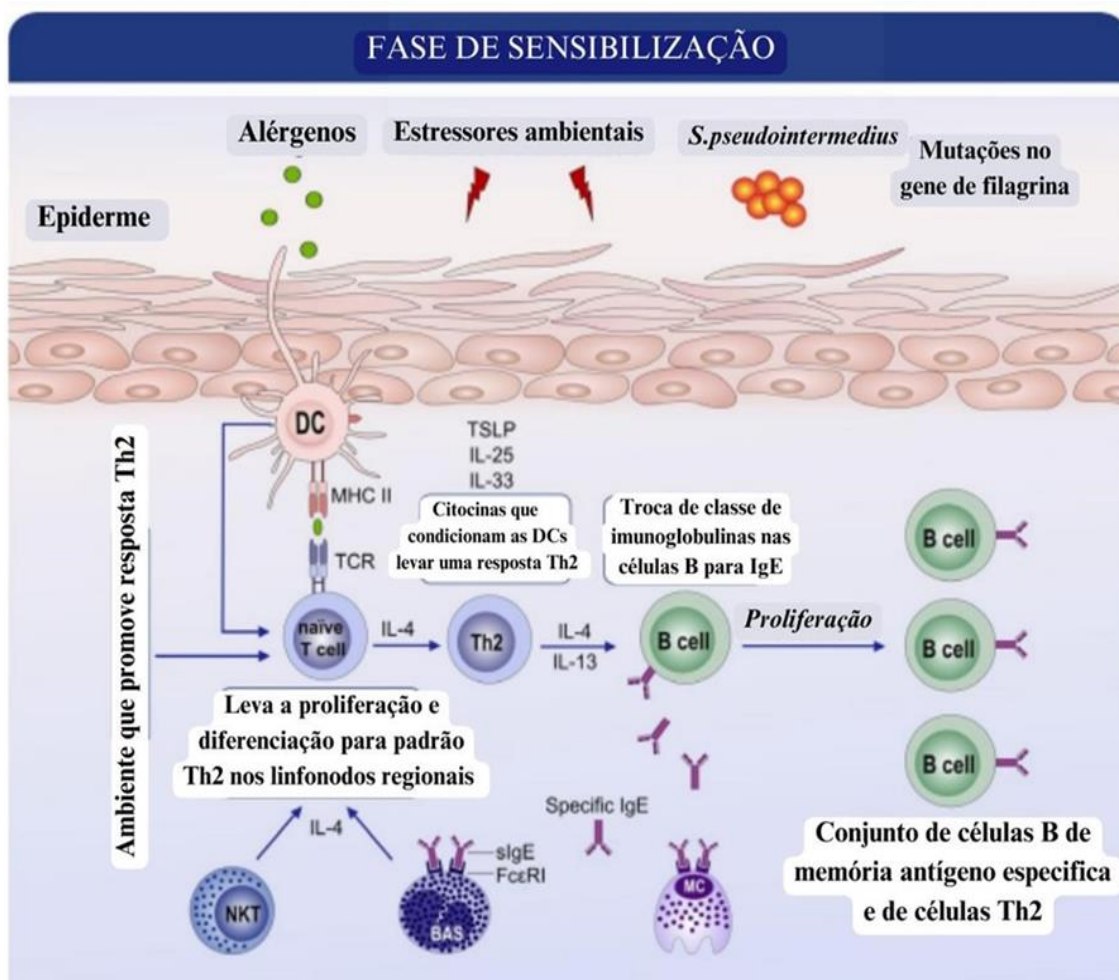
O TSLP é considerado a principal alarmina em estimular as LCs e as ILC2s da epiderme (YANG *et al.*, 2020). As LCs podem ser ativadas direta ou indiretamente. A primeira situação ocorrendo devido a invasão de proteases pela quebra de barreira cutânea

e a segunda sendo desencadeada por citocinas de dano enviadas pelos queratinócitos, as quais estimulam as LCs estender seus dendritos além das *tight junctions*, captar e reconhecer através dos TLRs os antígenos externos (MARSELLA *et al.*, 2012). As LCs ativadas vão até o linfonodo regional e através de moléculas de histocompatibilidade maior tipo II (MHC classe II) apresentam a protease para as células TCD4+ naive (Th0), a qual reconhece o alérgeno pelo seu receptor TCR. Dessa interação ocorre a diferenciação das células Th0 para Th2 (WERFEL *et al.*, 2016).

As células Th2 migram para a pele e iniciam a produção de citocinas, sendo a primeira a IL31, importante na mediação do prurido crônico e servindo como um alvo molecular no tratamento da DAC. Após, se tem a produção de IL-5, IL-9, IL-13, IL-4 e IL-6. A IL-5 promove crescimento, diferenciação e ativação de eosinófilos; IL-9, regula a ativação e proliferação de mastócitos e basófilos; IL-13 e IL-4 são pruridogênicas, potencializam a resposta Th2 e estimulam a migração de linfócitos B, os quais na presença da IL-6 se diferenciam em plasmócitos produtores de IgE antígeno específica (MAKOWSKA *et al.*, 2023). Tais interleucinas impulsionam a gravidade da DA, promovendo a inflamação cutânea, mudança de classe de anticorpos para IgE e regulação negativa de filagrina, loricrina e involucrina, conseqüentemente agravando ainda mais a disfunção de barreira da pele (BRUNNER; GUTTMAN-YASSKY; LEUNG, 2017).

Os anticorpos IgE são citotópicos, ou seja, se ligam através de seus receptores FcεRI na superfície das LCs, mastócitos e basófilos. Os mastócitos e basófilos são similares morfológicamente, porém os basófilos predominam no sangue e os mastócitos nos tecidos (WERFEL *et al.*, 2016).

Enquanto o mastócito estiver sendo povoado pelos anticorpos IgE o cão é dito sensibilizado ao alérgeno, porém ainda não sendo clinicamente relevante. Logo, o paciente ao ser testado neste momento para o devido alérgeno apresentará uma reação leve, moderada ou negativa no *Prick Test* (Figura 7) (WEIDINGER *et al.*, 2018).



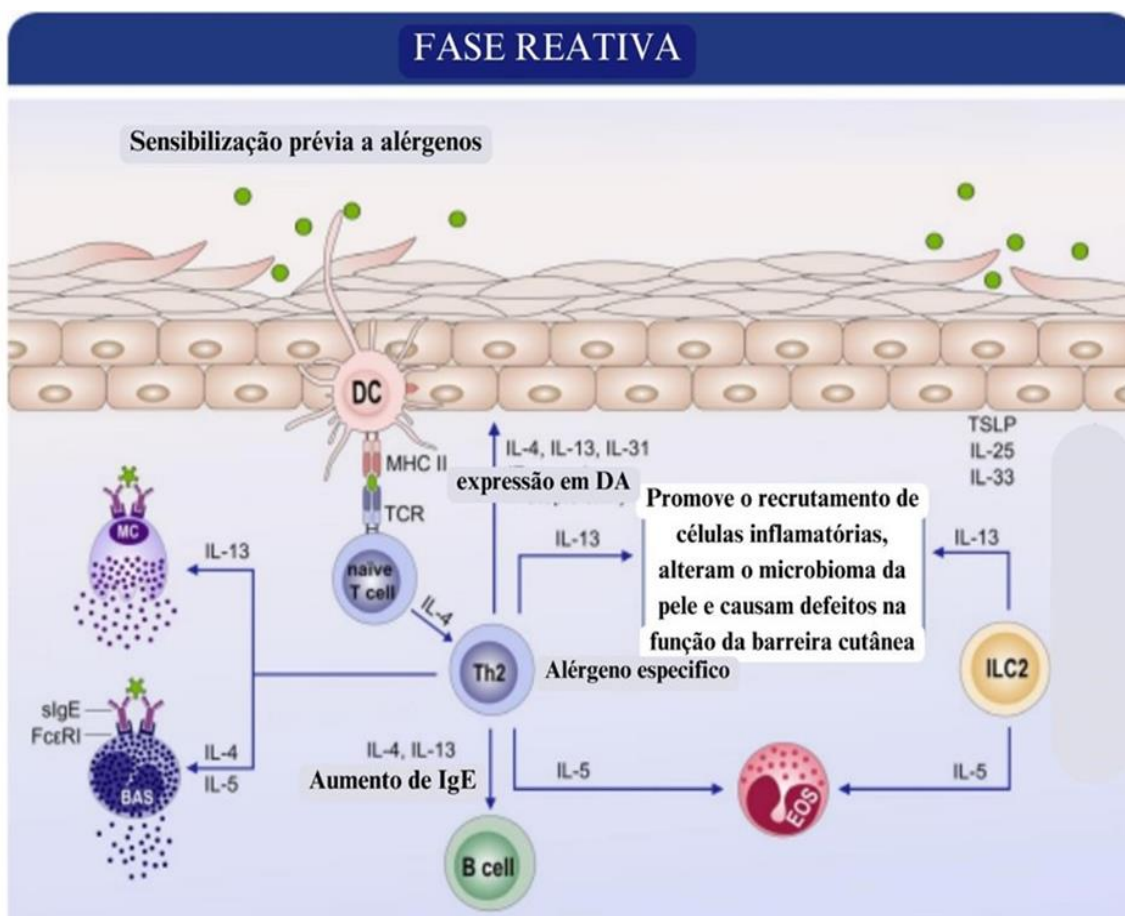
Durante a fase de sensibilização alérgica, no cenário de uma barreira cutânea prejudicada, subconjuntos específicos de DCs residentes capturam alérgenos na pele e transportam para os linfonodos de drenagem regionais, onde são processados e apresentados às células T CD4+ virgens. Dentro dos gânglios linfáticos, a presença de IL-4 e IL-13 favorece a mudança de células B para plasmócitos produtores de grandes quantidades de anticorpos IgE específicos para alérgenos (sIgE). O sIgE se liga a FcεRI na superfície de mastócitos e basófilos. Durante a fase de sensibilização é gerado um pool de células B de memória específicas para alérgenos. DCs: células dendríticas; IL: interleucina; NKT: célula natural killer; FcεRI: receptor de alta afinidade para IgE; Th: células T helper; BAS: basófilos; MC: mastócitos.

### FIGURA 7 – Fase de Sensibilização

Fonte: Adaptado de Brough *et al.* (2020).

Porém, quando todos os nichos do mastócito estiverem ocupados a reexposição ao antígeno específico resultará na ligação cruzada de dois anticorpos IgE ligados a FcεRI e um sinal será enviado para liberar mediadores químicos da inflamação, como histamina (pré-formada, de ação imediata), leucotrienos e prostaglandinas (de ação lenta, gerados no decorrer da reação), bem como IL-4, IL-5, IL-6 e TNF. O paciente se tornará enfim reativo e sempre que entrar contato com o alérgeno terá prurido e eritema, caracterizando o eczema atópico (Figura 8). O *Prick Test* simula tal reação de hipersensibilidade tipo I

na pele causada por alérgenos de origem ambiental e/ou alimentar ao estabelecer o contato entre os antígenos e mastócitos cutâneos (MARSELLA *et al.*, 2012).



A fase reativa segue a fase de sensibilização. Encontros subsequentes com um alérgeno previamente sensibilizado levam à reticulação de IgE e ativação de basófilos e mastócitos. A degranulação de mastócitos e basófilos leva à liberação de mediadores pré-formados que causam os sintomas de reação da fase imediata. DCs: células dendríticas; IL: interleucina; NKT: célula natural killer; FcεRI: receptor de alta afinidade para IgE; Th: células T helper; BAS: basófilos; MC: mastócitos; EOS: eosinófilos; ILC2: células linfoides inatas tipo 2

### FIGURA 8 – Fase Reativa

Fonte: Adaptado de Brough *et al.* (2020).

Porém com a evolução da resposta imuno alérgica as células dendríticas passam a carregar anticorpos IgE, os quais vão facilitar a captação de antígenos, iniciando uma reação de hipersensibilidade tipo IV, tardia e mediada por células (MARSELLA *et al.*, 2012).

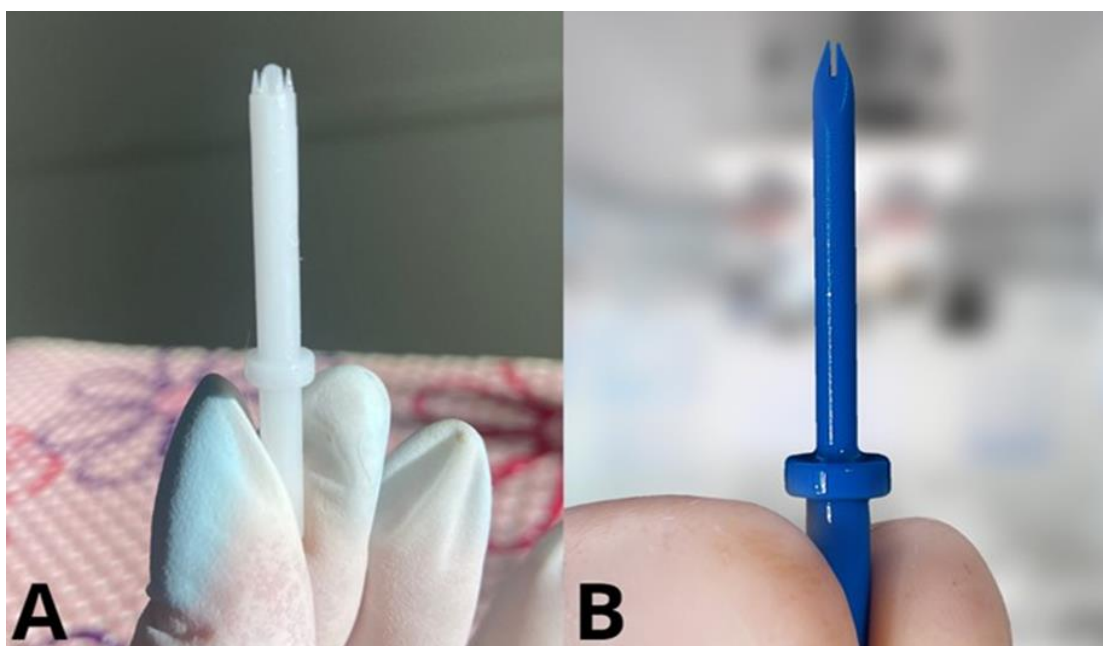
No estudo de Olivry *et al.* (2016) foi demonstrado que após 48 horas da exposição ao alérgeno ocorre a amplificação da resposta Th2, bem como envolvimento da resposta Th22 e em menor grau ativação paralela do eixo Th1. A citocina derivada da resposta

Th22 é a IL-22, identificada como um mediador chave da hiperplasia epidérmica. Já as células Th1 são induzidas por IL-12 e IFN- $\gamma$  secretada por DCs e *natural killers* (NK) após reconhecimento de patógenos associados a moléculas de histocompatibilidade maior tipo I (MHC classe I) (BRUNNER *et al.*, 2017).

As células Th1 são conhecidas por orquestrar respostas mediadas por células devido a produção de IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF-alfa, as quais estimulam e expandem células T citotóxicas, NK, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos, ou seja, caracterizando uma hipersensibilidade tipo IV (GITTLER *et al.*, 2012). Nesse momento se tem a evolução do eczema atópico para a hiperpigmentação e lignificação cutânea (Figura 9) (MARSELLA *et al.*, 2012).



que ocorra sangramento (CARNETT; PLANT, 2018). São diferentes puntores disponíveis na medicina desenvolvidos na tentativa de melhorar a reprodutibilidade do teste, com variações de reações ocorrendo dependendo do dispositivo usado e do operador (TVERSKY *et al.*, 2015). São exemplos de puntores o *Duotip-Test<sup>®II</sup>* (Lincoln Diagnostics, Decatur, Illinois) e o *UniTest<sup>®PC</sup>* (Lincoln Diagnostics, Decatur, Illinois) (Figura 10). É recomendado usar para cada teste um novo puntor e que a puntura seja realizada em pontos equidistantes de 1,5-2 cm para evitar mistura ou sobreposição de alérgenos e, portanto, reações falso positivas (ANSOTEGUI *et al.*, 2020).



**FIGURA 10 - Puntores para Prick Test. A: Puntor de ponta múltipla UniTest<sup>®PC</sup>; B: Puntor Duotip-Test<sup>®II</sup>**

Fonte: Arquivo pessoal.

O puntor de ponta dupla *Duotip-Test<sup>®II</sup>* é um dispositivo de plástico cilíndrico, descartável, que mede 3mm de diâmetro e 41mm de comprimento. Em uma das extremidades há uma ponta para segurar o puntor e na outra duas lancetas para puntura. A técnica para sua utilização necessita de destreza pelo operador ao rotacionar o puntor sobre a pele em um movimento de “jota” (NELSON *et al.*, 2014).

Já o puntor de ponta múltipla *UniTest<sup>®PC</sup>*, amplamente usado na medicina, é mais simples, pois basta pressionar o dispositivo gentil e perpendicularmente sobre a pele do animal. Ele é semelhante ao puntor de ponta dupla, entretanto, possui em sua extremidade uma “coroa” com seis micro espículas que perfuram a epiderme, permitindo uma maior penetração do extrato alérgico. Além disso, possui uma base central que tem a proposta

de dessensibilizar a pele do paciente e conseqüentemente reduzir o desconforto durante a punção (TVERSKY *et al.*, 2015). Bastos (2023) demonstrou que o *UniTest<sup>®</sup>PC* identificou mais reações positivas que o *Duotip-Test<sup>®</sup>II*, e permitiu uma melhor mensuração e interpretação do teste alérgico cutâneo.

A penetração percutânea do extrato alergênico em um cão reativo levará a ativação dos mastócitos e liberação de seus mediadores inflamatórios, causando vasodilatação e edema localizado. A formação de pequenas pápulas e/ou placas eritematosas (erupção cutânea) geradas serão delimitadas, observadas e quantificadas diretamente com auxílio de paquímetro. A reação para cada alérgeno é restrito à área imediata do *Prick Test*, permitindo que diversos alérgenos sejam testados ao mesmo tempo (CARMONA-GIL; SÁNCHEZ; MALDONADO-ESTRADA, 2019).

A alteração clínica da reação surge após 15-20 minutos da exposição ao alérgeno, justificando a espera desse tempo para iniciar a leitura do teste. Uma reação positiva é dada se houver a presença de pseudópodes ou se o diâmetro médio da pápula ( $D+d/2$ ) for igual ou superior em 3mm ao controle negativo (solução salina) (CARMONA-GIL; SÁNCHEZ; MALDONADO-ESTRADA, 2019).

A recuperação das lesões geralmente ocorre dentro de 1-2 horas, mas em alguns casos pápulas e placas eczematosas podem persistir por horas ou dias devido a possibilidade de reações tardias (BOUSQUET *et al.*, 2012).

Se o animal não reagir ao controle positivo (histamina 10mg/ml) o teste deve ser repetido posteriormente, pois possivelmente o paciente estava sob influência de alguma medicação que modula a reação alérgica, ou ocorreu falhas no armazenamento dos alérgenos e soluções controle, ou então a validade dos extratos estava comprometida (RUEFF *et al.*, 2011).

Olivry e Saridomichelakis (2016) sugerem os seguintes tempos de retirada de medicações para a realização do IDT: anti-histamínicos (sete dias), glicocorticoides orais de curta duração e tópicos (14 dias), glicocorticoides injetáveis de longa duração (28 dias), já o uso de ciclosporina parece não interferir no resultado do teste.

Da mesma forma, alguns sedativos não devem ser usados para tranquilizar o paciente, como oximorfona, cetamina/diazepam, acepromazina e morfina. Pelo contrário, o cloridrato de xilazina, medetomidina (dexmedetomidina), tiletamina/zolazepam, tiamilal, halotano, isoflurano e metoxiflurano podem ser usados com segurança. Recomendações sobre o uso de propofol para IDT ainda são controversas (HENSEL *et al.*, 2015).

Baretta *et al.* (2023) observou que o Oclacitinib levou a uma redução do diâmetro das pápulas no *Prick Test*, e ainda que não tenha alterado o resultado, eles sugerem cautela no uso dessa medicação.

Os extratos são preservados em 50% de glicerina, devendo ser mantidos na geladeira a uma temperatura de 2-8°C, abaixo ou acima disso se tem perda da potência alergênica. Da mesma forma, os prazos de validade devem ser respeitados, especialmente para alérgenos instáveis como é o caso dos alimentares (RUEFF *et al.*, 2011).

Em teoria, cães com menos de três anos testados podem ser considerados jovens demais para exibir características da DA e desse modo mostrar sensibilidade nos testes alérgicos cutâneos. Entretanto, também é documentado diminuição de reações em cães com mais de seis anos de idade (BOUSQUET *et al.*, 2012).

## 2.6 IMUNOTERAPIA

A abordagem terapêutica para a DAC mudou, tornando-se mais holística e focada em restaurar ao invés de suprimir o sistema imunológico. Sustentabilidade e segurança são fundamentais para o manejo a longo prazo, sendo assim, a imunoterapia (SIT) é considerada a opção mais desejável. Ela tem o intuito de reeducar o sistema imunológico através do desenvolvimento de uma resposta de tolerância ao alérgeno, ao mudar o padrão imune Th2 (alergênico) para o padrão imune Th1 a longo prazo (PLANT; NERADILEK, 2017).

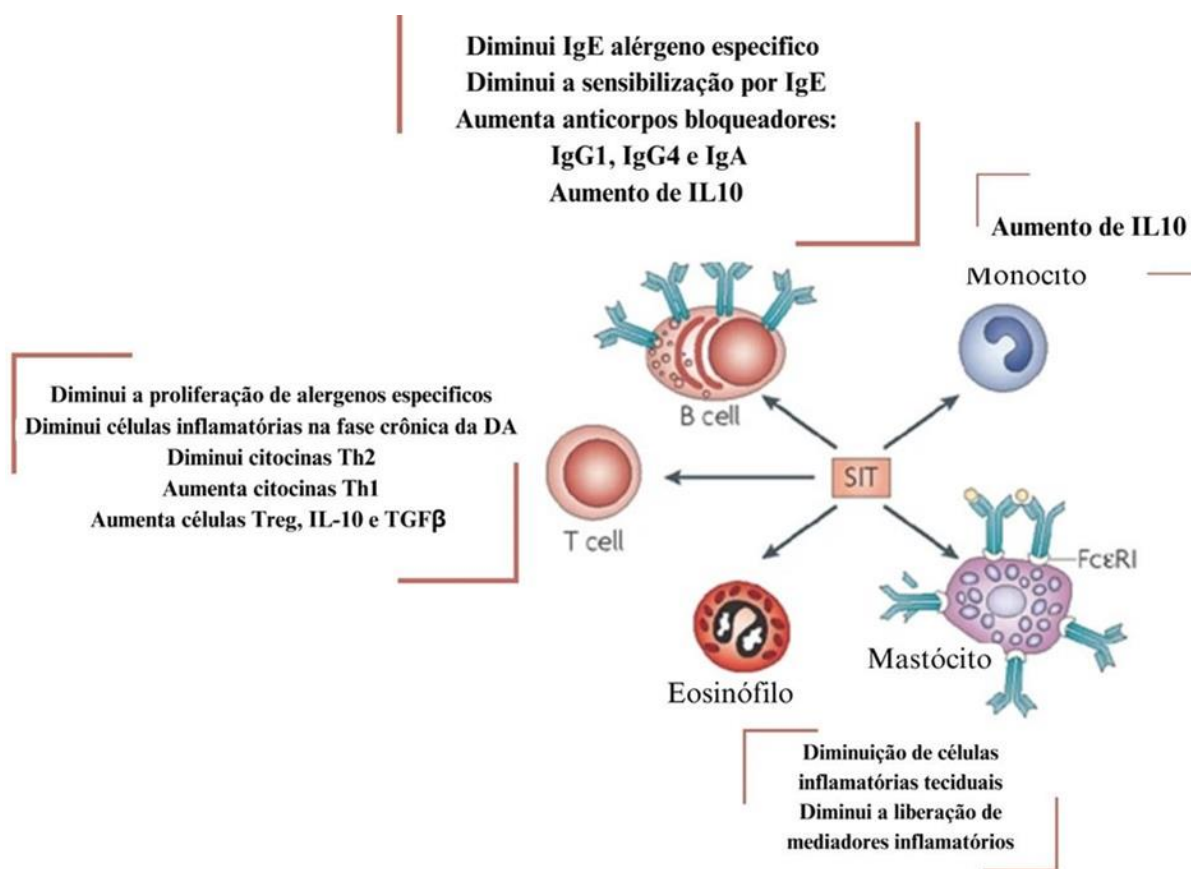
A tolerância se dá pelo aumento da proteína *forkhead box P3* (FOXP3) – um fator transcricional que atua na proliferação de células Treg, bem como na regulação positiva do fator de crescimento beta (TGF- $\beta$ ) e IL10, as quais inibem a síntese de citocinas inflamatórias. Como resultado se tem uma mudança de classe de imunoglobulina para IgA, IgG1 e principalmente IgG4, as quais apresentam um efeito bloqueador por competição de IgE. Ainda, a SIT diminui o número de mastócitos e sua capacidade de liberar mediadores inflamatórios, assim como reduz o recrutamento de células efetoras, como os eosinófilos e neutrófilos, para os locais de exposição a alérgenos (Figura 11) (HOLGATE; POLOSA, 2008, DEBOER, 2016).

A SIT na Medicina Veterinária é restrita aos alérgenos ambientais, sendo que a decisão sobre quais serão incluídos no frasco é baseada nos resultados do *Prick Test*, bem como na sabida existência desses alérgenos no ambiente em que o paciente vive. Diferentes vias de administração são sugeridas, porém as subcutâneas e sublinguais

permanecem as comumente usadas na prática clínica (FISCHER; ROSTAHER; FAVROT, 2020).

É feito uma aplicação gradualmente crescente do extrato alergênico, até que seja atingido uma dose e frequência eficientemente capaz de promover a redução dos sintomas associados à exposição subsequente ao alérgeno causal. É improvável que tratamentos concomitantes com antihistamínicos, lokivetmab e oclacitinib prejudiquem a terapia, porém é incerta a influência dos glicocorticoides e ciclosporina (MUELLER, 2018).

A duração da SIT é longa, muitas vezes exigindo de seis a 12 meses para a melhora ser evidente, com sua eficácia variando de 50 a 70%, dependendo do protocolo utilizado (FISCHER; MULLER, 2019).



SIT: imunoterapia alérgica específica; Th: células T helper; Treg: células T reguladoras funcionais; IL: interleucina; TGFβ: fator transformador de crescimento-β; Ig: imunoglobulina; FcεRI: receptor de alta afinidade para IgE.

### FIGURA 11 - A SIT modifica as respostas celulares e humorais ao alérgeno ao criar uma resposta de tolerância

Fonte: Adaptado de Holgate e Polosa (2008).

### 3 OBJETIVOS

Levantamento de dados epidemiológicos e de incidência dos principais alérgenos ambientais envolvidos na sensibilização alérgica de cães com DAC na região de Botucatu – SP, por meio do *Prick Test UniTest®PC*.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Destacar as principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes com DA;
- Determinar a frequência em porcentagem e valor absoluto de reações no *Prick Test UniTest®PC* aos ácaros de poeira doméstica, ácaros de armazenamento e pólenes de gramíneas envolvidos na sensibilização de cães com DAC na região de Botucatu - SP;
- Avaliar estatisticamente a correlação entre os alérgenos ambientais relacionados.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), FMVZ – UNESP BOTUCATU

O presente estudo foi submetido à apreciação CEUA da FMVZ-UNESP, Botucatu/SP e aprovado sob protocolo número 0007/2022 (Anexo 1).

### 4.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO

Os 59 cães atópicos participantes do presente estudo foram triados a partir da rotina do Serviço de Dermatologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Botucatu, no período de fevereiro/2022 a fevereiro/2024.

### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Cães com diagnóstico clínico de DAC, entre três e sete anos de idade, independente da raça e sexo. Todos os cães estavam com controle de ectoparasitas atualizado; apresentavam prurido crônico, primário, perene, de intenso a grave e se enquadravam em pelo menos cinco dos oito “critérios de Favrot” (FAVROT *et al.*, 2010). Todos tiveram descartadas as doenças pruriginosas que pudessem se assemelhar ou sobrepor a DAC (Tabela 1). Sendo que, a depender de cada caso, tais exclusões foram realizadas através de diversos exames dermatológicos, como por exemplo citopatológico de pele e cerúmen, cultura fúngica e histopatológico.

Os pacientes com infecções tegumentares secundárias (bacteriana ou fúngica) foram adequadamente tratados com terapia tópica e/ou sistêmica e somente foram submetidos à realização ao *Prick Test* após a determinação da higidez cutânea.

Os seguintes fármacos foram interrompidos previamente ao teste alérgico: anti-histamínicos orais (sete dias), glicocorticóides de curta duração e tópicos (14 dias), glicocorticóides injetáveis de longa duração (28 dias), Maleato de oclacitinib oral (dois dias). Já ciclosporina e lokivetmab não tiveram seu uso descontinuado.

Os cães com temperamento agitado ou agressivo, que não permitiram a contenção manual para a realização do teste, foram submetidos a sedação com administração

intravenosa de medetomidina (dexmedetomidina)<sup>1</sup>.

#### 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Cães impossibilitados de descontinuar o uso de medicação anti-histamínica ou glicocorticoide; fêmeas em período de estro, gestação ou lactação; cães que apresentavam infecções tegumentares (bacterianas ou fúngicas) irresponsivas a tratamento prévio; cães com controle de ectoparasitas desatualizado e com o fenótipo crônico da doença atópica (Figura 12).



A: Cervical, B: Dorsolateral e C: Abdômen e Virilha

**FIGURA 12 - Paciente com fenótipo crônico da DAC, se apresentando clinicamente com lignificação, hiperpigmentação e disqueratose em regiões A, B e C**

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu).

#### 4.5 PRICK TEST UNITEST®PC

As soluções a base de salina e histamina (10mg/ml) foram utilizadas como controle negativo (CN) e positivo (CP), respectivamente. Os extratos de alérgenos ambientais utilizados foram provenientes dos ácaros de poeira doméstica *Dermatophagoides farinae* (Df), *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Blomia tropicalis* (Bt), dos ácaros de armazenamento *Tyrophagus Putrescentiae* (Tyr) e *Acarus Siro* (As) e dos extratos de pólenes de gramíneas *Cynodon dactylon* (Cn), *Paspalum*

<sup>1</sup> Dexdomitor; Zoetis foi usado na dose 125 - 375 mcg / m<sup>2</sup> área de superfície corporal

*notatum* (Pn), *Lolium perene* (Lp) e *Lolium multiforum* (Lm), contendo 10 HEP de potência (equivalente a 10.000 UBE/ml). Todos os extratos e soluções controle utilizados foram manipulados pelo Laboratório *Salute Vita*<sup>2</sup> (Laboratório de antígenos, São Paulo, Brasil) na concentração de 50% de glicerol e 0,45% de fenol, os quais foram submetidos às análises de padronização e potência. Quando não estavam em uso, eram armazenadas sob refrigeração a 4 ° C e acondicionadas em uma bandeja de alérgenos (*Lincoln Diagnostics*, Decatur, EUA) permitindo que os puntores oclussem perfeitamente no recipiente e que sua extremidade de puntura ficasse inteiramente imersa no respectivo reservatório (Figura 12).



A bandeja acomoda os puntores com sua extremidade de puntura submersa nos extratos alérgênicos e soluções controle a serem testados no paciente.

**FIGURA 13 - Puntores *UniTest*®PC (*Lincoln Diagnostics*, Decatur, EUA) posicionados na bandeja de alérgenos do mesmo fabricante.**

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu.

Os cães incluídos no estudo tiveram a região lateral do tórax tricotomizada com máquina de tosa com lâmina 40, após isso, foi realizada a higienização do local com

<sup>2</sup> Salute Vita Farmácia de Manipulação Humana Ltda. ME, no mercado de imunoterapia alérgica desde 1993, localizada em São Paulo -SP, de CNPJ 13.876.341/0001-77

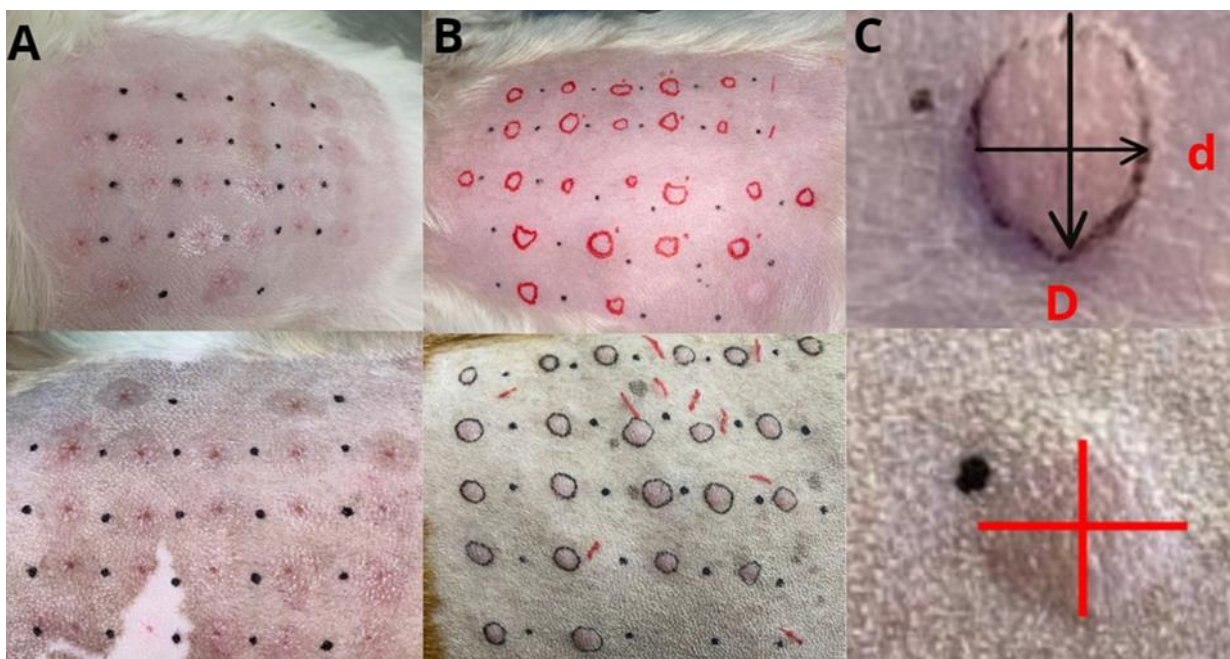
solução fisiológica e marcação da pele com caneta dermatográfica, mantendo-se pontos equidistantes de 1,5 a 2,0 cm. O puntor *UniTest*<sup>®</sup>PC foi posicionado perpendicularmente à superfície da pele, ao lado de cada marcação, ficando em contato com esta por cerca de cinco segundos antes da execução da puntura, permitindo a dessensibilização e passagem do extrato por capilaridade para a superfície tegumentar. Em seguida, o puntor foi pressionado contra a pele por mais cinco segundos, ocasionando uma pequena escoriação na epiderme e viabilização da penetração percutânea do alérgeno (Figura 14).



**FIGURA 14 - Aplicação do extrato alergênico na pele de um cão com prurido crônico, utilizando puntores de plástico com ponta múltipla do tipo *UniTest*<sup>®</sup>PC em ângulo de 90°**

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu.

Após 15 minutos da puntura foi feita a leitura do teste. As pápulas eritematosas foram demarcadas com caneta dermatográfica e a mensuração da média ortogonal das reações feita com paquímetro. A reação era considerada positiva quando a média do diâmetro pápula do alérgeno fosse superior em 3 mm à média do diâmetro da pápula do controle negativo (Figura 15).



A: Momento imediato após a puntura; B: Reação papular já demarcada após 15 minutos da puntura; C: Representação dos ângulos utilizados para obtenção da média ortogonal papular.

**FIGURA 15 - Mensuração da média ortogonal da reação papular pós puntura em dois cães com prurido crônico de origem alérgica**

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu).

Os resultados positivos foram associados ao histórico e manifestações clínicas do paciente, permitindo a indicação da imunoterapia alérgeno específica.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados demográficos como raça, sexo e estado reprodutivo, bem como as informações sobre as principais manifestações clínicas, critérios positivos de *Favrot* e a positividade para cada alérgeno ambiental testado foram apresentados descritivamente em porcentagem e em valor absoluto, enquanto a idade dos pacientes foi descrita em média com desvio padrão.

Em relação às porcentagens de co-sensibilização entre alérgenos ambientais de cada grupo (ácaros de poeira doméstica, ácaros de armazenamento e pólenes de gramíneas) os resultados obtidos foram quantificados e submetidos à análise pelo teste de qui-quadrado ( $p < 0,05$ ), visando avaliar se existia diferença estatística entre as proporções de cada resposta.

Para o cálculo de concordância entre reações de alérgenos ambientais foi realizada a análise Kappa, conforme descrito por Fleiss (1981), tendo os dados submetidos ao teste

com análise de concordância geral. A interpretação do valor de Kappa foi feita baseada nos critérios de Landis e Koch (1977). O software utilizado para a análise estatística foi o Bioestat 5.0.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

Durante o período do estudo 59 cães realizaram o *Prick Test UniTest®PC*, sendo destes 69,4% (41/59) fêmeas e 30,5% (18/59) machos. Foram incluídos no grupo experimental pacientes acima de três anos de idade e abaixo de 7 anos de idade, sendo a média e desvio padrão da idade dos participantes de 4,15 anos  $\pm$  1,42. Dentre as raças, 32,2% (19/59) eram sem raça definida (SRD), seguidos de 16,9% (10/59) Shihtzu, 15,13% (9/59) Lhasa, 8,5% (5/59) Buldogue francês, 6,8% (4/59) YorkShire e com menor participação de outras raças (Tabela 1). Quanto ao estado reprodutivo, eles eram majoritariamente castrados 84,7% (50).

**TABELA 1 - Frequência de raça dos cães participantes do estudo**

<b>Raças</b>	<b>n.</b>	<b>%</b>
SRD	19	32,2
Shihtzu	10	16,9
Lhasa	9	15,3
Buldogue francês	5	8,5
YorkShire	4	6,8
Buldogue inglês	2	3,4
BullTerrier	2	3,4
American Bully	2	3,4
Pincher	1	1,7
Pug	1	1,7
Dachshund	1	1,7
Labrador	1	1,7
Whippet	1	1,7
Pastor Suíço	1	1,7

Em relação aos critérios de *Favrot*, 11,9% (7/59) participantes tiveram 5 critérios positivos, 16,9% (10/59) tiveram 6 critérios positivos, 28,8% (17/59) tiveram 7 critérios positivos e 42,4% (25/59) foram positivos para todos os critérios (Quadro 3).

**QUADRO 3 - Frequência de positividade aos critérios de Favrot dos cães participantes do estudo**

<b>CRITÉRIOS DE FAVROT</b>	<b>n.</b>	<b>%</b>
1. Início dos sinais clínicos entre seis meses e três anos de idade	42	71,2
2. Redução do prurido após uso de corticosteróides	59	100
3. Cão predominantemente intradomiciliar	55	93,2
4. Presença de otite externa	48	81,4
5. Interdígitos afetados	48	81,4
6. Prurido primário	59	100
7. Bordas das orelhas não afetadas	59	100
8. Região dorso-lombar não afetada	38	64

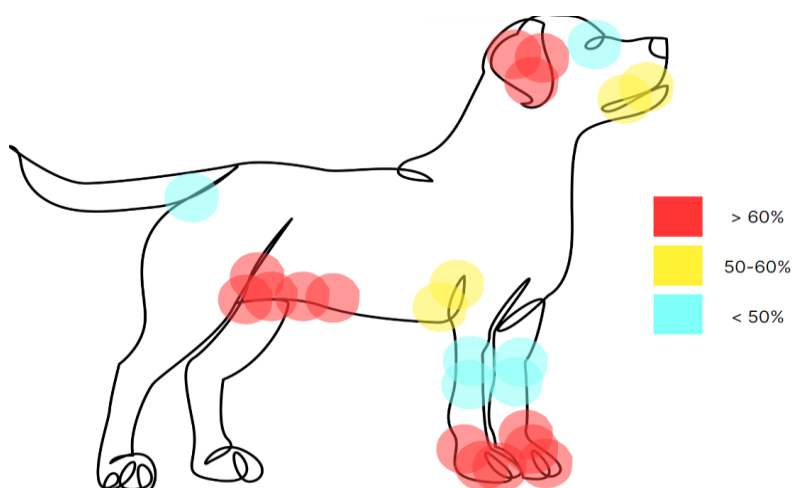
Sobre o estilo de vida dos participantes, 93,2% (55/59) viviam predominantemente dentro de casa (*indoor*), inclusive 66,1% (39/59) dos cães dormiam na cama junto do tutor. Porém, 62,7% (37/59) cães tinham acesso a gramíneas, fosse a do próprio domicílio ou durante passeios. Desses, 18,9% (7/37) tinham contato diário, 37,8% (14/37) contato semanal e 43,2% (16/37) raras vezes ao mês.

A frequência das principais manifestações clínicas que os participantes apresentaram até o momento da realização do teste alérgico de puntura está descrita no Quadro 4.

**QUADRO 4 - Principais manifestações clínicas apresentadas pelos participantes**

Manifestações Clínicas	n.	%
Prurido perioral	33	55,9
Prurido perianal	17	28,8
Prurido periocular	29	49,1
Prurido interdigital	48	81,3
Prurido axilar	34	57,62
Prurido virilha/abdômen	36	61,01
Prurido flexura antecubital	32	54,2
Otite	48	81,3
Disbiose bacteriana	31	52,5
Disbiose fúngica	17	28,8
Eczema	44	74,57
Alesional	15	25,4

Com tais informações, foi possível montar um dermograma das regiões mais afetadas por prurido e lesões cutâneas (Figura 15), destacando-se principalmente orelhas, região interdigital, abdômen e virilha.



Áreas vermelhas representam mais de 60% dos cães afetados; cor amarela entre 50-60% dos cães afetados e a cor azul, menos de 50% dos cães afetados.

**FIGURA 16 - Dermograma do prurido dos cães com DAC que participaram do estudo**

## 5.2 PRICK TEST UNITEST®PC

### 5.2.1 Frequência de sensibilização a alérgenos ambientais

Dentre os 59 cães com DAC que participaram do estudo, 84% (50) reagiram a alérgenos ambientais e 16% (9) foram negativos a todos eles. Do total de cães, 18,6% (11/59) não apresentaram reação a nenhum dos três ácaros de poeira doméstica testados: *Dermatophagoides farinae* (Df), *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) e *Blomia tropicalis* (Bt), 35,6% (21/59) animais apresentaram reação positiva aos três ácaros e 81,4% (48/59) a pelo menos um. Houve 71,3% (42/59) de positivos para Dp, 67,8% (40/59) para Df e 44% (26/59) para Bt.

Já sobre os ácaros de armazenamento: *Tyrophagus Putrescentiae* (Tyr) e *Acarus Siro* (As), 40,7% (24/59) dos participantes não reagiram a eles, 35,6% (21/59) foram positivos a ambos e 59,3% (35/59) apresentaram ao menos uma reação a algum deles. Houve 57,7% (34/59) positivos a Tyr e 35,6% (21/59) positivos para As.

E em relação aos pólenes de gramíneas: *Cynodon dactylon* (Cn), *Lolium perene* (Lp), *Lolium multiflorum* (Lm) e *Paspalum notatum* (Pn), 54,2% (32/59) cães não reagiram a nenhum deles, 6,8% (4/59) reagiram a todos e 45,8% (27/59) foram positivos a pelo menos um. Houve 27,1% (16/59) de cães reagentes à Cn, 23,7% (14/59) reagentes a Lp, 39% (23/59) reagentes a Lm e 15,25% (9/59) reagentes a Pn (Tabela 2 e 3).

**TABELA 2 - Prevalência de cães com reações negativas e positivas em valores absolutos e em porcentagem a todos ou a pelo menos um: ácaros de poeira doméstica, ácaros de armazenamento e pólenes de gramíneas**

	Negativo para todos	Positivo para todos	Positivo para pelo menos um
Ácaros de poeira doméstica	11 (18,6%)	21 (35,6%)	48 (81,4%)
Ácaros de armazenamento	24 (40,7%)	21 (35,6%)	35 (59,3%)
Pólenes de gramíneas	32 (54,2%)	4 (6,8%)	27 (45,8%)

**TABELA 3 - Prevalência de reações negativas e positivas em valores absoluto e em porcentagem no *Prick Test UniTest®PC***

Alérgenos	Negativo		Positivo	
	n.	%	n.	%
<i>Dermatophagoides farinae</i>	17	28,8	42	71,2
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	19	32,2	40	67,8
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	24	40,7	34	57,6
<i>Blomia tropicalis</i>	33	55,9	26	44,1
<i>Lolium multiflorum</i>	36	61,0	23	39,0
<i>Acarus Siro</i>	38	64,4	21	35,6
<i>Cynodon dactylon</i>	43	72,9	16	27,1
<i>Lolium perene</i>	45	76,3	14	23,7
<i>Paspalum notatum</i>	50	84,7	9	15,3

Para ácaros de poeira doméstica (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis*), ácaros de armazenamento (*Tyrophagus Putrescentiae* e *Acarus Siro*) e pólenes de gramíneas (*Cynodon dactylon*, *Lolium perene*, *Lolium multiflorum* e *Paspalum notatum*).

### 5.2.2 Co-sensibilização entre alérgenos ambientais

A análise estatística demonstrou que houve co-sensibilização entre Df e Dp, uma vez que a ocorrência dos dois juntos é estatisticamente diferente pelo qui-quadrado de quando as reações ocorreram de modo isolado a cada um deles. Quanto a Bt, a estatística mostra que é improvável que a reação a ele aconteça sozinha, geralmente vindo acompanhada de reação aos outros ácaros de poeira doméstica (Df e Dp) (Tabela 4).

**TABELA 4 - Frequência das associações de reações entre ácaros de poeira doméstica**

Df	Dp	n	%	Df	Bt	n	%	Dp	Bt	n	%
-	-	12	20,3 <sup>b</sup>	-	-	13	22,0 <sup>a</sup>	-	-	17	28,8 <sup>a</sup>
-	+	5	8,5 <sup>c</sup>	-	+	4	6,8 <sup>b</sup>	-	+	2	3,4 <sup>b</sup>
+	-	7	11,9 <sup>bc</sup>	+	-	20	33,9 <sup>a</sup>	+	-	16	27,1 <sup>a</sup>
+	+	35	59,3 <sup>a</sup>	+	+	22	37,2 <sup>a</sup>	+	+	24	40,7 <sup>a</sup>

*Dermatophagoides pteronyssinu* (Dp), *Dermatophagoides farinae* (Df) e *Blomia tropicalis* (Bt) em valores absolutos e em porcentagem. As porcentagens seguidas pela mesma letra minúscula em cada coluna não diferiram significativamente entre si pelo teste qui-quadrado ( $p > 0,05$ ).

No caso das reações a ácaros de armazenamento é importante frisar que todos os

pacientes que reagiram ao As também reagiram à Tyr, ou seja, uma reação positiva ao primeiro ácaro geralmente veio acompanhada de reação positiva ao segundo (Tabela 5).

**TABELA 5 - Frequência das associações entre ácaros de armazenamento**

As	Tyr	n	%
-	-	24	40,7 <sup>a</sup>
-	+	14	23,7 <sup>a</sup>
+	-	0	0,0 <sup>b</sup>
+	+	21	35,6 <sup>a</sup>

*Acarus siro* (AS) e *Tyrophagus putrescentiae* (Tyr) em valores absolutos e em porcentagem. As porcentagens seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram significativamente entre si pelo teste qui-quadrado ( $p>0,05$ ).

O teste estatístico de qui quadrado para os pólenes de gramíneas mostra que existe uma co-sensibilização entre Cd e Lm, uma vez que a reação ao Cd geralmente veio acompanhada de reação a Lm. Também é possível notar que a ocorrência de sensibilização a Pn e/ou Lp é claramente maior quando acompanhada de reação a Lm. Já sobre os outros pares de alérgenos que foram correlacionados, aparentemente não existe nenhuma co-sensibilização significativa (Tabela 6).

**TABELA 6 - Frequência das associações de reações entre pólenes de gramíneas**

Cd	Pn	n	%	Cd	Lp	n	%	Cd	Lm	n	%
-	-	38	64,4 <sup>a</sup>	-	-	39	66,1 <sup>a</sup>	-	-	33	55,9 <sup>a</sup>
-	+	5	8,5 <sup>c</sup>	-	+	4	6,8 <sup>c</sup>	-	+	10	16,9 <sup>b</sup>
+	-	12	20,3 <sup>b</sup>	+	-	6	10,2 <sup>bc</sup>	+	-	3	5,1 <sup>c</sup>
+	+	4	6,8 <sup>c</sup>	+	+	10	16,9 <sup>b</sup>	+	+	13	22,0 <sup>b</sup>
Pn	Lp	n	%	Pn	Lm	n	%	Lp	Lm	n	%
-	-	41	69,5 <sup>a</sup>	-	-	35	59,3 <sup>a</sup>	-	-	36	61,0 <sup>a</sup>
-	+	9	15,2 <sup>b</sup>	-	+	15	25,4 <sup>b</sup>	-	+	9	15,2 <sup>b</sup>
+	-	4	6,8 <sup>b</sup>	+	-	1	1,7 <sup>d</sup>	+	-	0	0,0 <sup>c</sup>
+	+	5	8,5 <sup>b</sup>	+	+	8	13,6 <sup>c</sup>	+	+	14	23,7 <sup>b</sup>

*Cynodon dactylon* (Cd), *Lolium perene* (Lp), *Lolium multiflorum* (Lm) e *Paspalum notatum* (Pn) em valores absolutos e em porcentagem. As porcentagens seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram significativamente entre si pelo teste qui-quadrado ( $p>0,05$ ).

Foi calculado o coeficiente Kappa de Cohen para as reações entre duplas de alérgenos ambientais do mesmo grupo (ácaros de poeira doméstica, ácaros de armazenamento e pólenes de gramíneas) visando avaliar se existia associação entre eles. Quando o valor de  $p < 0,0001$  a associação entre as reações foi classificada como de boa replicabilidade (concordantes), já no caso de  $p > 0,0001$  a associação foi de fraca replicabilidade. É possível perceber que os resultados por esse teste estatístico confirmaram os achados obtidos pelo teste de qui-quadrado (Quadro 5).

**QUADRO 5 - Coeficiente de significância (valor de p) e replicabilidade (boa ou fraca) entre as reações de alérgenos ambientais testados, após tratamento estatístico Kappa**

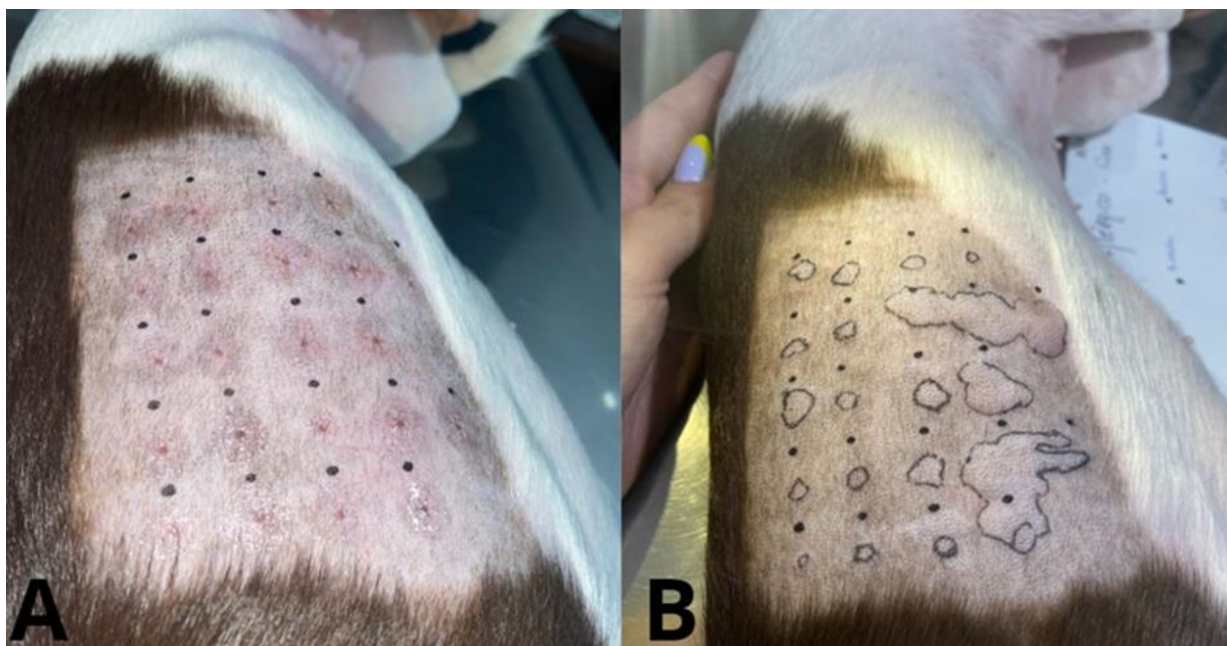
Alérgenos	Valor de p	Replicabilidade
Df e Dp	<0,0001	Boa
Df e Bt	=0,0216	Fraca
Dp e Bt	<0,0001	Boa
As e Tyr	<0,0001	Boa
Cd e Pn	=0,1020	Fraca
Cd e Lp	<0,0001	Boa
Cd e Lm	<0,0001	Boa
Pn e Lp	=0,0074	Fraca
Pn e Lm	=0,0004	Fraca
Lp e Lm	<0,0001	Boa

Df: Dermatophagoides farinae; Dp: Dermatophagoides pteronyssinus; Bt: Blomia tropicalis; As: Acarus Siro; Tyr: Tyrophagus putrescentiae; Cd: Cynodon dactylon; Pn: Paspalum notatum; Lp: Lolium perene; Lm: Lolium multiflorum.

### 5.3 OCORRÊNCIA DE REAÇÕES ADVERSAS APÓS A EXPERIMENTAÇÃO

Em relação às reações urticariformes ou sistêmicas, nenhum dos 59 animais testados apresentou reações anafilactóides, entretanto, 6,7% (4) desenvolveram reações tardias aos alérgenos testados, com presença de placa eczematosa e prurido persistente no local da puntura. Estes animais foram tratados com prednisolona na dose de 0,5mg/kg a

cada 24 horas, durante três dias, com resolução completa do quadro clínico. Um paciente (sem raça definida, fêmea, de dois anos) teve formação de pseudópodes extensos, com coalescência das reações (Figura 16). Além disso, outro paciente (Buldogue inglês, fêmea, de três anos) há seis meses testada não teve até o presente momento o crescimento piloso na área tricotomizada.



A: Momento imediato pós puntura; B: Formação de pseudópodes e coalescência de reações a alérgenos ambientais testados.

**FIGURA 17 - Dermografismo no local de puntura pelo *Prick Test UniTest®PC***

Fonte: Serviço de Dermatologia Veterinária, FMVZ UNESP Botucatu.

## 6 DISCUSSÃO

Avaliando os cães com prurido crônico e perene incluídos no estudo, todos obedeceram aos critérios que permitem o diagnóstico presuntivo de DAC. Desses 69,4% (41/59) eram fêmeas. Scott (1981) e Halliwell;Schwartman (1971) afirmam que a doença é registrada com maior frequência nas fêmeas, enquanto em um estudo mais recente de Lund (2011) foi revelado uma maior ocorrência em machos. Logo, ainda é controverso a influência de gênero na ocorrência da DAC.

Diversos estudos apontam predileções raciais, as quais variam de acordo com a região geográfica e popularidade do momento. Isso apoia a base genética envolvida da DAC, bem como na variação fenotípica que ocorre de acordo com cada raça (WILHEM; KOVALIK; FAVROT., 2010, NUTTAL *et al.*, 2019). Atualmente se destacam: Boxer, Dalmata, Bull Terrier, Buldog Francês, Pastor Alemão, Golden Retriever, Sharpei, Shihtzu, Jack Russell, West Highland White Terrier e Poodle (JAEGER *et al.*, 2009). Porém, o presente estudo mostrou um maior acometimento para cães SRD (32,2%), remetendo que o fator ambiental é, senão mais, igualmente significativo em relação à influência genética no desenvolvimento clínico da doença atópica.

Harvey *et al.* (2019) e Anturaniemi *et al.* (2017) relacionam o consumo de dietas industrializadas, o isolamento intradomiciliar e a limpeza extrema com o risco aumentado para DAC, Laurenço-Martins (2010) chegou a sugerir que “dormir no exterior” poderia servir como fator protetor para a doença. O estilo de vida e manejo dos participantes do estudo combinam com os descrito por tais autores, com 84,7% (50/59) dos cães consumiam rações comerciais, possuíam acesso restrito ao meio externo/rural e a outros animais, bem como 93,2% (55/59) deles viviam principalmente *indoor*.

Entende-se que o estilo de vida moderno está relacionado com o crescente aumento das dermatopatias imunoalérgicas e início precoce dos sinais clínicos associados a DA (ANTURANIEMI *et al.*, 2020). É possível notar isso em nosso trabalho, com 71,1% (42/59) dos cães apresentando sinais da doença antes dos três anos de idade.

Em relação às manifestações clínicas, 100% apresentaram o prurido como primeiro e principal sinal, concordando com Favrot *et al.* (2010), que verificou 61% dos cães com DAC apresentando prurido, ainda que alésional, na fase inicial da doença. É sabido que a topografia lesional está relacionada às áreas do corpo de maior contato com alérgenos (MARSELLA, 2021). Logo, nosso estudo reforça a importância dos ácaros de poeira doméstica, já que as regiões de destaque pruriginoso foram a interdigital (48/59),

virilha/abdômen (36/59) e axilar (34/59) ou seja, referentes às áreas preferíveis para penetração e sensibilização epicutânea por esse grupo de alérgenos ambientais (OLIVRY; HILL, 2001).

Saridomichelakis *et al.* (2007) traz a DAC como a principal causa primária de otite externa, representando cerca de 43% dos casos. No trabalho de Jaeger *et al.* (2010) e Favrot *et al.* (2010) 50% dos cães atópicos apresentaram otite externa crônica. No presente estudo isso se destaca ainda mais, com 81,4% (48/59) dos cães apresentando histórico de otite crônica e recorrente.

A inflamação mesmo que presente em menor grau nos cães atópicos diminui a sobrevivência de bactérias benéficas e seleciona as potencialmente patogênicas (BRADLEY *et al.*, 2016). Tais antígenos microbianos funcionam como um fator extrínseco para precipitação do eczema atópico, além disso, estão associadas a cronificação da doença e alterações tegumentares disqueratóticas (LEUNG, 2013).

Previamente à realização do *Prick Test*, 52,5% (31/59) dos pacientes apresentaram disbiose bacteriana e 28,8% (17/59) disbiose por *Malassezia spp*, as quais foram devidamente tratadas. Resultado semelhante foi descrito por Possebom *et al.* (2022) com 47% dos cães apresentando infecção estafilocócica de pele, porém, em relação a disbiose por *Malassezia spp*, a porcentagem de acometidos foi de 12%, ou seja, inferior ao encontrado no presente estudo.

Assim como na medicina, é esperado que o *Prick Test* substitua o IDT como “padrão ouro” e passe a ser o método de escolha pelos alergologistas veterinários na identificação dos gatilhos ambientais e/ou alimentares envolvidos na doença alérgica de cães atópicos. Para os sensibilizados a alérgenos ambientais, é possível a prescrição da SIT, a qual se mostra vantajosa em diminuir o resgate medicamentoso e deve ser estimulada como primeira escolha terapêutica ao invés de último recurso, visto que ela ainda é a única capaz de mudar o curso natural da doença e prevenir novas sensibilizações (FISCHER; ROSTAHER; FAVROT, 2020).

Dos 59 cães participantes, 16% (9/59) não apresentaram reações positivas no *Prick Test* para alérgenos ambientais. Marsella (2021) sugere que tais pacientes ainda estão na fase inicial da sensibilização a alérgenos e que caso fossem testados no futuro poderiam apresentar reações positivas. Porém, os cães apenas foram testados ao atingir a idade mínima de três anos de idade, logo, o mais provável é que tais pacientes tratem-se de atópicos *simili*. Na medicina esse subtipo de DA é caracterizado por início tardio, predominância feminina, função de barreira cutânea inalterada, menor risco de marcha

atópica e apresentam uma gravidade mais branda em comparação com a DA extrínseca. Imunologicamente tendem a apresentar menor expressão de IL-4, IL-5 e IL-13 e predominância de IFN- $\gamma$  vinda de uma resposta tipo Th1. Apesar de serem clinicamente semelhantes, se acredita que no caso *simili* a resposta alérgica se dê por autoantígenos ou antígenos não proteicos, como metais (MAKOWSKA *et al.*, 2023).

Além disso, é importante entender que apesar da potência e estabilidade dos extratos alergênicos usados no teste alérgico de puntura estarem bem acreditados pelos fabricantes, como é o caso do laboratório parceiro neste estudo, a padronização biológica dos alérgenos ambientais é estabelecida apenas para uso humano e não para uso em cães. Isso se faz um importante fator limitante, podendo levar a falsos negativos já que aparentemente os extratos de ácaros de poeira doméstica precisam ser mais concentrados e os de pólenes de gramíneas serem usados em sua forma não diluída (CARNETT; PLANT, 2018).

Por conta disso, testamos apenas alérgenos individuais e não *mix* de alérgenos ambientais, já que as misturas diluem o alérgeno individual e conseqüentemente aumentam a possibilidade de falsos negativos no *Prick Test* (FLEISCHMAN; MORRIS, 2023).

Mesmo diante de diversos dispositivos comercialmente disponíveis para a puntura no *Prick Test*, optamos por utilizar o *UniTest®PC*, o qual além de apresentar as vantagens de ser menos doloroso, mais facilmente mensurado e interpretado, ele também é capaz de identificar mais reações positivas, logo, melhorando a sensibilidade do teste percutâneo para os alérgenos ambientais (BASTOS, 2023; TVERSKY *et al.*, 2015).

O clima do município de Botucatu é subtropical úmido, com invernos amenos e verões quentes. A temperatura média anual é de 20,3°C e a URA média anual de 73,9% (INPE, 2024), as quais são ideais para a proliferação de ácaros de poeira doméstica e de ácaros de armazenamento (ASSUNÇÃO *et al.*, 2017). Tais condições ambientais justificam a alta sensibilização para esses alérgenos, tendo ocorrido um total de 81,4% (48/59) de reações para ácaros de poeira doméstica e de 71,3% (35/59) para ácaros de armazenamento.

Segundo Nuttall *et al.* (2006) ácaros de poeira doméstica *Dermatophagoides farinae* (Df), *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) e *Blomia tropicalis* (Bt) são considerados os principais alérgenos ambientais para doenças atópicas em cães e humanos. Em concordância com os resultados do presente estudo, com 71,2% (42/59) dos pacientes reagindo à Df, 67,8% (40/59) à Dp e 44,1% (26/59) à Bt.

No presente estudo, 95,8% (46/48) dos participantes que reagiram a ácaros de poeira doméstica viviam predominantemente dentro de casa, com 67,4% (39/48) deles dormindo na cama com o tutor, sendo este o nicho ecológico ambiental que Assunção *et al.* (2017) identificou com a maior concentração de ácaros de poeira doméstica, seguido por tapetes e sofás.

Dutra *et al.* (2017) revelou em seu trabalho que pacientes alérgicos de níveis socioeconômicos mais baixos costumam apresentar maior número desses ácaros em seus ambientes domésticos. O que combina com o perfil dos tutores de cães atópicos atendidos no Serviço de Dermatologia da FMVZ UNESP campus Botucatu.

Por Medeiros *et al.* (2002) a sensibilização a Df é mais frequentemente observada em humanos atópicos. Nuttal *et al.* (2006) propõe o mesmo para cães, afirmando que o Df provavelmente é o ácaro de poeira doméstica mais importante. Isso se replica no trabalho de Ludwing *et al.* (2021) com 92% dos cães apresentando IgE específica para esse ácaro.

Já Soares *et al.* (2007) discorda, mostrando o Dp como o principal ácaro associado a reações no *Prick Test* em humanos atópicos. Possebom (2019) corrobora com seu trabalho na Medicina Veterinária, identificando uma soropositividade maior para Dp ao invés de Df. Além disso, no trabalho de Assunção *et al.* (2017) e de Cunha *et al.* (2012) Dp foi o principal ácaro encontrado no microambiente canino, reforçando sua importância na sensibilização de nossos pacientes atópicos. Porém, entendemos que a distribuição das espécies de *Dermatophagoides* é capaz de variar dentro de pequenas áreas geográficas.

No presente estudo, a frequência de co-positividade no *Prick Test* para os ácaros Df e Dp foi de 59,3% (35/59) valor estatisticamente diferente pelo qui quadrado ( $p < 0,05$ ) de quando as reações ocorriam de modo isolado a eles. Somado a isso, o teste de Kohen traz uma boa concordância entre reações a esses dois ácaros. Tal fato pode estar relacionado à existência de reatividade cruzada entre eles, já que existe uma homologia de cerca de 90% entre seus alérgenos (MARTÍNEZ *et al.*, 2000).

A sensibilização ao Bt é comum em países de clima tropical e subtropical, como a América do Sul, América Central, África e Sudeste Asiático (MUELLER *et al.*, 2016). O mesmo para o Brasil, com o ácaro sendo comumente encontrado na poeira doméstica de cidades no interior de São Paulo e frequentemente associado a sensibilização de crianças com rinite e asma alérgica (ASSUNÇÃO *et al.*, 2017, CUNHA *et al.*, 2012).

Ácaros de armazenamento foram identificados no ambiente domiciliar dos cães, porém parecem ser mais importantes na alimentação canina (FARMAKI *et al.*, 2012). A

maior taxa de proliferação desses ácaros em sacos de ração parece depender do material da embalagem e duração do pacote aberto (NUTTALL *et al.*, 2006). Os resultados do estudo Arlian *et al.* (2003) mostraram que 94% dos cães apresentam IgE elevada contra As e Tyr.

No presente trabalho, 57,7% (34/59) dos participantes foram positivos para *Tyrophagus Putrescentiae* (Tyr) e 35,6% (21/59) para *Acarus Siro* (As). Sendo o Tyr o ácaro de armazenamento mais encontrado nas rações comerciais (BRAZIS *et al.*, 2008). Até o momento não existem trabalhos avaliando a efetividade de uma imunoterapia específica para esses alérgenos em cães atópicos, o que é necessário para se estabelecer a real relevância clínica da sensibilização no *Prick Test* a eles.

Semelhantemente ao trabalho de Goicoa *et al.* (2008), observamos uma co-sensibilização pelo *Prick Test* de 56% (33/59) entre ambos os grupos de ácaros (armazenamento e poeira doméstica). Saridomichelakis *et al.* (2008) traz a possibilidade de reatividade cruzada entre alérgenos de ácaros de poeira doméstica e de armazenamento, sendo posteriormente demonstrado por Marsella; Saridomichelakis (2010) que tal reatividade cruzada é clinicamente relevante, com Beagles sensibilizados a ácaros de poeira doméstica apresentando piora clínica ao entrar em contato com ácaros de armazenamento.

Em áreas de clima temperado, o pico de polinização ocorre de setembro a dezembro, contudo nos trópicos e subtropicais, como é o caso do Brasil, os pólenes podem ser encontrados durante todo o ano, ainda que em menor proporção (MUELLER; BETTENAY; TIDEMAN, 2000).

A sensibilização de cães com DAC para alérgenos derivados de gramíneas varia entre 10% e 25% (MUELLER *et al.*, 2016). Cerdeiro *et al.* (2021) corrobora com essa informação, trazendo 25,6% de positividade no *Prick Test* a esses alérgenos. Porém, aqui o dado foi superior a tais estudos, com 45,7% (27) dos cães reagindo às gramíneas. Talvez essa diferença se dê pelo acesso frequente que os participantes tinham a elas (>70%) sendo que, dos que tinham acesso, 18,9% (7/19) tinham contato diário, 37,8% (14/19) contato semanal e 43,2% (16/19) raras vezes ao mês. Ou então, tal resultado tenha se dado pois usamos o puntor *UniTest®PC*, que sabidamente encontra mais resultados positivos que o *Duotip-Test®II*.

Ainda por Cerdeiro *et al.* (2021) foi observado uma sensibilização de 70% para *Cynodon dactylon* (Cn), 70% para *Lolium multiflorum* (Lm) e 40% para *Paspalum notatum* (Pn), porém o *Lolium perene* (Lp) não foi testado. No presente estudo houve

resultados semelhantes, com o Pn sendo a gramínea menos importante, correspondendo a 16% (9/59) das reações positivas no *Prick Test* e se destacando o Cn, Lp e Lm, responsáveis, respectivamente, por 27,2% (16/59), 23,7% (14/59) e 39% (23/59) das reações positivas no estudo.

A baixa sensibilidade a gramíneas torna o número de casos positivos muito pequeno para permitir uma discussão estatística robusta acerca da frequência de associações entre reações a pólenes de gramíneas e co-sensibilizações, ou seja, pode haver alguns fenômenos que não podemos notar pelo N (número de cães atópicos positivos para gramíneas) ser pequeno.

Estudos para a padronização dos extratos alergênicos comerciais para cães devem avançar na alergologia veterinária com intuito de melhorar a acurácia dos testes cutâneos. Enquanto isso, na medicina o uso de alérgenos purificados a partir de fontes naturais ou produzidas por proteínas recombinantes em laboratório, torna o diagnóstico molecular bem estabelecido. Essa realidade propicia testes alérgicos mais precisos e uma imunoterapia a qual passa a ser realmente "alérgeno específico".

## 7 CONCLUSÕES

No presente estudo, os participantes com diagnóstico clínico de DAC foram em sua maioria fêmeas, castradas, SRD, que viviam predominantemente dentro de casa e com os sinais clínicos se iniciando antes dos 3 anos de idade. Apresentaram principalmente eczema, piodermite estafilocócica e otite, com as lesões se concentrando predominantemente em abdômen, orelha e região interdigital.

Em vista do estilo de vida, hábitos alimentares, localização geográfica e clima influenciarem na seleção dos principais antígenos que precipitam a piora clínica do paciente atópico, o ambiente ao qual o animal é exposto deve ser considerado na escolha dos alérgenos a serem testados no *Prick Test*. Somado a isso, a compreensão do imunofenótipo do cão atópico é fundamental para direcionar o melhor momento a ser realizado. Espera-se que a disponibilidade de tal teste percutâneo para os alergistas veterinários possibilite a imunoterapia (SIT) para alérgenos ambientais.

O presente estudo foi pioneiro em identificar os mais importantes alérgenos ambientais para cães atópicos na região de Botucatu - SP utilizando o *Prick Test UniTest®PC*. Foram destacados principalmente os ácaros de poeira doméstica Df e Dp, o ácaro de armazenamento Tyr e o pólen de gramínea Lm como os responsáveis pelo maior número de sensibilizações cutâneas. Tal valiosa informação permite decidir pelo menor número de alérgenos a compor a SIT, tornando-a mais individualizada e bem-sucedida.

Porém, nosso estudo também reforça a possibilidade de reações cruzadas entre alérgenos relacionados, por exemplo, ácaros de poeira doméstica e ácaros de armazenamento. Diante disso, é necessário aliar as manifestações clínicas com a história do paciente e determinar se o cão está realmente exposto ao(s) alérgeno(s) ao qual reagiu.

## REFERÊNCIAS

ANSOTEGUI, I. J.; MELIOLI, G.; CANONICA, G. W.; CARABALLO, L.; VILLA, E.; EBISAWA, M *et al.* IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal*, v.13, 2020. doi:10.1016/j.waojou.2019.100080.

ANTURANIEMI, J.; ZALDÍVAR-LÓPEZ, S.; SAVELKOUL, H. F. J.; ELO, K.; HIELMBJÖRKMAN, A. The Effect of Atopic Dermatitis and Diet on the Skin Transcriptome in Staffordshire Bull Terriers. *Frontiers in Veterinary Science*, v.7, 2020. doi: 10.3389/fvets.2020.552251.

ARCIQUE, M. A.; BAJWA, J. Atopic dermatitis in humans and dogs. *Canadian Veterinary Journal*, v. 61, p. 82-84, 2020.

ARLIAN, L. G.; SCHUMANN, R. J.; MORGAN, M. S.; GLASS, R. L. Serum immunoglobulin E against storage mite allergens in dogs with atopic dermatitis. *American journal of veterinary research*, 2003 doi: 10.2460/ajvr.2003.64.32.

ARRUDA, L. K.; MORENO, A. S.; FERREIRA, F. Diagnóstico molecular de alergia: pronto para a prática clínica? *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 1, n. 4, p. 187-194, 2013.

ASSUNÇÃO, A. L.; FARIAS, M. R.; BARBOSA, C. R.; MACHADO, L. H. Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and household dust of dogs with atopic dermatitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.37, n.1, p.41-46, 2017. doi: 0.1590/S0100736X2017000100007.

BARBOSA, L. C. *Análise imunohistoquímica da proteína interleucina 31 e filagrina e sua relação com o grau de prurido e restauração da barreira cutânea, antes e após uso de solução repositora de lipídios na epiderme de cães com dermatite atópica.* 2015. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015.

BARETTA, L. T.; CUNHA, V. E. S.; FIGUEIREDO, C. D.; GERALDI, D. G. A randomised, double-blinded trial to assess the effect of oclacitinib and prednisolone on intradermal allergen and prick tests in dog with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, p.1-9, 2023. doi: 0.1111/vde.13209.

BARONI, A.; BUOMMINO, E.; DE GREGORIO, V.; RUOCCO, E.; RUOCCO, V.; WOLF, R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology*, v. 30, n. 3, p. 257-262, 2012. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.09.008.

BASTOS, R. C. S. *Comparação entre os puntores de ponta múltipla UnitestPC e de ponta dupla Duotip-TestII em testes de puntura cutânea em cães com dermatite atópica.* 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Pontifícia Universidade Católica, Curitiba Paraná, 2023.

BERGMANN, S.; VON BUENAU, B.; VIDAL, Y. S. S.; HAFTEK, M.;

WLADYKOWSKI, E.; HOUDEK, P.; LEZIUS, S.; DUPLAN, H.; BASLER, K.; DAHNHARDT-PFEIFFER, S. *et al.* Claudin-1 decrease impacts epidermal barrier function in atopic dermatitis lesions dosedependently. *Scientific Reports*, v. 10, 2020.

BIEBER, T.; LAUENER, R.; SCHMID-GRENDELMEIER, P.; TRAILDL-HOFFMANN, C.; AKDIS, C. A. Cellular and molecular immunologic mechanisms in patients with atopic dermatitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 138, n. 2, 2016.

BIZIKOVA, P.; OLIVRY, T. A randomized, double-blinded crossover trial testing the benefit of two hydrolysed poultry-based commercial diets for dogs with spontaneous pruritic chicken allergy. *Veterinary Dermatology*, v. 27, n. 4, p. 289–e70, 2016. doi:10.1111/vde.12302.

BIZIKOVA, P.; PUCHEU-HASTON, C. M.; EISENSCHENK, M. N. C.; MARSELLA, R.; NUTTALL, T.; SANTORO, D. Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 26, p. 95-26, 2015.

BOUSQUET, J.; HEINZERLING, L.; BACHERT, C.; PAPADOPOULOS, N. G.; BOUSQUET, P. J.; BURNEY, P. G.; CANONICA, G. W.; CARLSEN, K.H.; COX, L.; HAAHTELA, T.; LODRUP CARLSEN, K.V; PRICE, D.; SAMOLINSKI, B.; SIMONS, F. E. R.; WICKMAN, M.; ANNESI-MAESANO, I.; BAENA-CAGNANI, C. E.; BERGMANN, K. C.; BINDSLEV-JENSEN, C. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *European Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, v.67, p.18-24, 2012.

BOUSSAULT, P.; LEAUTÉ-LABRÈZE, C.; SAUBUSSE, E.; MAURICE-TISON, S.; PERROMAT, M.; ROUL, S.; SARRAT, A.; TAÏEB, A.; BORALEVI, F. Oat sensitization in children with atopic dermatitis: Prevalence, risks, and associated factors. *Allergy*, v.62, p.1251-1256, 2007.

BRADLEY, C. W.; MORRIS, D. O.; RANKIN, S. C.; CAIN, C. L.; MISIC, A. M.; HOUSER, T.; GRICE, E. A *et al.* Longitudinal evaluation of the skin microbiome and association with microenvironment and treatment in canine atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 136, n. 6, p. 1182-1190, 2016. doi: 10.1016/j.jid.2016.01.023.

BRANDTZAEG, P. Food allergy: separating the science from the mythology. *Reviews in Gastroenterology and Hepatology*, v.7, p.380-400, 2010. doi:10.1038/nrgastro.2010.80.

BRAZIS, P.; SERRA, M.; SELLES, A.; DETHIOUX, F.; BIOURGE, V.; Puigdemont, A. Evaluation of storage mite contamination of commercial dry dog food. *Veterinary Dermatology*, v.19, p. 209-214, 2008.

BROUGH, H. A.; NADEAU, K. C.; SINDHER, S. B. Epicutaneous sensitization in the development of food allergy: What is the evidence and how can this be prevented? *Allergy*, v.75, p. 2185-2205, 2020. <https://doi.org/10.1111/all.14304>.

BRUNNER, P. M.; GUTTMAN-YASSKY, E.; LEUNG, D. Y. M. The immunology of atopic dermatitis and its reversibility with broad-spectrum and targeted therapies.

*American Academy of Allergy, Asthma & Immunology*, 2017.

BRUNNER, P; GUTTMAN-YASSKY, E. Racial differences in atopic dermatitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, v. 122, p. 449-455, 2019.

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*, volume 6, 2019. doi: 10.3389/fvets.2019.00448.

CARNETT, M. J. H.; PLANT, J. D. Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Veterinary Dermatology*, v. 28, p. 430, 2018. doi: 10.1111/vde.12514.

CERDEIRO, A. P. S.; FARIAS, M. R.; CUNHA, V. E. S.; SECCHI, G. V.; PACHECO, B. D.; ALCALÁ, C. O. R.; GANHO, R. G. R. Grass pollen sensitization in dogs in Paraná, Brazil: comparison between percutaneous and intradermal testing. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* v.73, n.4, p.821-826, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-12111>.

CHERMPRAPAI, S.; BROERE, F.; GOORIS, G.; SCHLOTTER, Y. M.; RUTTEN, V. P. M. G.; BOUWSTRA, J. A. Altered lipid properties of the stratum corneum in Canine Atopic Dermatitis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1860, n. 2, p. 526533, 2018. doi: 10.1016/j.bbamem.2017.11.013.

CLARKE, D.; BURKE, D.; GORMALLY, M.; BYRNE, M. Dynamics of house dust mite transfer in modern clothing fabrics. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, v. 114, n. 4, p. 335-340, 2015. doi:10.1016/j.anai.2014.12.021.

CRAIG, J. M. Food intolerance in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, v. 60, p. 77–85, 2019. doi: 10.1111/jsap.12959.

CUNHA, V. E. S.; SILVA, M. H.; FACCINI, J. L. H. Serological identification of house dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, p. 917–921, 2012.

CZARNECKA-OPERACZ, M.; JENEROWICZ, D.; SILNY, W. Oral allergy syndrome in patients with airborne pollen allergy treated with specific immunotherapy. *Acta Dermatovenerol Croat*, v. 16, p. 19-24, 2008.

DEBINSKA, A.; SOZANSKA, B. Epicutaneous Sensitization and Food Allergy: Preventive Strategies Targeting Skin Barrier Repair—Facts and Challenges. *Nutrients*, v. 15, p. 1070, 2023. doi: 10.3390/nu15051070.

DEBOER, D. The future of immunotherapy for canine atopic dermatitis: a review. *Review presented at the 8th World Congress of Veterinary Dermatology*, 2016. doi: 10.1111/vde.12416.

DHINGRA, N.; GUTTMAN-YASSKY, E. A possible role for IL-17A in establishing

Th2 inflammation in murine models of atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 134, n. 8, p. 2071-2074, 2014. doi:10.1038/jid.2014.141.

DRISLANE, C.; IRVINE, A. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, v. 124, p. 36-43, 2020.

ECKHART, L.; LIPPENS, S.; TSCHACHLER, E.; DECLERCQ, W. Cell death by cornification. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, v. 1833, n. 12, p. 3471-3480, 2013. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.010.

EYERICH, S.; EYERICH, K.; TRIDL-HOFFMANN, C.; BIEDERMANN, T. Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network. *Trends in Immunology*, v. 39, n. 4, p. 315-327, 2018. doi: 10.1016/j.it.2018.02.004.

FARIAS, M.; BARBOSA, M.; ARRUDA, L.; FILHO, N. Evaluation of the concentration of the coat of dogs aeroallergens (*Canis lupus familiaris*) and the dust from families of children with asthma and or allergic rhinitis. *World Allergy Organization Journal*, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 171, 2015.

FARMAKI, R.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; LEONTIDES, L.; PAPAZHARIADOU, M. G.; GIOULEKAS, D.; KOUTINAS, A. F. Dust mite species in the households of mite-sensitive dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2012.

FAVROT, C.; OLIVRY, T.; IWASAKI, T. An international seroprevalence survey of the IgE sensitisation to the *Dermatophagoides farinae* house dust mite and two of its major allergens (Der f 2, Zen 1) in atopic dogs. *Veterinary Dermatology*, v. 32, 2021.

FAVROT, C.; STEFFAN, J.; SEEWALD, W.; PICCO, F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary dermatology*, v.21, n.1, p. 23–31, 2010.

FAVROT, F.; BIZIKOVA, P.; FISCHER, N.; ROSTAHER, A.; OLIVRY, T. The usefulness of short-course prednisolone during the initial phase of an elimination diet trial in dogs with food-induced atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 2019. doi: 10.1111/vde.12793.

FISCHER, N. M.; MÜLLER, R. S. Allergen Specific Immunotherapy in Canine Atopic Dermatitis: an Update. *Current Dermatology Reports*, v.1, p. 1-7, 2019. doi:10.1007/s13671-019-00276-z.

FISCHER, N. M; ROSTAHER, A; FAVROT, C. A comparative study of subcutaneous, intralymphatic and sublingual immunotherapy for the long-term control of dogs with nonseasonal atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, p. 365, e. 96, n. 5, 2020. doi: 10.1111/vde.12860.

FLEISCHMAN, D. A; MORRIS, D. O. Pilot study to determine the concordance between skin prick and intradermal test (IDT) reactivity to environmental allergens in atopic dogs using IDT as the gold standard. *Veterinary Dermatology*, 2023. doi: 10.1111/vde.13187.

FLOHR, C.; YEO, L. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis revisited. *Current Problems in Dermatology*, p. 1-34, 2011. doi: 10.1159/000323290.

FUJIMURA, M.; OHMORI, K.; MASUDA, K. *et al.* Oral allergy syndrome induced by tomato in a dog with Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollinosis. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 64, p. 1069-1070, 2002.

FUKUTOMI, Y.; TANIGUCHI, M.; NAKAMURA, H.; AKIYAMA, K. Epidemiological link between wheat allergies and exposure to hydrolyzed wheat protein in facial soap. *Allergy*, v.69, p.1405-1411, 2014.

GENTRY, C. M.; MESSINGER, L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Veterinary Dermatology*, v.27, p.370-e92, 2016.

GILL, C.; MCEWAN, N.; MCGARRY, J.; TIM, N. House dust and storage mite contamination of dry dog food stored in open bags and sealed boxes in 10 domestic households. *Veterinary Dermatology*, v.22, p.162–172, 2011. doi: 10.1111/j.1365-3164.2010.00931.x.

GITTLER, J. K.; KRUEGER, J. G.; GUTTMAN-YASSKY, E. Atopic dermatitis results in intrinsic barrier and immune abnormalities: implications for contact dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 131, p. 300-313, 2013.

GITTLER, J. K.; SHEMER, A.; SUÁREZ-FARIÑAS, M.; FUENTES-DUCULAN, J.; GULEWICZ, K. J.; WANG, C. Q. F. *et al.* GUTTMAN-YASSKY, E. Progressive activation of TH2/TH22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 130, n. 6, p. 1344–1354, 2012. doi:10.1016/j.jaci.2012.07.012.

GOICOA, A.; ESPINO, L.; RODRIGUEZ, I.; PUIGDEMONT, A.; BRAZIS, P.; REJAS, J. Importance of house dust and storage mites in canine atopic dermatitis in the geographic region of Galicia, Spain. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2008. doi: 10.1556/AVet.56.2008.2.3.

HALLIWELL, R. E. Atopic disease in the dog. *Veterinary Record*, V. 21, 1971. doi: 10.1136/vr.89.8.209.

HAN, H.; ROAN, F.; JOHNSTON, L. K.; SMITH, D. E.; BRYCE, P. J.; ZIEGLER, S. F. IL-33 promotes gastrointestinal allergy in a TSLP-independent manner. *Society for Mucosal Immunology*, v.11, 2018. doi:10.1038/mi.2017.61.

HARVEY, N. D; SHAW, S. C; CRAIGON, P. J; BLOTT, S. C; ENGLAND, G. C.; SHAW, S. C. Environmental risk factors for canine atopic dermatitis: A retrospective large-scale study in Labrador and golden retrievers. *Veterinary Dermatology*, v.30, 2019.

HENSEL, P.; SANTORO, D.; FAVROT, C.; HILL, P.; GRIFFIN, C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, v. 11, p. 196, 2015. doi: 10.1186/s12917-015-0515-5.

HOLGATE, S.; POLOSA, R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nature Reviews Immunology*, v.8, p.218–230, 2008. doi: 10.1038/nri2262.

JAEGER, K.; LINEK, M.; POWER, H. T.; BETTENAY, S. V.; ZABEL, S.; ROSYCHUK, R. A. W.; MUELLER, R. S. Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*, v.21, n.1, p.119–123, 2010. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00845.x.

JOHANSEN, C.; MARIANI, C.; MUELLER, R. S. Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Veterinary Dermatology*, 2017. doi: 10.1111/vde.12455.

KENNIS, R. A. Food Allergies: Update of Pathogenesis, Diagnoses, and Management. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, v. 36, p. 175-184, 2006. doi:10.1016/j.cvsm.2005.09.012.

KIM, H. J.; CRONIN, M.; AHRENS, K.; PAPASTAVROS, V.; SANTORO, D.; MARSELLA, R. A comparative study of epidermal tight junction proteins in a dog model of atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 27, n. 1, p. 40-e11, 2015. doi: 10.1111/vde.12276.

KIM, H. J.; JEONG, S. K.; HONG, S. J.; AHRENS, K.; MARSELLA, R. Effects of PAR2 antagonist on inflammatory signals and tight junction expression in protease activated canine primary epithelial keratinocytes. *Experimental Dermatology*, v.26, n.1, 2016. doi:10.1111/exd.13121.

KLUKOWSKA-RÖTZLER, J.; CHERVET, L.; MÜLLER, E. J.; ROOSJE, P.; MARTI, E.; JANDA, J. Expression of thymic stromal lymphopoietin in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.1, p.54-e14, 2013. doi: 10.1111/j.13653164.2012.01096.x.

KUBO, A.; NAGAO, K.; AMAGAI, M. Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *The Journal of Clinical Investigation*, v.122, n.2, 2012. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI57416>.

LABIB, A.; YOSIPOVITCH, G.; OLIVRY, T. What can we learn from treating atopic itch in dogs? *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.150, n.2, p. 284-6, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.05.007>.

LACK, G.; FOX, D.; NORTHSTONE, K.; GOLDING, J.; Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. Factors associated with the development of peanut allergy in childhood. *New England Journal of Medicine*, v.348, p.977-985, 2003.

LEUNG, D. Y. M. New Insights into Atopic Dermatitis: Role of Skin Barrier and Immune Dysregulation. *Allergology International*, v.62, p.151-161, 2013. doi: 10.2332/allergolint.13-RAI-0564.

LUDWING, L.; TSUKUI, T.; KAGEYAMA, M.; FARIAS, M. Evaluation of sensitization to the crude extract of *Dermatophagoides farinae* and its derived allergens,

Der f 2 and Zen 1, in dogs with atopic dermatitis in Southern Brazil. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2021. doi: 10.1016/j.vetimm.2021.110199. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33662650.

LUGER, T.; AMAGAI, M.; DRENO, B.; DAGNELIE, M. A.; LIAO, W.; KABASHIMA, K.; SCHIKOWSKI, T.; PROKSCH, E.; ELIAS, P. M.; SIMON, M.; SIMPSON, E.; GRINICH, E.; SCHMUTH, M. Atopic dermatitis: Role of the skin barrier, environment, microbiome, and therapeutic agents. *Journal of Dermatological Science*, v. 102, p. 142-157, 2021. doi: 10.1016/j.jdermsci.2021.04.007.

LUND, E. Epidemiologia da dermatite atópica canina. *Veterinary Focus*, v.21, n.3, p. 32–33, 2011.

MAKOWSKA, K.; NOWACZYK, J.; Blicharz, L.; WAŚKIEL-BURNAT, A.; CZUWARA, J.; OLSZEWSKA, M.; RUDNICKA, L. Immunopathogenesis of Atopic Dermatitis: Focus on Interleukins as Disease Drivers and Therapeutic Targets for Novel Treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 1, p. 781, 2023. doi:10.3390/ijms24010781.

MAKOWSKA, K.; NOWACZYK, J.; Blicharz, L.; WAŚKIEL-BURNAT, A.; CZUWARA, J.; OLSZEWSKA, M.; RUDNICKA, L. Immunopathogenesis of Atopic Dermatitis: Focus on Interleukins as Disease Drivers and Therapeutic Targets for Novel Treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 2, 2023 doi: 10.3390/ijms24010781. PMID: 36614224; PMCID: PMC9820829.

MANSOURI, M.; RAFIEE, E.; DAROUGAR, S.; MESDAGHI, M.; CHAVOSHZADEH, Z. Is the Atopy Patch Test Reliable in the Evaluation of Food Allergy-Related Atopic Dermatitis? *International Archives of Allergy and Immunology*, 2017. doi:10.1159/000485126.

MARSELLA, R. Advances in our understanding of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 32, n. 6, p. 547-e151, 2021. <https://doi.org/10.1111/vde.12965>.

MARSELLA, R.; SOUSA, C. A.; GONZALES, A. J.; FADOK, V. A. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 241, n.2, p.194–207, 2012. doi:10.2460/javma.241.2.194.

MARSELLA, R.; GIROLOMINI, G. Canine models of atopic dermatitis: a useful tool with untapped potential. *Journal of Investigative Dermatology*, v.129, p.2351-7, 2009. doi: 10.1038/jid.2009.98. PMID: 19516261.

MARSELLA, R.; NICKLIN, C.; LOPEZ, J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology*, v. 17, p. 306–31, 2006.

MARSELLA, R.; SARIDOMICHELAKIS, M. N. Environmental and oral challenge with storage mites in beagles experimentally sensitized to *Dermatophagoides farinae*. *Veterinary Dermatology*, v. 21, p. 105-111, 2010.

MARTÍNEZ, J.; ERASO, E.; PALACIOS, R.; GUI SANTES, J. A. Cross-reactions between *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae) related to the different growth phases of cultures. *Journal of Medical Entomology*, 2000. doi: 10.1603/0022-2585-37.1.35.

MEDEIROS, M.; FIGUEIREDO, J. P.; ALMEIDA, M. C.; ATTA A. M.; TAKETOMI, E. A.; SILVA, D. A.; TERRA, S. A.; AMORIM, W. W.; PINHO, R. S.; ARAUJO, M. I.; CARVALHO, E. M. Association between mite allergen (Der p 1, Der f 1, Blo t 5) levels and microscopic identification of mites or skin prick test results in asthmatic subjects. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2002. doi: 10.1159/000066776.

MUELLER, R. S. Update on Allergen Immunotherapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2018. doi:10.1016/j.cvsm.2018.08.001.

MUELLER, R. S.; BETTENAY, S. V.; TIDEMAN, L. Aero-allergens in canine atopic dermatitis in southeastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. *Australian Veterinary Journal*, 2000. doi: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb11824.x.

MUELLER, R. S.; BETTENAY, S. V.; TIDEMAN, L. Aero-allergens in canine atopic dermatitis in southeastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. *Australian Veterinary Journal*, 2000. doi: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb11824.x. PMID: 10920777.

MUELLER, R. S.; JANDA, J.; JENSEN-JAROLIM, E.; RHYNER, C.; MARTI, E. Allergens in veterinary medicine. *European Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, v. 71, p. 27-35, 2016.

MUELLER, R. S.; OLIVRY, T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (6): prevalence of noncutaneous manifestations of adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Veterinary Research*, v. 14, p. 341, 2018. doi: 10.1186/s12917-0181656-0.

MUELLER, R. S.; OLIVRY, T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (4): can we diagnose adverse food reactions in dogs and cats with in vivo or in vitro tests? *BMC Veterinary Research*, v. 13, n. 1, 2017. doi:10.1186/s12917-0171142.

NELSON, H. S; LOPEZ, P; CURRAN-EVERETT, D. Pain perception and performance of three devices for single-site allergen skin testing. *Allergy Asthma Proc*, v. 35, n. 1, 2014.

NOGRALES, K. E.; ZABA, L. C.; SHEMER, A.; FUENTES-DUCULAN, J.; CARDINALE, I.; KIKUCHI, T.; GUTTMAN-YASSKY, E. IL-22-producing “T22” T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing TH17 T cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 123, n. 6, p. 1244–1252, 2009. doi:10.1016/j.jaci.2009.03.041.

NOTI, M.; KIM, B. S.; SIRACUSA, M. C.; RAK, G. D.; KUBO, M.; MOGHADDAM, A. E *et al.* Exposure to food allergens through inflamed skin promotes intestinal food allergy through the thymic stromal lymphopoietin–basophil axis. *Journal of Allergy and*

*Clinical Immunology*, v. 133, p. 1390-1399, 2014. doi:10.1016/j.jaci.2014.01.021.

NUTTALL, T. J.; HILL, P. B.; BENSIGNOR, E.; WILLEMSE, T. House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 17, p. 223-235, 2006.

NUTTALL, T. J.; MARSELLA, R.; ROSENBAUM, M. R.; GONZALES, A. J.; FADOK, V. A. Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *Jornal da Associação Médica Veterinária Americana*, v. 254, n. 11, p. 1291-1300, 2019. doi: 10.2460/javma.254.11.1291.

OLDER, C. E.; RODRIGUES HOFFMANN, A.; HOOVER, K.; BANOVIC F. Characterization of Cutaneous Bacterial Microbiota from Superficial Pyoderma Forms. *Atopic Dogs Pathogens*. v. 6, p. 638, 2020. doi: 10.3390/pathogens9080638.

OLIVRY, T.; BIZIKOVA, P. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology*, v. 21, n. 1, p. 32-41, 2010.

OLIVRY, T.; MUELLER, R. S. Critically Appraised Topic on Adverse Food Reactions of Companion Animals (8): Storage Mites in Commercial Pet foods. *BMC Veterinary Research*, v. 15, n. 1, 2019. doi:10.1186/s12917-019-2102-7.

OLIVRY, T.; SARIDOMICHELAKIS, M. Evidence-based guidelines for antiallergic drug withdrawal times before allergen-specific intradermal and IgE serological tests in dogs. *Veterinary Dermatology*, 2013. doi: 10.1111/vde.12016.

OLIVRY, T.; HILL, P. B. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunol Immunopathol*, 2001. doi: 10.1016/s0165-2427(01)00311-7. PMID: 11553383.

PALLER, A. S.; SPERGEL, J. M.; MINA-OSORIO, P.; IRVINE, A. D. The atopic march and atopic multimorbidity: Many trajectories, many pathways. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 143, n. 1, 2018. doi: 10.1016/j.jaci.2018.11.006.

PANTHER, D.; JACOB, S. The Importance of Acidification in Atopic Eczema: An Underexplored Avenue for Treatment. *Journal of Clinical Medicine*, v. 4, n. 5, p. 970-978, 2015. doi: 10.3390/jcm4050970.

PICCO, F.; ZINI, E.; NETT, C.; NAEGELI, C.; BIGLER, C.; RÜFENACHT, S.; ROOSJE, P.; RICKLIN GUTZWILLER, P.M.; WILHELM, S.; PFISTER, J.; MENG, E.; FAVROT, C. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Journal compilation ESVD and ACVD*, pages 150-155, 2008. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00669.x.

PIEREZAN, F.; OLIVRY, T.; PAPS, J. S.; LAWHON, S. D.; WU, J.; STEINER, J. M.; RODRIGUES HOFFMANN, A, *et al.* The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 27, n. 5, p. 332, 2016. doi:

10.1111/vde.12366.

PLANT, J. D.; NERADILEK, M. B. Effectiveness of regionally-specific immunotherapy for the management of canine atopic dermatitis. *BMC Veterinary Research*, v. 13, p. 4, 2017. DOI: 10.1186/s12917-016-0917-z.

POSSEBOM, J.; CRUZ, A.; GMYTERCO, C.V.; FARIAS, M.R. Combined prick and patch tests for diagnosis of food hypersensitivity in dogs with chronic pruritus. *Veterinary Dermatology*, 2022. doi: 10.1111/vde.13055.

POSSEBOM, J.; CUNHA, V.; LIMA, M.; FARIAS, M. Serological identification of low molecular weight allergens from domestic mites associated with canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 27, p. 49-50, 2016.

PUNCHEU-HASTON, C. M.; BIZIKOVA, P.; EISENSCHENK, M. N. C.; SANTOSO, D.; NUTTALL, T.; MARSELLA, R. Review: The role of antibodies, autoantigens and food allergens in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 2015. doi:10.1111/vde.12201.

ROCHA, M. I. L. *Skin prick tests - preliminary evaluation of this technique for the diagnosis of canine atopic dermatitis sensitization*. Dissertation (Master's in Veterinary Medicine) - Technical University of Lisboa, POR, 2012.

ROOSTERMAN, D.; GOERGE, T.; SCHNEIDER, S. W.; BUNNETT, N. W.; STEINHOFF, M. Neuronal Control of Skin Function: The Skin as a Neuroimmunoendocrine Organ. *Physiological Reviews*, v. 86, n. 4, p. 1309-1379, 2006. doi: 10.1152/physrev.00026.2005.

ROSÁRIO FILHO, N. A. Alergia ao pólen de gramíneas: “back to the future”. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 35, p. 82-84, 2012.

ROSSI, M. A; MESSINGER, L; OLIVRY, T; HOONTRAKOON, R. A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Veterinary Dermatology*, v. 24, n.5, 2013 doi:10.1111/vde.12054 10.1111/vde.12054.

RUËFF, K.C.; BERGMANN, K.; BROCKOW, K.; FUCHS, T.; GRÜBL, A.; JUNG, K.; KLIMEK, L.; MÜSKEN, H.; PFAAR, O.; PRZYBILLA, B.; SITTER, H.; WEHRMANN, W. RODUIT, C.; FREI, R.; DEPNER, M.; KARVONEN, A. M.; RENZ, H.; RAUNFAHRLÄNDER, C.; SCHMAUSSER-HECHFELLNER, E.; PEKKANEN, J.; RIEDLER, J.; DALPHIN, J.-C.; *et al.* Phenotypes of Atopic Dermatitis Depending on the Timing of Onset and Progression in Childhood. *JAMA Pediatrics*, v. 171, p. 655-662, 2017.

SANTORO, A.; MARSELLA, R.; PUCHEU-HASTON, C. M.; EISENSCHENK, M. N. C.; NUTTALL, T.; BIZIKOVA, P. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction. *Veterinary Dermatology*, 2015. doi: 10.1111/vde.12197.

SANTORO, D.; HOFFMANN, A.R. Canine and Human Atopic Dermatitis: Two Faces

of the Same Host-Microbe Interaction. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 136, 2016. doi:10.1016/j.jid.2016.03.015

SARIDOMICHELAKIS M.N.; MARSELLA, R.; LEE, K.W.; ESCH, R.E.; FARMAKI, R.; KOUTINAS, A.F. Assessment of cross-reactivity among five species of house dust and storage mites. *Veterinary Dermatology*, 2008.

SARIDOMICHELAKIS, M.N.; FARMAKI, R.; LEONTIDES, L.S.; KOUTINAS, A.F. Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Veterinary Dermatology*, v.18, p.341-347, 2017.

SCOTT, V; GIJSBERS, K. P. Perception in competitive swimmers. *British Medical Journal*, 1981. doi:10.1136/bmj.283.6284.91.

SEHRA, S.; KRISHNAMURTHY, P.; KOH, B.; GUTHRIE, C.; AVRAM, D.; D'ORAZI, G.; GUTTMAN-YASSKY, E *et al.* Increased TH2 activity and diminished skin barrier function cooperate in allergic skin inflammation. *European Journal of Immunology*, v. 46, p. 26092613, 2016.

SHAW, S. C.; WOOD, J. L.; FREEMAN, J.; CHURCH, D. B.; OLLIER, W. E.; RUSBRIDGE, C.; *et al.* Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *American Journal of Veterinary Research*, v. 65, p. 1014-1020, 2004.

SOARES, F. A. A.; SEGUNDO, G. R. S.; ALVES, R.; YNUE, L. H.; RESENDE, R. O.; SOPELETE, M.C.; SILVA, D.A.I.; SUN-SANG, J.; TAKETOME, E. Perfil de sensibilização a alérgenos domiciliares em pacientes ambulatoriais. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.53, p.25-28, 2007. doi:10.1590/s0104-42302007000100014 .

SPERGEL, J. M.; BROW-WHITEHORN, T. The Use of Patch Testing in the Diagnosis of Food Allergy. *Current Allergy and Asthma Reports*, v. 5, p. 86-90, 2005.

SUÁREZ-FARIÑAS, M.; TINTLE, S. J.; SHEMER, A.; CHIRICOZZI, A.; NOGRALES, K.; CARDINALE, I.; GUTTMAN-YASSKY, E. Nonlesional atopic dermatitis skin is characterized by broad terminal differentiation defects and variable immune abnormalities. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 127, n. 4, p. 954–964, ed. 4, 2011. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1124.

TAPP, T.; GRIFFIN, C.; ROSENKRANTZ, W.; MUSE, R.; BOORD, M. Comparison of a commercial limited-antigen diet versus home-prepared diets in the diagnosis of canine adverse food reaction. *Veterinary Therapeutics*, v. 3, n. 3, p. 244-251, 2002.

TOKURA, Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Science*, v. 58, n. 1, p. 1-7, 2010. doi:10.1016/j.jdermsci.2010.02.00.

TVERSKY, J. R.; CHELLADURAI, Y.; MCGREADY, J.; HAMILTON, R. G. Performance and Pain Tolerability of Current Diagnostic Allergy Skin Prick Test Devices. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.3, n.6, p. 93-888, 2015.

WEIDINGER, S.; BECK, L. A.; BIEBER, T.; KABASHIMA, K.; IRVINE, A. D. Atopic dermatitis. *Nature Reviews Disease Primers*, v.21, n.4, p.1, 2018.

WERFEL, T.; ALLAM, J. P.; BIEDERMANN, T.; EYERICH, K.; GILLES, K.; GUTTMAN YASSKY, E.; HOETZENECKER, W.; KNOL, E.; SIMON, H. U.; WOLLENBERG, A.; YANG, G.; SEOK, J. K.; KANG, H. C.; CHO, Y. Y.; LEE, H. S.; LEE, Y. Skin Barrier Abnormalities and Immune Dysfunction in Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, p. 2867, 2020. doi: 10.3390/ijms21082867.

WILHEM, S.; KOVALIK, M.; FAVROT, C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 22, p. 143-149, 2010.

YANG, L.; FU, J.; ZHOU, Y. Research Progress in Atopic March. *Frontiers in Immunology*, v. 11, 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.01907.

ZAJAC, M.; SZCZEPANIK, M.P.; WILKOLEK, P.M.; ADAMEK, L.R.; POMORSKI, Z.K.; H.; SITKOWSKI, W.; GOLYNSKI, M. Assesment of correlation between Canine Atopic Dermatitis Extent na Severety Index (CADESI-03) and selected biophysical skin measures (skin hydration, pH, and erythema intensity) in dogs with naturally occurring atopic dermatitis. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 79, n. 2, p. 136-140, 2015.