

UNIVERSIDADE METROPOLITANA DE SANTOS

CAIO CATALANI DE BARROS

**PERFIL SOROLÓGICO DE CÃES SENSIBILIZADOS A ALÉRGENOS  
AMBIENTAIS EM UM AMBIENTE LITORÂNEO**

SANTOS

2019

**CAIO CATALANI DE BARROS**

**Perfil sorológico de cães sensibilizados a alérgenos  
ambientais em um ambiente litorâneo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Áreas de concentração:**  
Medicina Veterinária

**Orientador:**  
Profa. Dra. Patrícia Pereira Costa Chamas

Santos  
2019

B277p Barros, Caio Catalani de

Perfil sorológico de cães sensibilizados a alérgenos ambientais em um ambiente litorâneo. / Caio Catalani de Barros. – Santos, 2019.  
74 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Patricia Pereira Costa Chamas  
Dissertação (Mestrado Acadêmico), Universidade Metropolitana de Santos, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo, 2019.

1. Dermatite atópica. 2. IgE. 3. Hipersensibilidade. 4. Ácaro.  
5. Pólen. I. Chamas, Patricia Pereira Costa. II. Título.

CDD 636.089

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BARROS, Caio Catalani de

Título: Perfil sorológico de cães sensibilizados a alérgenos ambientais em um ambiente litorâneo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu filho Caio. Minha inspiração e motivação.

Aos meus pais, por todo o amor e dedicação. Que eu seja um motivo de orgulho.

A todos os profissionais veterinários que têm colaborado para o crescimento da alergologia como área dentro da Medicina Veterinária, superando o papel de meros capítulos recônditos em outras obras para se tornar uma especialidade em si.

À cadela “Mitzie”, que em 1941 permitiu o começo de tudo...

## **AGRADECIMENTO**

À minha esposa Sandra, minha maior incentivadora. Sem ela, o Mestrado seria apenas uma linha na lista de sonhos a realizar.

À Professora Doutora Patrícia Chamas, pela sua orientação, sugestões e celeridade no momento mais crítico deste trabalho, no fundo, pelo total apoio e disponibilidade.

Ao Professor Doutor Milton Ricardo Azedo, pela disponibilidade e boa vontade demonstradas, assim como, pelo estímulo e auxílio nas épocas mais difíceis.

À Rosangela Jorge Chad pela compreensão e suporte incondicionais, sempre.

*“...[A importância da alergologia] na prática veterinária cotidiana é inquestionável: na verdade, é improvável que um dia se passe na vida de um profissional ocupado, independentemente das espécies em questão, sem que alergia esteja envolvida em um ou vários casos.”*

- Richard E. W. Halliwell –

## RESUMO

BARROS, C.C. **Perfil sorológico de cães sensibilizados a alérgenos ambientais em um ambiente litorâneo.** [Serological profile of dogs sensitized to environmental allergens in a coastal environment]. 2019. 74 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019.

**Introdução** - Os testes sorológicos de IgE alérgeno-específica têm sido amplamente utilizados para direcionar o tratamento de doenças atópicas em cães, permitindo a composição de extratos alergênicos para imunoterapia alérgeno-específica (ASIT). Devido à variabilidade geográfica, a seleção das fontes alergênicas testadas pode ser influenciada pelos padrões de sensibilização locais. **Objetivo** - Investigar a prevalência de níveis elevados de IgE sérica para diferentes alérgenos ambientais em cães habitantes de um ambiente litorâneo, residentes na cidade de Santos, litoral sul do Estado de São Paulo. **Material e métodos** - Foram analisadas as ocorrências de sensibilizações de cento e trinta e sete cães clinicamente suspeitos de dermatite atópica (DA) cujos soros apresentaram positividade a no mínimo uma das 24 fontes alergênicas ambientais selecionadas, representadas por extratos alergênicos de ácaros, pólenes e fungos. Foi utilizado um teste sorológico baseado em imunoenensaio enzimático (ELISA) indireto utilizando como sonda um anticorpo oligoclonal anti-IgE canina capaz de detectar a presença de IgE canina específica contra alérgenos presentes na fase sólida. **Resultados** - Os ácaros *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae* e *Acarus siro* foram os principais agentes sensibilizantes. Várias fontes alergênicas, incluindo pólenes de gramíneas, ervas invasoras e árvores, produziram reações positivas, com destaque para a grama *Cynodon dactylon*. Foram verificadas sensibilizações às árvores *Platanus* spp. e *Ligustrum* spp.. Foram verificadas baixas frequências de sensibilizações por fungos na população estudada. **Discussão** – Os ácaros e a *C. dactylon* foram as fontes alergênicas mais importantes. A sensibilização ao *Platanus* spp. pode estar associada a alergia alimentar envolvendo alimentos de origem vegetal, em um cão. A sensibilização ao *Ligustrum* spp. foi uma particularidade deste estudo, no entanto, não foi possível determinar se devido a uma característica fitogeográfica local ou reatividade cruzada com outras fontes. **Conclusão** - O perfil de sensibilização observado, no geral, assemelhou-se ao de algumas regiões do Brasil e do mundo.

Palavras-chave: Dermatite atópica. IgE. Hipersensibilidade. Ácaro. Pólen.

## ABSTRACT

BARROS, C.C. **Serological profile of dogs sensitized to environmental allergens in a coastal environment.** [Perfil sorológico de cães sensibilizados a alérgenos ambientais em um ambiente litorâneo]. 2019. 74 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019.

**Introduction** - Allergen-specific IgE serological tests have been widely used to target the treatment of atopic diseases in dogs, allowing the composition of allergenic extracts for allergen-specific immunotherapy (ASIT). Due to geographical variability, the selection of allergen sources tested may be influenced by local sensitization patterns. **Objective** - To investigate the prevalence of elevated serum IgE levels for different environmental allergens in dogs living in a coastal environment, resident in the city of Santos, southern coast of São Paulo State, Brazil. **Material and methods** - Sensitization occurrences of one hundred and thirty-seven dogs clinically suspected of atopic dermatitis (AD) were analyzed since their sera were positive for at least one of the 24 selected environmental allergenic sources, represented by allergic extracts of mites, pollens and fungi. For this purpose it was used an indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using an anti-canine IgE oligoclonal antibody capable of detecting the presence of specific canine IgE against allergens adsorbed onto solid phase. **Results** - *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae* and *Acarus siro* mites were the main sensitizing agents. Several allergen sources, including grass pollen, weeds and trees, have produced positive reactions, notably *Cynodon dactylon* grass. It was verified sensitizations to *Platanus* spp. and *Ligustrum* spp. trees. Low frequencies of fungal sensitization were observed in the studied population. **Discussion** - Mites and *C. dactylon* were the most important allergenic sources. Sensitization to *Platanus* spp. may be associated with food allergy involving foods of plant origin in a dog. Sensitization of *Ligustrum* spp. was a particularity of this study, however, it was not possible to determine whether due to a local phytogeographic characteristic or cross-reactivity with other sources. **Conclusion** - The sensitization profile observed, in general, resembled that of some regions of Brazil and the world.

Keywords: Atopic dermatitis. IgE. Hypersensitivity. Mite. Pollen.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Relação dos extratos alergênicos testados, agrupados de acordo com suas características taxonômicas. Santos, 2019. ....	40
Quadro 2 – Distribuição das ocorrências, absoluta e relativa, dos 141 cães sensibilizados simultaneamente a, no mínimo, uma fonte alergênica presente em cada um dos grupos indicados nos eixos horizontal e vertical. Santos, 2019. ....	49
Quadro 3 – Ocorrências das sensibilizações simultâneas obtidas entre os pares dos pólenes indicados nos eixos horizontal e vertical e, entre parênteses, os coeficientes de correlação de Pearson (r)* calculados a partir dos resultados das absorvâncias obtidas entre eles. Santos, 2019. ....	49
Gráfico 1 – Frequências relativas das sensibilizações individualizadas por fonte alergênica, agrupadas de acordo com suas características taxonômicas. Santos, 2019. ....	47
Gráfico 2 – Distribuição das frequências dos diferentes padrões de sensibilização observados na população de cães (n=141). Santos, 2019. ....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios de Favrot (2010) para dermatite atópica canina.....	39
Tabela 2 - Distribuição dos cães sensibilizados (positivos a pelo menos uma fonte alergênica) segundo a raça. ....	44
Tabela 3 - Distribuição dos cães em relação ao número de sensibilizações observadas.....	45
Tabela 4 – Distribuição das sensibilizações frente aos grupos e às fontes alergênicas individualizadas.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS	Absorbância
ACD	Ácaros domiciliares
ACE	Ácaros de estocagem
ACP	Ácaros da poeira domiciliar
AMB	Alérgenos ambientais
ASIT	Imunoterapia alérgeno-específica (do inglês: <i>Allergen Specific Immunotherapy</i> )
CCD	Determinantes de carboidratos de reação cruzada (do inglês: <i>Cross-reactive Carbohydrate Determinants</i> )
CRD	Diagnóstico resolvido por componente (do inglês: <i>Component-Resolved Diagnosis</i> )
CS	Cossensibilização
DA	Dermatite atópica
DAC	Dermatite atópica canina
DAIA	Dermatite atópica induzida por alimentos
DAL	Dermatite atópica símile (do inglês: <i>Atopic Dermatitis-like</i> )
DC	Células dendríticas
ELISA	Imunoensaio enzimático (do inglês: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
EXT	Extratos alergênicos
Fc $\epsilon$	Receptor para o fragmento Fc de IgE
Fc $\epsilon$ RI $\alpha$	Receptor para o fragmento Fc de IgE de alta afinidade
IDT	Teste intradérmicos (do inglês: <i>Intradermal [Allergy] Testing</i> )
IgE	Imunoglobulina classe E
IgE-S	Imunoglobulina classe E específica para alérgeno
IgG4	Imunoglobulina classe G subclasse (isotipo) 4
IgM	Imunoglobulina classe M
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13

ILIT	Imunoterapia intra-linfática (do inglês: <i>intralymphatic immunotherapy</i> )
kDa	Quilodalton
MHCII	Complexo de histocompatibilidade principal II
mL	Mililitro
MS	Monossensibilização
PS	Polissensibilização
RAST	Do inglês: <i>Radioallergosorbent Test</i>
RC	Reação ou reatividade cruzada
SAT	Teste sorológico para IgE específica (do inglês: <i>Serum Allergy Test</i> )
SCIT	Imunoterapia alérgeno-específica subcutânea (do inglês: <i>Subcutaneous Immunotherapy</i> )
SLIT	Imunoterapia alérgeno-específica sublingual (do inglês: <i>Sublingual Immunotherapy</i> )
SRD	Sem raça definida
TGF- $\beta$	Fator de transformação do crescimento beta
Th	Célula T auxiliar (do inglês, helper)
Treg	Célula T reguladora
WHWT	White Highland West Terrier

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	38
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
4.1	SELEÇÃO DE CÃES .....	39
<b>4.1.1</b>	<b>Critérios de inclusão e exclusão</b> .....	<b>40</b>
4.2	MATERIAL DE ANÁLISE .....	40
4.3	DETERMINAÇÃO DE IGE ALÉRGENO-ESPECÍFICA CANINA .....	41
4.4	SELEÇÃO DE EXTRATOS ALERGÊNICOS .....	41
4.5	INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS .....	42
4.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	42
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças alérgicas são, frequentemente, observadas na prática veterinária. No entanto, grande parte do trabalho inicial sobre alergologia veterinária foi realizada por médicos que se preocupavam com a caracterização de possíveis modelos animais para o estudo de doenças alérgicas do homem. Entretanto, nas últimas três décadas a veterinária testemunhou avanços significativos. Em sua maioria, como resultados de esforços individuais ou de pequenos grupos dedicados a compreender aspectos intrínsecos das doenças alérgicas nas espécies de interesse, proporcionando melhorias nos campos diagnóstico e terapêutico (HALLIWELL, 2014).

Um destes avanços diz respeito às melhorias nas metodologias empregadas nos ensaios laboratoriais para a identificação de hipersensibilidade mediada por anticorpos IgE alérgeno-específica. Os “testes alérgicos” sorológicos (SAT, do inglês *serum allergen test*), são provas *in vitro* comercialmente disponíveis aos veterinários e amplamente utilizados na avaliação diagnóstica de animais atópicos (DEBOER; HILLIER, 2001a) e assim como os testes de reatividade cutânea *in vivo* são ferramentas úteis na identificação dos alérgenos prováveis de participação na doença alérgica. A identificação dos alérgenos ofensores não é apenas útil para definir medidas de controle ambiental que minimizam o risco de exposição alergênica do paciente mas, principalmente, para permitir a seleção de alérgenos para compor o extrato alergênico a ser utilizado na imunoterapia com alérgenos específicos (ASIT, do inglês *allergen-specific immunotherapy*) (DEBOER; HILLIER, 2001b).

A ASIT tem sido utilizada com sucesso há anos, especialmente no tratamento de doenças atópicas em humanos e de cães com dermatite atópica (DA). Um dos fatores para o sucesso da ASIT é a presença de alérgenos clinicamente relevantes para cada paciente em sua composição (GRIFFIN; HILLIER, 2001). O reconhecimento de tais alérgenos é baseado nas taxas de sensibilização identificadas por testes cutâneos ou sorológicos. Para melhorar a precisão do diagnóstico é necessário integrar o conhecimento básico sobre o desenvolvimento da sensibilização, natureza e diversidade de alérgenos e o risco de exposição às fontes alergênicas para cada espécie animal (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016). É provável que fatores geográficos tenham impacto nos resultados do SAT, já que animais em regiões distintas estão expostos a quantidades variáveis de alérgenos diferentes (BJELLAND et al.,

2014). Portanto, é essencial que as principais fontes alergênicas sejam testadas de acordo com os locais em que o paciente habita (PEREIRA, 2015).

Na Medicina Veterinária, a seleção de extratos alergênicos ainda é baseada em estudos limitados (MUELLER et al., 2016). São poucos os estudos que avaliam, de forma ampla, o perfil de sensibilização alérgica em um contexto geográfico regional.

Este estudo teve como objetivo analisar o perfil de sensibilização alérgica em cães habitantes da região da Baixada Santista, litoral paulista, utilizando um teste sorológico para IgE específica, frente a um painel de fontes alergênicas ambientais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

O termo “alergia” foi apresentado pela primeira vez por Clemens von Pirquet em 1906 indicando uma “reatividade alterada” do organismo. Considerou-a não como uma “doença em si”, mas um “estado” capaz de resultar em uma reação de hipersensibilidade do organismo, se adequadamente desafiado. Trata-se, na verdade, de uma condição de hipersensibilidade imunológica capaz de levar a uma variedade de doenças diferentes por meio de mecanismos fisiopatológicos distintos, permitindo diferentes abordagens no diagnóstico, terapia e na prevenção. A variabilidade dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas alergias pode conduzir a doenças de natureza e gravidade variáveis (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

Tais doenças devem ser diferenciadas das doenças imunológicas autoimunes (por exemplo a doença celíaca) e ou de intolerância não imunomediadas (doenças “pseudoalérgicas” como p.ex. intolerância alimentar) (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

Em alergologia veterinária, de acordo com a nomenclatura revisada proposta por HALLIWELL, 2006, define-se alergia como uma reação de hipersensibilidade iniciada por uma resposta imunológica específica contra um alérgeno e mediada por anticorpos ou células.

Com relação a participação de anticorpos, a descoberta da imunoglobulina E (IgE) teve um impacto significativo no diagnóstico e no manejo das alergias, permitindo a diferenciação entre doenças alérgicas mediadas por IgE e outras reações de hipersensibilidade. Permitiu, assim, o gerenciamento das alergopatias de acordo com seus mecanismos (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

Os mecanismos efetores imunológicos mediados por IgE que causam alergia são semelhantes aos associados à imunidade aos parasitas metazoários. As respostas de IgE induzidas em casos de infecções por helmintos podem ser consideradas uma adaptação dos mamíferos, desenvolvida para fornecer proteção contra estes e artrópodes parasitas. Supõe-se que, na ausência de infecção por helmintos, as proteínas alergênicas possam ser erroneamente direcionadas pelo mesmo braço do sistema imunológico, que originalmente evoluiu para combater a infecção parasitária, resultando em uma resposta alérgica desproporcional (TYAGI et al., 2015)

A multiplicidade das alergias reflete a inter-relação de mecanismos IgE-mediados e IgE-não mediados como resultado de interações complexas e variáveis que incluem fatores humorais e celulares, dentro e fora do sistema imunitário. As doenças alérgicas são, portanto,

heterogêneas e a sua etiologia é multifatorial. Dependem da interação de fatores de suscetibilidade genética, da desregulação imunológica e da exposição ambiental, variando de acordo com via, dose e frequência de exposição, além das características estruturais e natureza biológica dos alérgenos (KANG et al., 2017; RAQUEL, 2015; SALO et al., 2014).

As respostas imunológicas alérgicas são direcionadas contra substâncias presentes no ambiente e consideradas como inofensivas para a maioria da população. Pacientes com alergia tipo I produzem anticorpos IgE contra alguns, mas não contra todas as proteínas ambientais ou dietéticas às quais estão expostos. De fato, a maioria dos alérgenos pertence a um número limitado de famílias de proteínas (VAN REE, 2014).

Os alérgenos são moléculas quase sempre de natureza proteica (mas também polissacárides, glicoproteínas e lipoproteínas), solúveis e relativamente pequenas com peso molecular tipicamente inferior a 60 kDa, para seres humanos. Cães parecem reagir também a moléculas com pesos moleculares mais altos, como no caso de alérgenos de ácaros com pesos superiores a 90 kDa (ARLIAN et al., 2003).

De forma geral, o que define determinado epítopo como um alérgeno é a capacidade de induzir o sistema imunitário à produção de moléculas de IgE específicas. Entretanto, o pré-requisito absoluto é a capacidade de *ligar-se* a anticorpos IgE específicos (MIGUERES et al., 2014; VAN REE, 2014). Isso porque nem toda proteína capaz de ligar-se a IgE específica é também capaz de instruir o sistema imune a *iniciar* a produção destes mesmos anticorpos (atuando como um *sensibilizante primário*), mas ainda assim é capaz de produzir manifestações clínicas (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

Os alérgenos naturais (não recombinantes) podem ser classificados de acordo com sua (i) fonte alergênica (animal, vegetal, microbiano, etc.); (ii) o tecido de origem (fruta, pólen, corpo total de ácaros, venenos de insetos, etc.); (iii) a rota de exposição (inalação, contato, ingestão, penetração, etc.); e (iv) função biológica (“ALLERGOME”, 2019). De acordo com o banco de dados on-line [www.allergome.org](http://www.allergome.org), até o momento deste estudo, foram identificados 58 tecidos, 12 rotas de exposição e 303 funções biológicas distintas catalogadas.

Os alérgenos podem desempenhar diferentes funções biológicas no seu organismo de origem. Dentre elas, destacam-se as proteínas de contração muscular, ligantes de cálcio, inibidoras de tripsina, ligantes de actina, ribonucleases, proteínas transportadores de lipídeos, serino-proteases, proteínas P-R (peroxidases, glucanases e quitinases), albuminas, fosfolipases, caseínas, dentre outras (“ALLERGOME”, 2019).

As fontes alergênicas, como ocorrem na natureza, podem albergar vários epítomos alergênicos diferentes. O conjunto completo de alérgenos presentes em determinada fonte alergênica, denomina-se “alergoma”. O proteoma, *i.e.* o repertório de proteínas de cada fonte alergênica, pode significar alergomas diferentes para cada espécie animal, pois o mecanismo de reconhecimento de epítomos alergênicos pelo sistema imunológico estão relacionados a padrões genéticos, que podem variar entre elas. Assim, estudos para a identificação dos alergomas específicos para animais devem se tornar uma prioridade na alergologia veterinária, a fim de permitir diagnósticos e imunoterapias mais precisos e possivelmente mais eficazes, especialmente contra alérgenos ambientais (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Aplica-se o termo “alérgenos ambientais” (AMB) àqueles em que suas fontes se encontrem no ambiente, em contraposição, por exemplo, aos alérgenos presentes nos alimentos. Considera-se que os AMB utilizem as vias inalatória (justificando a sinonímia com o termo “alérgenos inalantes”, frequentemente utilizado em medicina) e de contato/penetração. No entanto, foi demonstrado por Marsella e Saridomichelakis, 2010, que Beagles atópicos desenvolveram lesões pruriginosas eritematosas, clinicamente compatíveis com a DAC, quando desafiados pela via oral com extrato alergênico do ácaro *Tyrophagus putrescentiae*. Isto sugere que a via oral também deva ser considerada na patogênese da DAC (MARSELLA; SARIDOMICHELAKIS, 2010).

O grupo dos AMB é representado por alérgenos anemófilos (dispersos através do ar) como esporos de fungos e pólenes de plantas, além de produtos animais como constituintes de ácaros, de epitélios, de fâneros, de insetos, dentre outros. Convencionou-se dividi-los em alérgenos *indoor*, quando presentes no interior das construções e residências, representados especialmente pelos ácaros, fungos, epitélios de animais de companhia, de humanos ou de insetos, e em alérgenos *outdoor*, quando presentes no ambiente exterior a estes, representados principalmente pelos pólenes de plantas anemófilas (geralmente com diâmetros entre 15  $\mu\text{m}$  e 60  $\mu\text{m}$ ), tais como árvores, gramíneas e ervas invasoras (BEHRENDT; BECKER, 2001). Na prática, entretanto, nem sempre é possível tal simplificação: a poeira doméstica, por exemplo, inclui material biológico extremamente complexo, podendo ser composta por epitélios humanos e animais, ácaros, fungos, traços de produtos têxteis, sobras de alimentos, bactérias, materiais decompostos e, a depender da região e condições climáticas, pode incluir pólenes de plantas (LOWENSTEIN et al., 1986).

O conhecimento sobre a distribuição dos AMB é baseado em estudos aerobiológicos e nas taxas de sensibilização, identificadas por testes cutâneos ou sorológicos (PLANT et al., 2014). Atualmente, em veterinária, tais provas utilizam “extratos alergênicos” brutos como base para a maioria das avaliações, enquanto apenas alguns estudos fornecem evidências sobre a estrutura molecular utilizando alérgenos recombinantes - chamado “diagnóstico resolvido por componentes” (*component-resolved diagnosis* - CRD), especialmente em estudos de ácaros em cães e de alérgenos de insetos e fungos em cavalos (MUELLER et al., 2016).

Os extratos alergênicos (EXT) são produtos biológicos obtidos de fontes alergênicas naturais sob a forma de preparações farmacêuticas submetidas a processos tecnológicos de extração e purificação, administrados em seres humanos ou em animais com fins de diagnóstico, prevenção ou tratamento de doenças alérgicas (ZAKZUK; KILIMAJER; LOCKEY, 2019).

As respostas individuais aos EXT são muito variáveis: (i) os pacientes frequentemente não são “sensibilizados” a todos os alérgenos presentes em um determinado EXT; (ii) por outro lado, pode haver grande variabilidade entre indivíduos, fazendo com que reajam a alérgenos diferentes presentes no mesmo EXT (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Epítopos presentes nos EXT, demonstrados em mais de 50% da população sensibilizada a determinada fonte alergênica, são considerados alérgenos “maiores”, “principais” ou “*majors*”. Em contrapartida, os epítopos cujas ocorrências não alcancem tal marca são denominados alérgenos “menores”, “secundários” ou “*minors*” (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Baseando-se nisso e sabendo-se que os extratos alergênicos podem conter centenas de determinantes antigênicos e, ainda, que os indivíduos podem estar sensibilizados a cada um deles de maneira diferente, o perfil de sensibilização na população atópica torna-se muito heterogêneo (ZAKZUK; KILIMAJER; LOCKEY, 2019).

O termo “sensibilização”, no campo da alergologia, pode ser encontrado na literatura científica aplicado a dois contextos distintos. Em um contexto mais amplo pode estar associado ao mecanismo de produção inicial de IgE contra determinado alérgeno específico em decorrência da primo-exposição (“*priming*”). Em seguida, resulta na ligação da IgE produzida aos receptores de membrana de mastócitos e basófilos tornando-os sensibilizados, a partir de então. Entretanto, numa conotação diagnóstica e, portanto a que será aplicada para o propósito deste trabalho, os termos “sensibilização” ou “sensibilização alérgica” referem-se a

presença de IgE alérgico específica demonstrável, em determinado momento, por meio de provas de reatividade cutânea ou estudos sorológicos (ZAKZUK; KILIMAJER; LOCKEY, 2019).

Para que ocorra a sensibilização alérgica, é necessária a interação de fatores intrínsecos ao paciente (predisposição genética e desregulação imunológica) com fatores extrínsecos ambientais (DAY, 2014). Desta forma, enquanto os primeiros integram fatores predisponentes à doença alérgica, a exposição alergênica é um fator determinante para que se desenvolvam. Assim, os níveis de concentração de alérgenos e a frequência de exposição ambiental ao longo do tempo constituem fatores de risco para a sensibilização (BROZOSKI et al., 2014; DAY, 2014; SOARES et al., 2007). A exposição alergênica pode estar relacionada (i) a fatores geográficos (por exemplo, ao tratar da distribuição global de determinadas plantas ou da influência do clima sobre a população de determinado ácaro) ou (ii) ao estilo de vida desequilibrado em relação ao tempo em que o indivíduo se mantém em ambientes abertos ou fechados (ou seja, o equilíbrio entre hábitos *outdoor* e *indoor*) (DAY, 2014). Assim, é de se supor que as condições climáticas e os aspectos socioculturais locais possam predispor a sensibilização de animais de companhia por diferentes alérgenos, variando com a região em questão, como evidenciado em estudos médicos que apontaram diferenças de acordo com as condições de temperatura e umidade do ar, tanto do microclima de ambientes fechados como das condições externas (CHAN-YEUNG et al., 2010; KANG et al., 2017; RAQUEL, 2015; SALO et al., 2014; SOARES et al., 2007).

Em síntese, a sensibilização é uma interação complexa do (i) indivíduo exposto - risco herdado de se tornar alérgico -, (ii) o momento da exposição – em idades precoces, o sistema imunológico é mais suscetível à sensibilização, mas também à indução de tolerância -, (iii) a dose - a alta exposição em indivíduos jovens pode induzir tolerância -, (iv) o contexto da exposição - exposições ambientais como poluição, microrganismos, parasitas, dieta, estilo de vida – e (v) propriedades endógenas da proteína determinantes de sua alergenicidade (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

As superfícies de pele e mucosas (das vias aérea e gastrointestinal) são uma grande área de contato para antígenos alergênicos externos. A apresentação do antígeno ou do alérgico ao sistema imune é um dos eventos-chave. É no momento da apresentação antigênica que pode ocorrer uma seleção para o desenvolvimento da resposta imunológica alérgica. As células apresentadoras de antígenos altamente especializadas, em especial as células dendríticas (DCs), agem como sentinelas, sob uma forma imatura, nessas superfícies

de entrada. Ativadas, os DCs migram para os nódulos linfáticos locais, onde perdem sua capacidade fagocítica em detrimento de um incremento na capacidade de apresentar antígenos, e interagem com as células T e B. Portanto, as DCs são capazes de reconhecer os epítopos antigênicos, de processá-los e de apresentá-los às células T *helper* (Th) ao unir-se às moléculas do complexo de histocompatibilidade principal II (MHCII) (TIZARD, 2009).

Na resposta imune alérgica, as células Th *naive* ou “virgens” (Th0) ativadas se diferenciam de maneira importante em células tipo Th2 na presença de IL-4. As células Th2 produzem mais IL-4 e IL-13, que induzem a troca de classes para IgE das células B e o desenvolvimento de plasmócitos produtores de IgE específica para o alérgeno. As IgEs produzidas se unem a um dos seus receptores Fcε de alta afinidade, localizados nas membranas dos basófilos e mastócitos. Em uma reexposição ao alérgeno específico, mastócitos e basófilos sensibilizados liberam seus mediadores pré-formados, localizados no interior de grânulos intracelulares – histamina e proteases - e também sintetizam novos mediadores – leucotrienos e citocinas -, responsáveis pelas manifestações clínicas das reações de hipersensibilidade alérgica tipo I, na fase aguda. A IL-5 é outra citocina chave na resposta inflamatória alérgica, exercendo ações sobre os eosinófilos, através do seu recrutamento, ativação e prolongamento da sobrevivência e também tem um efeito estimulante do crescimento das células B (TIZARD, 2009).

É importante considerar que o perfil de reconhecimento molecular de alérgenos é geneticamente determinado e, portanto, característico de cada indivíduo (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016). Assim, ainda que pacientes humanos e cães possam responder a alérgenos em comum, como no caso dos alérgenos dos grupos 1 e 2 encontrados em ácaros domiciliares, existem diferenças importantes no reconhecimento individual entre humanos e cães (MASUDA et al., 2004). De fato, uma molécula que se apresenta como um alérgeno “maior” para pacientes humanos pode ser um alérgeno “menor” para cães e vice-versa. Também é possível que um alérgeno para determinadas espécies possa não apresentar *alergenicidade* para outras (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Ainda que utilizado amplamente nos textos sobre alergologia, o termo “alergenicidade” pode ser aplicado com significados distintos. Usualmente, o termo é aplicado como “medida” ou “força” da resposta alérgica produzida, já que alguns alérgenos são mais potentes na indução da formação de IgE do que outros; a diferença nesta potência alergênica, no entanto, não é bem compreendida a nível molecular. A atividade enzimática de

alguns alérgenos pode estar associada ao seu potencial alergênico (BEHRENDT; BECKER, 2001).

De forma intuitiva, o termo está associado à “capacidade de ser alergênico” sem, no entanto, definir sob que aspecto, se imunológico ou clínico. Em Olivry e Bizikova, 2010, é possível encontrar tal diferenciação aplicada ao termo. Assim, segundo estes autores, o termo alergenicidade imunológica indica a capacidade de ligação de IgE específica (detectável pelos métodos sorológicos ou de reatividade cutânea), enquanto alergenicidade clínica indica a capacidade de produzir as manifestações clínicas associadas às doenças alérgicas.

Tal distinção permite compreender os conceitos de sensibilizantes primários e reatividade cruzada. São considerados sensibilizantes primários os alérgenos capazes de induzir o sistema imunológico a produzir IgE específica (alergenicidade imunológica). Nem todos os alérgenos são capazes fazê-lo mas, ao seu contato, exibem a capacidade de produzir sinais e sintomas de alergia (alergenicidade clínica) o que pode ser explicado pelo fenômeno da reatividade cruzada (RING; AKDIS; AGACHE, 2014).

A reatividade cruzada (RC) é um fenômeno frequentemente observado em pacientes alergopatas, onde a sensibilização contra alguns alérgenos pode levar a reações a outros alérgenos, sejam relacionados ou não. Portanto, reações cruzadas são reações alérgicas contra outros alérgenos sem sensibilização prévia a estes. A definição de reatividade cruzada é baseada no reconhecimento imunológico. Dois alérgenos são reativos de maneira cruzada se houver um único anticorpo ou receptor de células T que reage com ambos. A reatividade cruzada pode ser explicada devido à similaridade molecular entre dois alérgenos diferentes. Em geral, reflete as relações filogenéticas entre os organismos próximos. Uma estreita relação filogenética resulta em um alto grau de homologia na estrutura primária das proteínas (sequência de seus aminoácidos), que por sua vez resulta em estruturas tridimensionais homólogas e, portanto, potencialmente, em reatividade cruzada. Por exemplo, albuminas séricas de vertebrados frequentemente exibem reatividades cruzadas, assim como alérgenos homólogos de gramíneas relacionadas filogeneticamente. No entanto, as reatividades cruzadas entre organismos filogeneticamente muito mais distantes são conhecidas há algum tempo. Em seres humanos são reconhecidas várias reações cruzadas inesperadas, como entre ambrosia e banana, bétula e maçã, determinantes de carboidratos de reação cruzada (CCDs), profilinas, látex / banana / abacate, e ácaro / caracol / camarão (AALBERSE; AKKERDAAS; VAN REE, 2001).

Com relação às diferentes fontes alergênicas, é descrito um segundo tipo de reatividade cruzada não devida às suas proteínas em si, mas sim a alguns açúcares presentes nelas (proteoglicanos) denominados “determinantes de carboidrato de reação cruzada” ou “CCDs”. A importância da reatividade às CCDs está associada principalmente com a interpretação dos SAT, uma vez que clinicamente não parece ser relevante já que há pouca ou quase nenhuma relação entre sua ligação com IgE e os sintomas biológicos (AALBERSE; AKKERDAAS; VAN REE, 2001).

As reatividades cruzadas são extensivamente estudadas em medicina, algumas já citadas anteriormente. Diversas síndromes bem definidas para humanos são clinicamente importantes; por exemplo, as síndromes de reatividade cruzada entre pólen e alimentos (PFIFFNER et al., 2010). Em veterinária, existem poucos estudos acerca da ocorrência deste tipo de reatividades cruzadas. Entretanto, foi identificada em cães a síndrome oral produzida pela reação cruzada entre o pólen do cedro-japonês (*Cryptomeria japonica*) e o tomate (*Lycopersicon esculentum*) (FUJIMURA et al., 2002).

Em medicina é comum que a maioria dos pacientes alérgicos exibam um estado de polissensibilização (PS). A PS é caracterizada pela presença de positividade contra mais do que uma única fonte alergênica. Tal ocorrência também parece ser a situação mais comumente esperada em cães, assim como ocorre em humanos (PEREIRA, 2015). O termo PS é utilizado em contraposição a monossensibilização (MS), que implica na demonstração de positividade a somente uma única fonte alergênica.

Enquanto PS se refere ao número de sensibilizações a fontes alergênicas distintas, o termo cossensibilização (CS) refere-se à natureza destas sensibilizações. A CS ocorre devido à exposição simultânea a diferentes fontes alergênicas, portanto não associada à reatividade cruzada. A CS reflete múltiplos eventos distintos de sensibilização como consequência do aumento da resposta imunológica característica das doenças atópicas. Os eventos de CS não são totalmente independentes, pois é provável que uma resposta Th2 a um alérgeno facilite as respostas subsequentes Th2 criando e mantendo por algum tempo um ambiente local que favoreça as respostas Th2. Entretanto, é importante notar que mesmo para alérgenos que são apresentados simultaneamente ao sistema imunológico, p.ex. alérgenos de gatos e ácaros em partículas de poeira, a CS não é universal entre os indivíduos sugerindo a necessidade de outras interações para que ocorra. Portanto, a PS pode ser explicada tanto pelas CS como pelas RC. Entretanto, a distinção entre CS e RC requer experimentos *in vitro* (imunoenaios competitivos como ELISA ou imunoblot, ambos de inibição). A compreensão de tais

fenômenos é importante no momento da interpretação de testes sorológicos e para a seleção de extratos alergênicos para a ASIT. Supondo que um paciente seja clinicamente reativo a duas fontes de alérgenos e o soro do paciente contém um anticorpo cruzado altamente reativo, é tentador assumir que essas duas observações estejam causalmente relacionadas. Essa suposição muitas vezes provou estar errada especialmente no caso da presença coincidente de IgE ao CCD, sem alergenicidade clínica (AALBERSE; AKKERDAAS; VAN REE, 2001).

A demonstração de anticorpos IgE específicos para alérgenos confirma a sensibilização alérgica (alergenicidade imunológica); já a história clínica, o exame físico e a eliminação de outras causas continuam sendo importantes para o diagnóstico das alergias mediadas por IgE (SALO et al., 2014). A simples produção do anticorpo não leva, necessariamente, a manifestação de sintomas (alergenicidade clínica). A sensibilização a um alérgeno não implica necessariamente em doença alérgica uma vez que há indivíduos que podem produzir IgE contra determinado(s) alérgeno(s) sem, no entanto, desenvolver sintomas após a exposição ao(s) mesmo(s). Não está claro por que alguns indivíduos demonstram apenas sensibilização, enquanto outros têm doença alérgica ativa. Se há anticorpos, mas não há resposta sintomática, nos referimos a isso como sensibilidade assintomática. Conclui-se que a demonstração de IgEs específicas, portanto, não comprova alergia, apenas prova sensibilização ou RC. Assim, a demonstração de IgE contra determinado alérgeno sugere ser este um fator de risco para a doença alérgica e não um diagnóstico em si (LADICS et al., 2014; RAQUEL, 2015).

As doenças alérgicas são frequentemente observadas na prática veterinária. Os animais apresentam condições alérgicas, caracterizadas por diferentes manifestações, em resposta ao contato com diferentes fontes alergênicas. Nos cães, gatos e cavalos, alguns dos principais alérgenos diferem dos humanos revelando diferenças nos padrões de sensibilizações. (MUELLER et al., 2016). Os insetos, vários AMBs e os alimentos são as fontes sensibilizantes mais frequentes, com manifestações alérgicas a nível cutâneo, ocular e nasal, broncopulmonar e digestivo, nestas espécies (MARTINS, 2018). Embora a asma atópica seja rara no cão e pouco se saiba sobre a rinite alérgica, a dermatite atópica é uma doença frequentemente encontrada na prática de pequenos animais. Ao contrário dos cães, a asma felina não é incomum. Os cavalos desenvolvem distúrbios respiratórios e cutâneos que foram atribuídos à alergia. Embora a obstrução recorrente das vias aéreas tenha muitas semelhanças com a asma humana, a doença alérgica mais bem compreendida em cavalos é a hipersensibilidade à picada de inseto (culicídeos) (MUELLER et al., 2016). A dermatite

alérgica é, no entanto, a condição alérgica mais frequente em cães e gatos, podendo enquadrar-se como dermatite atópica, dermatite alérgica alimentar, dermatite alérgica à picada de pulga, dermatite por hipersensibilidade a *Malassezia sp* ou dermatite de contato (MARTINS, 2018).

Dentre elas, a de maior ocorrência é a dermatite atópica (DA), a qual, tal como nos humanos, é aceita como uma condição de predisposição genética, com padrões clínicos definidos e associada a uma resposta IgE direcionada a AMB. Acredita-se que, do ponto de vista imunológico, a patogenia da DA envolva mecanismos IgE-dependentes, ou seja, tratam-se de reações de hipersensibilidade do tipo I (imediatas, mediadas por IgE) como evidenciadas nas doenças atópicas, ainda que reações de hipersensibilidade do tipo III (mediadas por complexos antígeno-anticorpo) e IV (mediadas por células do sistema imune) possam estar presentes em alguns casos (DAY, 2014).

O termo “atopia”, por definição, é a tendência genética para desenvolver alergia IgE-mediada contra antígenos ambientais. Ainda que, dentre as espécies domésticas, as doenças atópicas possam acometer também cavalos e gatos, a principal e mais estudada é a espécie canina, tendo como foco principal a DAC, muito em função de sua elevada ocorrência e dos impactos na qualidade de vida dos animais acometidos (MUELLER et al., 2016).

A definição da DAC vem sofrendo modificações em função do aumento do conhecimento sobre a fisiopatogenia da doença, especialmente na última década.

É definida como uma dermatose alérgica que acomete os cães, de caráter inflamatório, pruriginosa, predisposta geneticamente, com características clínicas definidas e comumente associada a produção de anticorpos IgE contra AMB. Além destes, atualmente se reconhece o papel de alérgenos alimentares em alguns grupos de cães com manifestações clínicas de DAC, devido a alergia alimentar mediada por IgE (HILLIER; GRIFFIN, 2001).

Diante da fisiopatogenia complexa e de manifestações clínicas variadas, cada vez mais a DAC é considerada não uma doença em si, mas uma síndrome, com ampla variedade de manifestações e causas, diferindo de acordo com cada animal (BENSIGNOR; CARLOTTI, 2002; DAY, 2014; PUCHEU-HASTON, 2016).

OLIVRY et al., 2010, definem a DAC como doença crônica, ou cronicamente recidivante, cujo tratamento varia ao longo do tempo e localidade geográfica. Tal colocação reafirma a participação do ambiente, o que reforça a importância do conhecimento local sobre os fatores de risco de exposição.

Ainda que referida como uma condição comum em cães (OLIVRY et al., 2010), a inexistência de dados exatos e deficiências de estudos populacionais não permitem conclusões sobre a incidência e a prevalência da DAC (DEBOER; HILLIER, 2001a). No entanto, ela ganha importância à medida que, a semelhança do que ocorre com humanos, vem se tornando mais frequente com o passar das décadas, muito provavelmente devido às mudanças no estilo de vida e no meio ambiente.

Existem controvérsias a respeito das rotas de exposição alérgica envolvidas na DAC. Por décadas, a ideia de que a exposição aos AMBs desencadeasse inflamação cutânea levou a denominá-la como “dermatite alérgica a inalantes”; entretanto, as evidências do desafio alérgico pela rota respiratória são consideradas fracas. Observações mais recentes, no entanto, sugerem o papel do contato alérgico cutâneo – via epicutânea - como a via mais importante para a sensibilização alérgica na DAC (OLIVRY; HILL, 2001).

Mais recentemente, estudos que investigaram o papel das vias de exposição oral, epicutânea e inalatória aos ácaros da poeira doméstica (*D. farinae* e *T. putrescentiae*) concluíram que todas as vias são importantes, inclusive a oral, e têm efeitos aditivos. Observaram, ainda, que a via de exposição não determina a distribuição das lesões e que a exposição epicutânea contínua provavelmente desempenha o papel mais importante na patogênese da DAC (MARSELLA; NICKLIN; LOPEZ, 2006; MARSELLA; SARIDOMICHELAKIS, 2010).

No que diz respeito às bases fisiopatológicas da DAC, várias condições ambientais (substâncias irritantes, por exemplo), alérgenos com atividade proteolítica, toxinas bacterianas, etc., também podem coincidir com fatores predisponentes (constituição defeituosa das proteínas da pele), o que pode diminuir a função de barreira cutânea, favorecendo uma penetração profunda de alérgenos com a consequente estimulação da resposta imunológica (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Ainda que pareça provável, ainda se discute até que ponto os mecanismos alérgicos estão envolvidos na patogênese da DAC (BENSIGNOR; CARLOTTI, 2002). Em cães, existe grande quantidade de evidências clínicas que sugerem o papel de AMB na patogenia da DAC. (HILL; OLIVRY, 2001). Reforçando esta ideia, está o fato de que apesar da desregulação imunológica na DAC ser extensamente documentada, não está claro se tais anormalidades têm um efeito causal na doença ou se são consequências de outros defeitos, como os que envolvem a função de barreira cutânea nestes pacientes permitindo a penetração transepidérmica de alérgenos. Da mesma forma, ainda não está claro se tais defeitos cutâneos

são causa ou consequência dos eventos inflamatórios que acompanham a doença (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Tal dicotomia permitiu a proposição de duas teorias a respeito da fisiopatogenia da doença: a teoria “*outside-in*”, que sugere a falha da função de barreira da pele como sendo a causa primária a permitir a sensibilização alérgica através da penetração indevida de antígenos ambientais e suas apresentações ao sistema imune, em contraste com a teoria “*inside-out*” na qual o papel primário caberia à desregulação imunológica (o desequilíbrio da atividade de linfócitos Th1/Th2, a produção de IgE, hiperatividade de mastócitos e a sinalização de células dendríticas) como responsável pela disfunção na permeabilidade cutânea e na barreira antimicrobiana que acompanham a DAC (ELIAS; HATANO; WILLIAMS, 2008). Existem evidências que suportam estas teorias e, na verdade, é possível que ambos os mecanismos concorram e que se afetem mutuamente de maneira complexa e delicada em cada subpopulação de cães afetados, justificando os diferentes fenótipos da doença. Estas diferenças fenotípicas foram demonstradas em diferentes raças de cães com DA; entretanto, enquanto algumas delas parecem estar associadas a um componente genético, outras provavelmente estejam associadas com variações nos fatores ambientais (WILHEM; KOVALIK; FAVROT, 2011).

Na Medicina Veterinária, evidências cada vez maiores mostram que, a ultraestrutura da pele de cães com DA é diferente da pele canina normal em termos de composição lipídica (por exemplo, quantidade de ceramidas) e permeabilidade. Em pacientes humanos com DA, essas alterações são primárias e precedem o componente alérgico da doença. Não se sabe se o mesmo conceito se aplica aos cães com DA, porém sabe-se que a pele de cães atópicos é mais permeável em animais jovens (2 a 3 anos) que encontram-se, assim, sob maior risco de penetração de alérgenos (MARSELLA, 2010).

A possível implicação clínica desse conhecimento é que uma abordagem mais proativa, com o objetivo de remover alérgenos, minimizando sua absorção e potencialmente restaurando a função de barreira da pele em cães jovens predispostos à DA, pode ser a chave para diminuir o risco de desenvolver DA. Cães mais velhos parecem ter uma pele menos permeável; assim, embora a sensibilização possa ocorrer posteriormente, parece haver uma “janela” para a sensibilização alérgica máxima. Os locais preferenciais de lesões na DA (por exemplo, patas, face, superfícies flexurais, pinas) são mais permeáveis do que outros locais em cães com DA e os mesmos locais em cães sem a DA. Todas essas descobertas enfatizam ainda mais a importância da terapia tópica para o manejo e, possivelmente, para

prevenção da DA. Embora não existam estudos conclusivos, especula-se que a aplicação tópica de produtos que contenham ceramidas ou outras formulações lipídicas possa ser benéfica para melhorar a função de barreira cutânea em doenças atópicas (MARSELLA, 2010).

Na medicina humana, a modulação precoce do sistema imunológico por bactérias e parasitas desempenha um papel importante na determinação da probabilidade de desenvolvimento de alergias em indivíduos predispostos. A “teoria da higiene” propõe que a diminuição da exposição às endotoxinas é, pelo menos parcialmente, responsável pelo aumento da probabilidade de as crianças nos países ocidentais desenvolverem doenças atópicas (RING; AKDIS; AGACHE, 2014). Um estudo piloto na Medicina Veterinária sobre a infecção de cães com ovos de helmintos para o tratamento da DA canina tem demonstrado resultados promissores, sugerindo que uma situação semelhante pode se aplicar a cães. A exposição em idade precoce a probióticos também foi capaz de modular a resposta imune em cães altamente predispostos em um modelo experimental de DA canina, sugerindo que a modulação do sistema imunológico nas fases iniciais da vida é importante. Todas essas considerações destacam ainda o fato de que a DA é o resultado de uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais, e que múltiplos aspectos do estilo de vida do indivíduo determinam o desenvolvimento clínico da doença (MARSELLA, 2010).

É nesse contexto que se vem equacionando a abordagem terapêutica mista dermatológica/imunológica. A primeira visa, sobretudo, a reconstituição da estrutura lamelar do extrato córneo epidérmico, enquanto ao nível do componente imunológica se objetiva um condicionamento da resposta imunitária, onde passe a preponderar um padrão regulador Th1, por oposição ao Th2, mais frequente na sensibilização e alergia (MARTINS, 2018).

Uma vez definida como uma doença de predisposição genética (OLIVRY et al., 2010), o que é corroborado por estudos genômicos, o componente genético na fisiopatogenia da DAC sugere a ocorrência de predisposição racial e/ou familiar; entretanto, não há estudos confiáveis sobre esta matéria uma vez que para determinar a ocorrência deste fenômeno seria necessário o conhecimento do número total da população de cães de cada raça sujeitos ao risco da doença, o que não ocorre até o momento. Ainda que existam vários relatos sobre a incidência da DAC em várias raças em todo o mundo, sem dados sobre as ocorrências destas raças na população geral não é possível tirar conclusões sobre predisposição racial (SOUSA; MARSELLA, 2001).

Diferentes fenótipos podem ser atribuídos a diferentes raças, sugerindo a herdabilidade de fatores genéticos específicos e complexos. Por exemplo, estudos sugerem que os cães Buldogue Francês e Shar Pei manifestam sintomas clínicos de DAC mais precocemente que outras raças; que o Pastor Alemão (PA), o Dálmata e o Shar Pei apresentam prurido sem lesões, enquanto outras raças desenvolvem infecções secundárias como o Boxer (otites) e o WHWT (dermatite por *Malassezia* spp.) ou alterações seborreicas (PA e WHWT). A distribuição das lesões também parece variar de acordo com a raça; por exemplo, o PA e o WHWT frequentemente apresentam lesões difusas quando comparados com outras raças em que o padrão são lesões localizadas (GRIFFIN, 2014).

A DAC envolve uma rede complexa de muitos genes com múltiplas variantes afetando suas funções e expressões. Estudos genômicos em cães demonstram o envolvimento de diversos genes na patogênese da DAC, associados a (i) imunidade inata, (ii) imunidade adquirida, (iii) inflamação, (iv) ciclo celular, (v) apoptose, (vi) barreira cutânea e (vii) regulação de transcrição. Apesar de demonstradas tais associações, ainda não está claro se são causa ou efeito (NUTTALL, 2014). Um estudo em um grupo de cães indicou que cerca de 50% do risco de desenvolver a DAC foi determinado pelo genótipo individual de cada cão (BIZIKOVA et al., 2015). Apesar disto, tanto o risco de desenvolvimento da doença, sua gravidade e resposta ao tratamento são muito variáveis dentro da mesma raça. Estudos sustentam que a base genética da DAC varie não apenas entre as raças, mas também geograficamente de acordo com as linhagens locais. Somado a isto, também é provável que a influência ambiental seja importante sobre as respostas alérgicas e inflamatórias, a tolerância e a função de barreira cutânea.

Apesar do equilíbrio entre ambiente e genética variar conforme a raça - por exemplo, os fatores ambientais não parecem interferir na prevalência da DAC em cães da raça West Highland White Terrier -, evidências sugerem que determinados fatores ambientais influenciem a prevalência e o curso da doença. Estudos apontaram que cães habitantes de áreas rurais ou alimentados com dieta não comercial foram negativamente associados ao desenvolvimento da DAC, ao passo em que a exposição a altos níveis de fumaça foram associadas com o aumento da prevalência de doenças alérgicas de pele (BIZIKOVA et al., 2015).

A maioria dos cães afetados manifestam início dos sinais entre 6 meses e 3 anos de idade, sem predisposição sexual clara, incluindo prurido moderado a intenso, acompanhado ou não de infecções cutâneas ou otológicas. Ainda que menos comuns, manifestações clínicas

de lacrimejamento ou congestão ocular, ou ainda espirros ou corrimento nasal (rinorréia) podem ser indicativos de conjuntivite e rinite alérgicas, respectivamente. A ocorrência das manifestações clínicas pode apresentar um padrão sazonal ou perene, com ou sem exacerbações sazonais, de acordo com os alérgenos envolvidos (GRIFFIN; DEBOER, 2001; OLIVRY et al., 2015).

Com relação aos sinais clínicos, eritema e prurido são quase que sempre presentes e frequentemente são os primeiros manifestados. Na verdade, a maioria dos sinais são auto-induzidos (alopecias, escoriações, alteração na coloração dos pelos pela saliva) em função da inflamação e prurido. Considerada a primeira lesão da DAC, as micropápulas raramente são observadas em cães. Já os sinais associados a infecções secundárias são frequentes nestes cães. Os sinais que acompanham infecções bacterianas superficiais resultam em pápulas, pústulas, crostas, erosões e colarinhos epidérmicos, ao passo em que as infecções produzidas por leveduras geralmente estão associadas à hiperplasia, hiperpigmentação e liquenificação da epiderme. A maioria destes sinais não são específicos para a doença; entretanto, o padrão de distribuição lesional torna-se útil para o diagnóstico. Assim, as áreas mais comumente afetadas são as áreas com menor cobertura pilosa, sendo também aquelas com maiores defeitos na barreira epidérmica associada ao acesso percutâneo dos antígenos. Assim, um cão com DAC típica apresentará prurido nas regiões perioculares, perilabiais, focinho, pinas e ouvidos, patas, região inguinal, abdômen, períneo, zona ventral da cauda, regiões flexurais e medial das extremidades. A exceção de casos crônicos, tais sinais não se apresentam todos simultaneamente. Otites são frequentemente observadas na DAC (FAVROT, 2014).

Enquanto a definição de DAC alberga a reatividade mediada pela IgE específica, mais recentemente foi reconhecida uma condição clínica que cursa com doença cutânea inflamatória e pruriginosa, com características clínicas idênticas às observadas na DAC, em que uma resposta de IgE específicas a AMB ou outros não pode ser documentada, que recebeu a denominação de dermatite atópica *like* (DAL) (HALLIWELL, 2006; OLIVRY et al., 2010).

O diagnóstico da DAC, em princípio, está baseado nos sinais clínicos e no histórico da doença, além da eliminação de outras condições assemelhadas e não em testes laboratoriais. Todavia, não é clinicamente possível diferenciar as manifestações cutâneas de alergia alimentar, daquelas de alergia ambiental, assim como identificar as fontes alérgicas ambientais implicadas em cada caso (HALLIWELL, 2006). Torna-se, assim, importante a

identificação, para cada indivíduo, das fontes alergênicas implicadas, como primeiro passo para um diagnóstico preciso (MARTINS, 2018).

Enquanto os critérios clínicos permitem sugerir o diagnóstico de DAC em um sentido amplo (DAC *lato sensu*), as provas de restrição e provocação dietética permitem identificar reações cutâneas adversas ao alimento (RCAA) com sinais clínicos de DAC. Por outro lado, os testes alérgicos permitem classificá-la em DAC *stricto sensu* quando é possível documentar a sensibilização aos AMBs ou em DAL, quando da ausência de tal estado (FAVROT et al., 2010).

Ainda que atualmente exista um consenso em relação ao papel fundamental do diagnóstico clínico da DAC, é importante lembrar que esta doença não possui sinais clínicos patognomônicos que permitam que um diagnóstico definitivo seja realizado exclusivamente com base na anamnese e no exame físico. Uma ampla gama de apresentações clínicas influenciadas por padrões lesionais, fenótipos associados à raça, extensão das lesões, estágio da doença - agudo *versus* crônico -, pela presença ou não de infecções microbianas secundárias, além da similitude com outras condições da pele que não estão relacionadas à DA, sugere que em muitos casos o diagnóstico definitivo possa ser difícil (MARTINS, 2018).

Desta forma, uma vez que haja suspeição da DAC e outros diagnósticos diferenciais importantes sejam eliminados, uma vez que o clínico esteja certo de que a DAC é provável, os testes alérgicos devem ser finalmente conduzidos para substanciar o diagnóstico de doença alérgica (DEBOER; HILLIER, 2001b). Portanto, como exames complementares, os testes alérgicos, cutâneos e SATs, tornam-se procedimento essencial, perante a suspeita de alergia cutânea (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Embora não exista, na atualidade, um tratamento único eficaz para a DAC, a imunoterapia específica com alérgenos (ASIT) é um tratamento aceito e frequentemente realizado para dermatites atópicas em cães, gatos e cavalos, embora dados sobre os principais alérgenos relevantes para estas espécies sejam escassos (MUELLER et al., 2016).

A ASIT é atualmente reconhecida como a única imunoterapia específica – portanto, voltada à causa da doença atópica. Consiste na prática de administrar quantidades gradativamente maiores de um extrato alergênico (EXT) a um indivíduo, até uma dose de manutenção determinada ou a máxima dose tolerada pelo paciente (GRIFFIN; HILLIER, 2001).

Extratos de alérgenos não modificados ou modificados (alergóides) podem ser usados no ASIT. Os alergóides são produzidos pelo tratamento de alérgenos com formaldeído ou

glutaraldeído, e acredita-se que essas proteínas modificadas tenham uma capacidade reduzida de ligação à IgE, diminuindo assim a alergenicidade clínica destes compostos. Na maioria dos alérgenos comerciais, o hidróxido de alumínio serve como um adsorvente para atrasar a liberação do extrato. Alguns dos produtos contêm adjuvantes para aumentar sua imunogenicidade (OZMEN; MARSELLA, 2014).

O objetivo da ASIT é melhorar os sintomas associados à exposição subsequente ao alérgeno causador. No passado, os termos “dessensibilização” e “hipossensibilização”, foram utilizados para descrever esta forma de terapia, referindo-se ao objetivo principal, ou seja, a redução ou perda de sensibilidade em um paciente, o que é clinicamente verificado em paciente responsivos à ASIT (GRIFFIN; HILLIER, 2001). Entretanto, estas terminologias não refletem os mecanismos que se acredita serem importantes, nem os agentes utilizados. Posteriormente, convencionou-se utilizar a denominação imunoterapia, o que também se mostrou inadequado pois não diferencia esta modalidade terapêutica de outras que também alterem a resposta imunológica, seja por estimulação ou supressão. Desta forma, cunhou-se a denominação imunoterapia com alérgenos ou imunoterapia alérgeno-específica (GRIFFIN; HILLIER, 2001).

O primeiro relato de ASIT bem sucedida em cães data de 1941 (WITTICH, 1941) e ainda hoje é o único tratamento capaz de alterar o curso natural da doença alérgica e, em alguns casos, promover sua cura (JENSEN-JAROLIM et al., 2015).

A ASIT tem sido usada com grande sucesso na medicina veterinária há décadas para o tratamento da DA e tradicionalmente é realizada com injeções subcutâneas (SCIT) (OZMEN; MARSELLA, 2014). Recentemente, a rota sublingual (SLIT) tem ganhado interesse por sua segurança, praticidade e eficácia similar a SCIT (OZMEN; MARSELLA, 2014). Mais recentemente, vários estudos em animais e alguns ensaios clínicos em humanos apontam para a viabilidade da imunoterapia intralinfática (ILIT) (KIM et al., 2017).

São vários os mecanismos de ação da ASIT. Presume-se que ocorram mediante a indução de células T reguladoras (Treg), a modulação das respostas de células T e B, o desvio de isotipos de anticorpos específicos de IgE para IgG4, a dessensibilização precoce de mastócitos e basófilos, a diminuição do número e da atividade de eosinófilos e mastócitos teciduais (RING; AKDIS; AGACHE, 2014; TIZARD, 2009).

Após a ASIT são geradas células Treg específicas para o alérgeno capazes de produzir IL-10 e TGF- $\beta$  que suprimem as respostas proliferativas, e de citocinas contra os alérgenos principais e seus sítios de reconhecimento. A eliminação de células Th2 alérgeno-específicas

como consequência da estimulação repetida de altas doses de alérgenos pode ser, possivelmente, um mecanismo independente para restaurar a tolerância específica ao alérgeno durante a ASIT. A indução de tolerância periférica em consequência da ASIT tem influência sobre os isotipos dos anticorpos. Os níveis séricos de IgE diminuem de maneira gradual, enquanto os níveis de IgG4 alérgeno-específica, denominada “anticorpo bloqueador”, aumenta durante a ASIT (TIZARD, 2009).

Para que estes mecanismos tenham êxito, no entanto, é provável que o padrão individual de sensibilização para cada fonte alergênica seja relevante para o sucesso da ASIT. Assim, a composição dos extratos utilizados para a ASIT deve ser determinada com base nas sensibilizações individuais. Estas informações podem ser acessadas através das provas de sensibilização, cutâneas ou sorológicas (MARTINS et al., 2017). Na detecção de IgE específica para alergias humanas, devem ser realizados testes cutâneos ou outros testes de provocação de alérgenos. Por outro lado, em animais, os testes sorológicos de IgE específica e intradérmicos são considerados igualmente importantes e podem se substituir mutuamente (JENSEN-JAROLIM et al., 2015).

Testes de reatividade cutânea, denominados testes intradérmicos (IDT), podem ser realizados por meio da aplicação de extratos alergênicos na derme com agulhas hipodérmicas, ou diretamente sobre a pele e em seguida picando (“*pricking*”) ou arranhando a pele com agulhas ou instrumentos apropriados. Em indivíduos sensibilizados, ocorre a formação de uma pápula eritematosa dentro de 15 a 20 minutos indicando uma reação positiva (ZAKZUK; KILIMAJER; LOCKEY, 2019). O IDT é uma medida indireta da reatividade cutânea de mastócitos devido à presença de IgE (HENSEL et al., 2015). Em cães, é realizado injetando-se os extratos de alérgenos na pele raspada do tórax lateral ou do abdome. A formação de pápulas e eritema no local da aplicação, cujo diâmetro atinja a metade, ou mais, do tamanho da pápula produzida pelo controle positivo, composto por histamina, são interpretadas como reação positiva (JENSEN-JAROLIM et al., 2015).

Existe amplo uso de SATs projetados para identificação de anticorpos séricos contra certos alérgenos em dermatites atópicas, infestações por sarna e também hipersensibilidade alimentar em cães. Há cerca de 20 anos, os primeiros testes *in vitro* foram desenvolvidos para identificar IgE específica de alérgenos em cães com dermatite atópica. Desde então, os desenvolvimentos técnicos melhoraram significativamente a qualidade dos anticorpos, bem como os métodos. A limitação dos testes séricos reside na interpretação dos resultados dos testes, bem como das doenças para as quais são utilizados (ROOSJE, 2010).

O princípio fundamental de todo teste sorológico para IgE específica é o mesmo: o soro do paciente reage com um fonte alergênica específico, geralmente ligado a uma fase sólida. Anticorpos não ligados são eliminados do sistema por lavagens e então as IgEs ligadas aos alérgenos são detectadas através de um reagente específico para IgEs (um ligante para IgE) conjugado a um revelador enzimático (ELISA) ou radioisótopo (RAST) e sua quantidade é determinada por métodos colorimétricos, fluorométricos ou radiométricos, conforme o caso. A quantidade de sinal gerado é proporcional a quantidade de reagente IgE específico, o que é proporcional à quantidade de IgE alérgeno específica (DEBOER; HILLIER, 2001a)

Nas últimas décadas, a detecção de IgE sérica foi feita usando anticorpos monoclonais, oligoclonais ou policlonais anti-IgE canina. No entanto, devido à maior sensibilidade e especificidade de um anticorpo monoclonal, o uso de anticorpos policlonais anti-IgE canina diminuiu acentuadamente. Outro ensaio veterinário utilizando um fragmento recombinante exclusivo da porção extracelular da subunidade alfa do receptor de IgE de alta afinidade humana (FcεRIα) demonstrou uma forte afinidade pela IgE canina sem apresentar RC com a IgG. Uma grande preocupação dos testes sorológicos para IgE específica para alérgenos caninos é sua baixa especificidade, variabilidade inter e intralaboratorial e a ocorrência de reatividade cruzada *in vitro* (GEDON et al., 2019). Entretanto, um estudo recente comparou dois sistemas de teste diferentes um coquetel de anticorpos monoclonais-ELISA (macELISA) e um teste baseado em FcεRIα-ELISA mostraram que a concordância interlaboratorial dos resultados comparando ambos os sistemas de teste foi de 92% e a variação intra-ensaio para o macELISA foi de 9,7% (ROOSJE, 2010).

Testes cutâneos e testes sorológicos medem diferentes componentes de uma resposta de IgE a um antígeno. A reação do teste cutâneo demonstra IgE ligada ao mastócito via FcεRIα, enquanto um ensaio *in vitro* mede a IgE sérica circulante. A meia-vida desses anticorpos varia; por exemplo, em humanos, a IgE ligada a mastócitos tem uma meia-vida de até 14 dias em comparação com 2,3 dias para IgE sérica (Ishizaka e Ishizaka, 1975). De fato, pode haver vários tipos de IgE canina que possuem propriedades biológicas diferentes. Consequentemente, não seria surpreendente se os resultados obtidos no SAT não se correlacionassem muito com os de um IDT. Em estudos anteriores de DAC, houve uma variação considerável na correlação dos resultados dos testes cutâneos em comparação com os resultados dos ensaios *in vitro*. Por outro lado, outros estudos sugerem que uma alta correlação pode ser encontrada entre os testes cutâneos e os resultados de ELISA, especialmente em relação a determinadas fontes alergênicas como o caso dos ácaros

(FOSTER et al., 2003). Ainda que não exista um consenso amplo sobre as correspondências entre os resultados de metodologias diferentes, em relação a DAC constatou-se não haver diferenças nos resultados clínicos através de ASIT baseada em uma ou outra metodologia. Assim, considera-se que ambas tenham igual eficácia na identificação de AMBs para ASIT em cães (WASSOM; GRIEVE, 1998).

Com relação à interpretação dos resultados obtidos em testes alérgicos, ao menos em relação à DAC, é importante lembrar que a intensidade da sensibilização não se correlaciona necessariamente com a gravidade clínica (GEDON et al., 2019) e ainda que, mesmo que nos últimos anos a veterinária tenha testemunhado avanços tecnológicos com respeito aos métodos diagnósticos de sensibilização, deve prevalecer a regra de ouro dos “testes alérgicos” a qual declara que o anticorpo IgE específico detectado pelos métodos de teste cutâneo ou sorológico é simplesmente um marcador para sensibilização e, portanto, apenas um dos muitos fatores de risco para doenças alérgicas. Positividade para IgE não é sinônimo de presença de doença alérgica sem presença de história clínica positiva (KANG et al., 2014).

De maneira geral uma grande variedade de alérgenos em potencial é testada. Estes, normalmente compreendem um ou mais exemplos de ácaros da poeira doméstica e ácaros de armazenamento, insetos, epiderme e fibras, pólen de árvores, ervas daninhas e grama e fungos. A escolha dos alérgenos para inclusão em um teste é baseada em vários fatores, incluindo disponibilidade comercial, validação conhecida para DA canina e relevância local (SOARES et al., 2007). Independentemente do método escolhido, a seleção apropriada de alérgenos para os testes é fundamental para se obter resultados confiáveis. De fato, os alérgenos, principalmente pólenes, estão sujeitos a uma grande variabilidade geográfica. Assim, é importante que os veterinários identifiquem as fontes alergênicas presentes na localidade em que os pacientes se encontram (HENSEL et al., 2015). Conclui-se, portanto, que devido a isso o número e o tipo de alérgenos a serem selecionados devem ser definidos de acordo com a história clínica e os padrões de sensibilização locais (RAQUEL, 2015). Sendo assim, o conhecimento desses perfis regionais é importante para a seleção de alérgenos relevantes a serem testados, primando pela maior assertividade dos testes alérgicos na determinação dos fatores de risco para o paciente alergopata (SOARES et al., 2007).

A região da Baixada Santista, na qual se inserem as cidades de origem dos cães deste estudo, é composta por nove municípios (Bertioga, Cubatão, Guarujá, Itanhaém, Mongaguá, Peruíbe, Praia Grande, Santos e São Vicente) e está situada no litoral centro do estado de São Paulo, envolvida entre as coordenadas 23º 30' e 24º 26' de latitude sul e 45º 10' e 47º 04' de

latitude oeste e configura um compartimento isolado na forma de baixada, com morros isolados entre a serra e o oceano. A composição geomorfológica é identificada por duas grandes unidades morfológicas: escarpas da Serra do Mar e planície litorânea ou costeira. Exibe clima do tipo tropical com verão curto, quente e de céu frequentemente encoberto; o inverno é longo, com temperaturas amenas e de céu quase sem nuvens. Durante o ano inteiro apresenta altos índices de precipitação. Ao longo do ano, em geral, a temperatura varia de 19°C a 31°C e raramente é inferior a 16°C ou superior a 35°C. Do ponto de vista urbanístico, a região é densamente urbanizada na faixa mais próxima do mar, tendo áreas de preservação de Mata Atlântica nos trechos mais próximos à serra e nas escarpas desta. Em geral, há uma forte ocupação urbanística verticalizada (ZUNDT, 2006).

### 3 OBJETIVOS

Cientes da importância da identificação das fontes alergênicas envolvidas na fisiopatogenia das doenças atópicas, em especial da DAC, e utilizando um teste sorológico para detecção de IgE canina alérgeno-específica, este estudo contempla os seguintes objetivos geral e secundários.

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as sensibilizações observadas contra 24 fontes alergênicas ambientais em cães suspeitos de DA atendidos no serviço de alergologia do Instituto Veterinário de Alergia Allergen®, situado na cidade de Santos na Baixada Santista, litoral central de SP.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elencar as sensibilizações observadas de forma a identificar o perfil de sensibilidade desta população;
- Comparar os resultados obtidos com outros estudos realizados em outras regiões do Brasil e do mundo;
- Analisar possíveis relações de causalidade esperadas entre as sensibilizações observadas e as características fitozoogeográficas regionais;
- Identificar, caso existam, os padrões de sensibilizações relevantes para a população do estudo, de forma a permitir uma adequação regional do painel alérgico a ser utilizado em futuros testes diagnósticos para cães alergopatas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 SELEÇÃO DE CÃES

Foram avaliados 141 cães apresentados ao serviço de alergologia do Instituto Veterinário de Alergia Allergen®, clínica privada localizada na cidade de Santos, litoral central do Estado de SP, Brasil, no período compreendido entre fevereiro de 2016 a setembro de 2019 e independentemente de gênero ou raça. Todos os animais tinham suspeita de DA *lato sensu* de acordo com a impressão do avaliador, com base nas manifestações clínicas, no histórico e tendo cumprido pelo menos cinco dos oito critérios descritos por Favrot et al. (2010) (Tabela 1).

Tabela 1 - Critérios de Favrot (2010) para dermatite atópica canina. Santos, 2019.

---

1. Início de sinais com menos de 03 anos de idade
2. Cão que vive principalmente em ambientes fechados
3. Prurido responsivo a glicocorticóides
4. Prurido *sine materia* no início (*i.e.* prurido alesional)
5. Patas dianteiras afetadas
6. Pinas afetadas
7. Margens das pinas não afetadas
8. Região dorso-lombar não afetada

Uma combinação de cinco critérios satisfeitos possui uma sensibilidade de 85% e uma especificidade de 79% para diferenciar cães com DA de cães com prurido crônico ou recorrente sem DA. A adição de um sexto parâmetro cumprido aumenta a especificidade para 89%, mas diminui a sensibilidade para 58%.

---

Fonte: adaptada de OLIVRY et al. (2010)

#### 4.1.1 Critérios de inclusão

Todos os cães selecionados foram testados por sorologia para IgE específica contra 24 fontes alergênicas constantes de um painel alergênico padronizado (Quadro 1) tendo apresentado positividade para pelo menos 01 (uma) delas. Todos, obrigatoriamente, eram residentes fixos em uma das cidades integrantes da região litorânea delimitada pela Baixada Santista, SP, tendo sido 137 procedentes de Santos, 02 de Peruíbe, 01 de São Vicente e 01 da Praia Grande.

Quadro 1 – Relação dos extratos alergênicos testados, agrupados de acordo com suas características taxonômicas. Santos, 2019.

Grupos	Extratos alergênicos
Ácaros domiciliares	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> , <i>Dermatophagoides farinae</i> , <i>Tyrophagus putrescentiae</i> , <i>Lepidoglyphus destructor</i> , <i>Acarus siro</i> , <i>Blomia tropicalis</i>
Pólenes de gramíneas	<i>Phleum pratense</i> , <i>Lolium perenne</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Secale cereale</i> , <i>Avena sativa</i>
Pólenes de ervas invasoras	<i>Plantago</i> spp., <i>Artemisia</i> spp., <i>Chenopodium</i> spp., <i>Parietaria</i> spp.
Pólenes de árvores/arbustos	<i>Betula</i> spp., <i>Ligustrum</i> spp., <i>Cupressus</i> spp., <i>Platanus</i> spp., <i>Populus</i> spp.
Esporos de fungos	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Cladosporium</i> spp.

#### 4.2 MATERIAL DE ANÁLISE

Foram obtidas amostras no período de fevereiro de 2016 a setembro de 2019. As amostras de sangue foram colhidas por venopunção da veia cefálica ou jugular, em tubo seco com gel separador, mantidas em repouso à temperatura ambiente por 20 minutos. As amostras foram então submetidas à centrifugação, em centrífuga marca Centribio®, modelo 80-2B, por

05 minutos a 4000 RPM (RCF  $\cong$  1800 xG) para obtenção do soro. Para cada paciente foi utilizado um kit de coleta fornecido pelo laboratório responsável pelas determinações (Alergovet®, Espanha), composto por um cartão constituído por papel filtro, ao qual foram aplicados 2,0 ml de soro utilizando uma pipeta automática de 1000  $\mu$ L. Em seguida o cartão com o soro aplicado foi submetido a desidratação em estufa a 37°C *over night*. Os cartões dessecados foram mantidos congelados em sacos plásticos herméticos e individuais até o momento do envio ao laboratório, nunca por período superior a 3 semanas. No laboratório, as amostras desidratadas foram restituídas por metodologia própria e posteriormente testadas.

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DE IGE ALÉRGENO-ESPECÍFICA CANINA

As amostras foram testadas pelo teste comercial PET-ELISA® realizado pelo laboratório Alergovet® (Madrid, Espanha). O teste é baseado no método de ELISA indireto utilizando uma sonda oligoclonal exclusiva, Olygo.3mAB®, composta pela combinação de três anticorpos monoclonais recombinantes (5A7®, 1C8® e 5G10®) conjugados com peroxidase, cada qual direcionado contra diferentes epítomos localizados na região CH2-CH3-CH4 da cadeia pesada da molécula de IgE canina, com especificidade para a determinação de IgE canina de 100% (não apresenta RC com IgM ou IgG) e sensibilidade de 99,3% (GARCIA-GALLO PINTO et al., 2011; ALVAREZ; ZALVE, 2010). Os soros dos cães selecionados foram testados, individualmente, frente a cada alérgeno integrante do painel alergênico selecionado.

#### 4.4 SELEÇÃO DE EXTRATOS ALERGÊNICOS

Foram testados 24 fontes alergênicas ambientais, agrupados em 05 categorias de acordo com suas características taxonômicas: ácaros domiciliares (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, *Blomia tropicalis*), pólenes de gramíneas (*Phleum pratense*, *Lolium perenne*, *Cynodon dactylon*, *Secale cereale*, *Avena sativa*), pólenes de ervas invasoras

(*Plantago* spp., *Artemisia* spp., *Chenopodium* spp., *Parietaria* spp.), pólenes de árvores e arbustos (*Betula* spp., *Ligustrum* spp., *Cupressus* spp., *Platanus* spp., *Populus* spp.) e fungos ambientais (*Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp.) (Quadro 1).

A seleção de fontes alergênicas que compuseram o painel utilizado foi sugerida pelo próprio laboratório, com base em: (i) estudos brasileiros regionais de sensibilização (NICOLETI; VANDRESSEN; FRECCIA, 2018; ALBUQUERQUE et al., 2015; PEREIRA, 2015; CUNHA et al., 2014, 2007, 2012b); (ii) sua experiência anterior em países da América do Sul (dados não publicados); e (iii) disponibilidade de extratos alergênicos produzidos pelo laboratório.

#### 4.5 INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS

As leituras das absorvâncias (ABS) obtidas por espectrofotometria respectivas a cada fonte alergênica foram submetidas aos *cut offs* sugeridos pelo laboratório, prevendo as seguintes interpretações: resultados interpretados como “negativo” (de 0 a 149 ABS), “duvidoso” (de 150 a 199 ABS), “positivo” (de 200 a 999 ABS) e “fortemente positivo” (maior ou igual a 1000 ABS). Para o propósito do estudo, no entanto, optou-se por desconsiderar os resultados “duvidosos”, a fim de evitar um viés analítico tendenciosamente positivo, e considerar “positivos” todas as leituras iguais ou maiores que 200 ABS, inclusive os “fortemente positivos”. Desta forma, foram estabelecidas apenas duas possibilidades de interpretação: resultados positivos e negativos.

#### 4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram transferidos para um banco de dados criado em software Excel® (Microsoft® Excel® para Windows 2010, versão 14.0.7237.5000). O conjunto de dados foi classificado em tabelas dinâmicas e todas as tabelas e gráficos foram criados usando uma função de filtragem no Excel®.

Foram calculadas as frequências relativas das ocorrências de positivities observadas para (i) cada fonte alergênica individualmente, (ii) para cada grupo composto por fontes alergênicas relacionadas, (iii) entre estes grupos (iv) e de positivities simultâneas entre pares de fontes alergênicas distintas. Foram calculados os coeficientes de correlação linear de Pearson ( $r$ ) das absorbâncias obtidas entre pares de pólenes distintos. Foram considerados significativos os testes com  $P \leq 0,05$  para um Intervalo de Confiança (IC) de 95%.

## 5 RESULTADOS

Dos 141 cães, 65 (46,1%) eram machos e 76 fêmeas (53,9%). A relação macho:fêmea foi de 1:1,2. A idade dos cães no momento da coleta de sangue variou de 9 meses a 16 anos (média de 5 anos), sendo 81 animais (57,4%) com idade entre 1 e 5 anos. As frequências das ocorrências das raças dos animais arrolados no estudo estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição dos 141 cães sensibilizados (positivos a pelo menos uma fonte alergênica) segundo a raça. Santos, 2019.

Raça	n (%)
Shih Tzu	27 (19,1)
S.R.D.	24 (17,0)
Bulldogue Francês	16 (11,3)
Lhasa Apso	14 (09,9)
Maltês	09 (06,4)
Yorkshire Terrier	07 (05,0)
West White Highland Terrier	05 (03,5)
American Pit Bull Terrier	04 (02,8)
Pug	04 (02,8)
Golden Retriever	04 (02,8)
Poodle	03 (02,1)
Labrador	03 (02,1)
Dachshund Standard Pelo Curto	02 (01,4)
Border Collie	02 (01,4)
American Bully	02 (01,4)
Pastor Alemão	02 (01,4)
Pinscher Miniatura	02 (01,4)
Cavalier King Charles Spaniel	02 (01,4)
Cocker Spaniel Americano	01 (00,7)
Pequinês	01 (00,7)
Bulldog	01 (00,7)
American Staffordshire Terrier	01 (00,7)
Boxer	01 (00,7)

Nota: S.R.D.: sem raça definida.

Vinte e um cães (14,9%) apresentaram resultados positivos a uma única fonte alergênica (monossensibilizados) e 120 (85,1%) foram positivos a duas ou mais fontes alergênicas (polissensibilizados). Foi observada uma média de 4,3 sensibilizações por cão. A frequência de cães sensibilizados em relação ao número de sensibilizações está demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos 141 cães em relação ao número de sensibilizações observadas. Santos, 2019

Número de extratos	Número de sensibilizações - n (%)
03	31 (22,0)
04	25 (17,7)
01	21 (14,9)
02	20 (14,2)
06	10 (07,1)
05	09 (06,4)
07	05 (03,5)
09	05 (03,5)
10	04 (02,8)
08	03 (02,1)
11	03 (02,1)
13	03 (02,1)
14	01 (00,7)
15	01 (00,7)

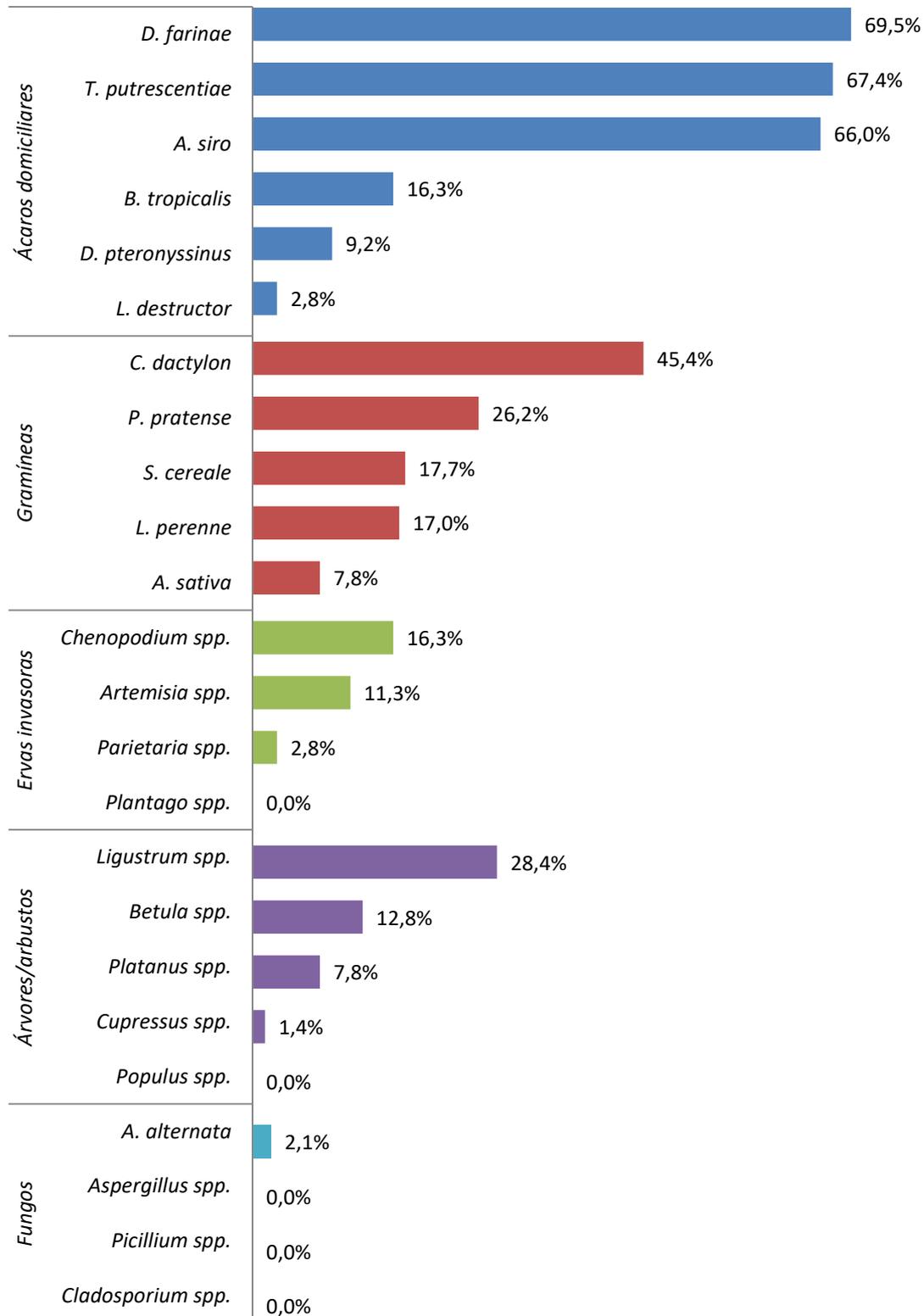
As ocorrências de sensibilizações e suas frequências relativas estão discriminadas na Tabela 4. A representação gráfica destas ocorrências encontra-se na Figura 1.

O grupo dos ácaros domiciliares foi responsável pela maior ocorrência de sensibilizações, tendo fornecido resultados positivos em 83,0% dos cães. Portanto, 117 cães apresentaram sensibilizações aos ácaros domiciliares, sendo 69,5% (n=98) positivos para *D. farinae*, 67,4% (n=95) para *T. putrescentiae*, 66,0% (n=93) para *A. siro*, 16,3% (23) para *B. tropicalis*, 7,8% (n=11) para *D. pteronyssinus* e 2,8% (n=4) para *L. destructor* (Gráfico 2).

Tabela 4 – Distribuição das sensibilizações dos 141 cães frente aos grupos e às fontes alergênicas individualizadas. Santos, 2019.

Fontes alergênicas	n (%)
Ácaros	117 (83,0)
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Pyroglyphidae)	98 (69,5)
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Acaridae)	95 (67,4)
<i>Acarus siro</i> (Acaridae)	93 (66,0)
<i>Blomia tropicalis</i> (Echimyopodidae)	23 (16,3)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Pyroglyphidae)	13 (09,2)
<i>Lepidoglyphus destructor</i> (Acaridae)	04 (02,8)
Pólen	85 (60,3)
Gramíneas	75 (53,2)
<i>Cynodon dactylon</i> (Poaceae)	64 (45,4)
<i>Phleum pratense</i> (Poaceae)	37 (26,2)
<i>Secale cereale</i> (Poaceae)	25 (17,7)
<i>Lolium perenne</i> (Poaceae)	24 (17,0)
<i>Avena sativa</i> (Poaceae)	11 (07,8)
Ervas invasoras	26 (18,4)
<i>Chenopodium</i> spp. (Amaranthaceae)	23 (16,3)
<i>Artemisia</i> spp. (Asteraceae)	16 (11,3)
<i>Parietaria</i> spp. (Urticaceae)	04 (02,8)
<i>Plantago</i> spp. (Plantaginaceae)	00 (00,0)
Árvores/arbustos	48 (34,0)
<i>Ligustrum</i> spp. (Oleaceae)	40 (28,4)
<i>Betula</i> spp. (Betulaceae)	18 (12,8)
<i>Platanus</i> spp. (Platanaceae)	11 (07,8)
<i>Cupressus</i> spp. (Cupressaceae)	02 (01,4)
<i>Populus</i> spp. (Salicaceae)	00 (00,0)
Fungos	03 (02,1)
<i>Alternaria alternata</i> (Pleosporaceae)	03 (02,1)
<i>Aspergillus</i> spp. (Trichocomaceae)	00 (00,0)
<i>Penicillium</i> spp. (Trichocomaceae)	00 (00,0)
<i>Cladosporium</i> spp. (Davidiellaceae)	00 (00,0)

Gráfico 1 – Frequências relativas das sensibilizações individualizadas por fonte alergênica, agrupadas de acordo com suas características taxonômicas. Santos, 2019.



Em relação ao grupo dos pólenes anemófilos, 60,3% dos cães (85/141) apresentaram sensibilização. Individualmente, as gramíneas foram responsáveis por 53,2% (75/141), as árvores/arbustos por 34,0% (48/141) e as ervas por 18,4% (26/141).

No grupo das gramíneas, houve positividade para todos os extratos alergênicos selecionados. As frequências observadas foram 45,4% (64/141) para *Cynodon dactylon*, 26,2% (37/141) para *Phleum pratense*, 17,7% (25/141) para *Secale cereale*, 17,0% (24/141) para *Lolium perenne* e 7,8% (11/141) para *Avena sativa*.

No grupo das árvores, a maior frequência de sensibilização foi de 28,4% (n=40) para o *Ligustrum sp*, em seguida 12,8% (n=18) para *Betula sp*, 7,8% (n=11) para *Platanus sp* e 1,4% (n=2) para o *Cupressus sp*. Não houve positividade ao *Populus sp*.

Dentro do grupo das ervas, a sensibilização mais prevalente foi para *Chenopodium spp.*, com 16,3% (n=23) de cães positivos. Em seguida, foram positivos 11,3% (n=16) para *Artemisia spp.* e 2,8% (n=4) para o extrato de *Parietaria spp.*. Não houve positividade ao *Plantago spp.*.

O grupo dos fungos foi o que apresentou a menor taxa de positividade, com apenas três cães sensibilizados (2,1%), todos exclusivamente a *Alternaria alternata*. Não houve positividade para os alérgenos de *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* e *Cladosporium spp.*.

Para os cães com idades entre um e cinco anos, foram encontrados 83,8% (65/78) de positividade ao grupo dos ácaros domésticos e 65,4% (51/78) aos grupos dos pólenes.

Cinco por cento (n=7) dos cães positivos tinham idade igual ou inferior a 12 meses. Destes, quatro apresentaram exclusivamente sensibilizações aos ácaros domésticos, um a *Cynodon dactylon* e ácaros domésticos e um mostrou-se sensibilizado para *Phleum pratense* e *Chenopodium spp.*. Neste grupo de cães jovens, a frequência para o grupo dos ácaros foi de 85,7% (n=6) e para os pólenes em geral foi de 28,6% (n=2).

Foram calculadas as frequências, absoluta e relativa, das sensibilizações simultâneas observadas entre grupos de fontes alergênicas distintas (Quadro 2).

Quadro 2 – Distribuição das ocorrências, absoluta e relativa, dos 141 cães sensibilizados simultaneamente a, no mínimo, uma fonte alergênica presente em cada um dos grupos indicados nos eixos horizontal e vertical. Santos, 2019.

	Gramíneas	Ervas invasoras	Árvores	Fungos	Pólen em geral
Ácaros	54 (38,3%)	19 (13,5%)	35 (24,8%)	01 (00,7%)	62 (44,0%)
Gramíneas		26 (18,4%)	38 (27,0%)	02 (01,4%)	
Ervas invasoras			20 (14,2%)	01 (00,7%)	
Árvores				02 (01,4%)	
Fungos					02 (01,4%)

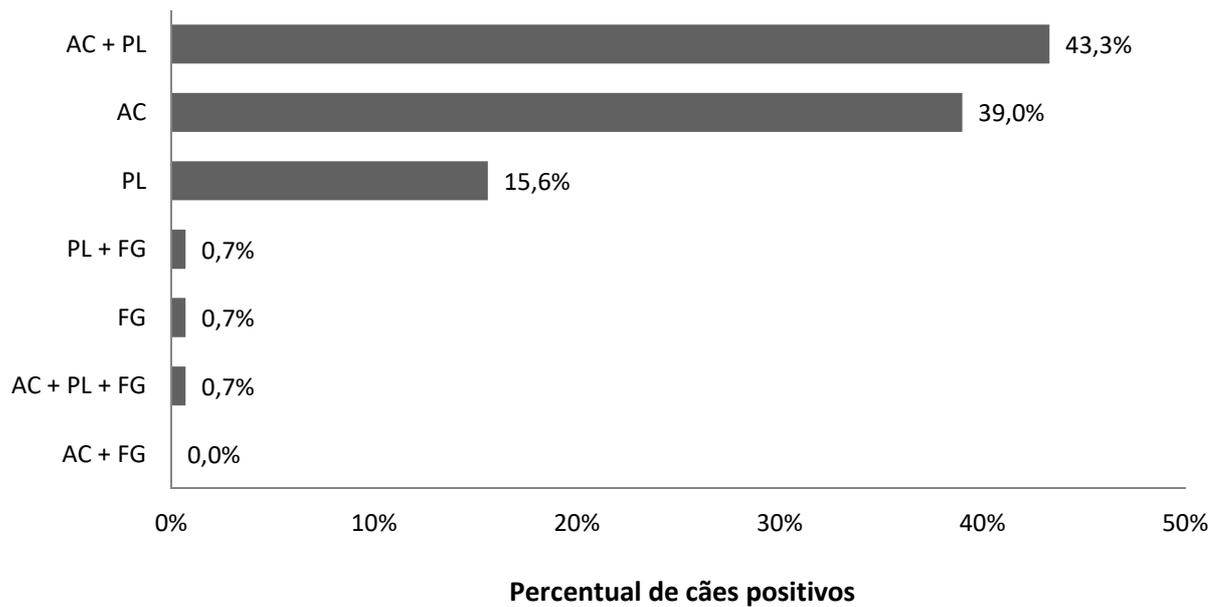
Quadro 3 – Ocorrências das sensibilizações simultâneas obtidas entre os pares dos pólenes indicados nos eixos horizontal e vertical e, entre parênteses, os coeficientes de correlação de Pearson (r)\* calculados a partir dos resultados das absorvâncias obtidas entre eles. Santos, 2019.

	LP	CD	SC	AV	AM	CP	PR	BL	LG	JN	PN
<b>PP</b>	19 (0,72)	29 (0,73)	18 (0,65)	11 (0,48)	14 (0,83)	18 (0,73)	04 (0,60)	11 (0,66)	17 (0,64)	02 (0,64)	06 (0,59)
<b>LP</b>		22 (0,69)	16 (0,88)	09 (0,74)	11 (0,72)	12 (0,79)	02 (0,40)	10 (0,65)	17 (0,65)	02 (0,62)	04 (0,47)
<b>CD</b>			20 (0,56)	09 (0,37)	15 (0,83)	19 (0,84)	03 (0,41)	14 (0,72)	30 (0,85)	02 (0,58)	07 (0,54)
<b>SC</b>				11 (0,76)	11 (0,65)	11 (0,67)	04 (0,45)	06 (0,48)	13 (0,52)	02 (0,52)	06 (0,49)
<b>AV</b>					08 (0,39)	09 (0,48)	02 (0,13)	05 (0,22)	08 (0,35)	02 (0,23)	05 (0,11)
<b>AM</b>						13 (0,84)	04 (0,67)	08 (0,78)	13 (0,78)	02 (0,76)	06 (0,70)
<b>CP</b>							01 (0,40)	10 (0,72)	17 (0,84)	02 (0,62)	05 (0,55)
<b>PR</b>								01 (0,50)	01 (0,33)	01 (0,60)	03 (0,75)
<b>BL</b>									17 (0,71)	02 (0,78)	04 (0,61)
<b>LG</b>										02 (0,52)	04 (0,47)
<b>CP</b>											02 (0,70)

Nota: PP: *P. pratense*; LP: *L. perenne*; CD: *C. dactylon*; SC: *S. cereale*; AV: *A. sativa*; AM: *Artemisia* spp.; CP: *Chenopodium* spp.; PR: *Parietaria* spp.; BL: *Betula* spp.; LG: *Ligustrum* spp.; CP: *Cupressus* spp.; PN: *Platanus* spp.. \*Foram considerados significativos os testes com  $P \leq 0,05$  para um Intervalo de Confiança (IC) de 95%.

Foram calculadas as ocorrências das sensibilizações observadas de maneira simultânea para cada par formado entre os vários pólenes testados. Paralelamente, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) a partir dos valores das absorvâncias de cada pólen para cada par observado (Quadro 3).

Gráfico 2 – Distribuição das frequências dos diferentes padrões de sensibilização observados na população de cães (n=141). Santos, 2019.



Nota: AC: grupo dos ácaros domiciliares; PL: grupo dos pólenes em geral; FG: grupo dos fungos ambientais.

Foram identificados padrões de sensibilizações de acordo com os grupos aos quais os cães apresentaram positividade, isolada ou simultaneamente (Gráfico 2). Os padrões de sensibilização mais frequentemente observados neste estudo foram de cães polissensibilizados simultaneamente a fontes alergênicas pertencentes aos grupos dos ácaros domiciliares e dos pólenes em geral (43,3%) e, em segundo lugar, de cães sensibilizados apenas ao grupo dos ácaros domiciliares (39,0%).

## 6 DISCUSSÃO

Das 24 raças arroladas no estudo, as mais representadas foram a raça Shih Tzu, Buldogue Francês e Lhasa Apso, que juntamente com os cães SRD somaram mais da metade dos animais (57,3%; n= 81). Bjelland et al. (2014) encontrou maior ocorrência em cães SRD e em Pastores Alemães; já Foster et al. (2003) referem o Boxer, o Pastor Alemão, o Labrador, o Golden Retriever e White West Highland Terrier como as mais frequentes. Kang et al.(2014) citam como principais raças o Cocker Spaniel, SRD, Yorkshire, Shih Tzu e Maltês. Em um estudo realizado em São Paulo, no Brasil, Albuquerque et al. (2016) referem como as raças mais frequentes o Shih Tzu, o Buldogue Francês e o Poodle. Se tais variações poderiam ser explicadas por preferências regionais que influenciam a prevalência de determinadas raças na população total de cães, ou por uma franca predisposição genética, não é possível afirmar. Neste estudo, as frequências observadas poderiam sugerir que os cães das raças Buldogue Francês, Lhasa Apso e especialmente o Shih Tzu, além dos SRD, tenham uma predisposição a sensibilização por alérgenos ambientais. Entretanto, assim como nos outros estudos citados, não é possível afirmar se tais ocorrências realmente apontam uma predisposição racial ou uma maior ocorrência destes indivíduos na população local.

Dos 141 cães incluídos no estudo, foram obtidos menores percentuais de machos (46,1%) em relação às fêmeas (53,9%), bem como a relação entre machos e fêmeas (M/F= 1:1,2), similar ao encontrado por Kang et al. (2014) (machos 45,5%; fêmeas 54,5%; relação M/F = 1:1,2), por Bjelland et al.(2014) (machos 51,3%; fêmeas 48,7%; relação M/F = 1:1,0) e por Foster et al. (2003) (machos 55,1%; fêmeas 44,9%; M/F= 1:1,1).

A idade dos cães, no momento da coleta de sangue, variou de 9 meses a 16 anos (mediana de 4,7), onde 61,6% exibiram idades inferiores a 5 anos. Kang et al. (2014), utilizaram cães com idades entre 5 meses a 13 anos; Mueller, Burrows e Tsohalis (1999), referem idades entre 1 a 10 anos, Foster et al. (2003), entre 6 meses a 11 anos, Nicoletti, Vandressen e Freccia (2018), entre 6 meses a 15 anos e Albuquerque et al. (2015), entre 1 a 13 anos; entretanto, estes últimos estudos não apresentaram dados sobre a média etária das respectivas populações. Kang et al. (2014), observaram que a maioria dos cães (77,6%) exibiu menos do que 5 anos de idade. Foster et al. (2003), referem que 72,0% dos animais exibiram idades entre 1 e 4 anos. De forma geral, os dados dos estudos revelam uma grande amplitude etária e maior frequência de animais adultos jovens, o que foi corroborado neste estudo.

Os cães com idades entre um e cinco anos representaram 57,4%. Tal frequência mostrou-se relativamente mais baixa do que os 77,9% observadas por Kang et al. (2014) em cães suspeitos com alergopatia. Ao analisar o grupo composto por cães com idades entre um e quatro anos, obteve-se 38,3% (n=54/141), frequência consideravelmente mais baixa da obtida por Foster et al. (2003), que foi de 72,0%. Uma possível explicação para a divergência entre os estudos pode residir no fato de que vários dos cães arrolados já haviam procurado atendimento veterinário não especializado com base nas queixas de dermatite e já colecionavam, por vezes, anos de progressão da doença antes de serem apresentados ao serviço utilizado no presente estudo, o que pode ter elevado a média etária no grupo estudado.

O grupo de cães com idade inferior a 12 meses exibiu frequência de sensibilizações frente aos pólenes diferente das observadas no grupo de cães com idade superior a 12 meses. Esta diferença poderia sugerir que, nesta população mais jovem, os ácaros domésticos poderiam ser os principais desafios ambientais para cães filhotes domiciliados. Uma possível explicação para o desenvolvimento tardio de sensibilizações aos pólenes pode ser dada pelo fato de que a maioria dos cães estudados apresentaram hábito preferencialmente *indoor*, onde é esperado que as concentrações de pólenes sejam menores em comparação com as de proteínas acarinas presentes no ambiente interno. Outra possibilidade pode estar relacionada com a função biológica de proteínas integrantes do alergoma dos principais ácaros. Alguns destes alérgenos apresentam atividade enzimática proteolítica que podem participar ativamente do processo fisiopatogênico da DAC, provocando lesões à epiderme e favorecendo ou mesmo deflagrando a sensibilização alérgica. Poderíamos supor, neste cenário, que os ácaros domésticos possam ser responsáveis pela primo-sensibilização em cães atópicos domiciliados.

Neste estudo a maioria dos cães (85,1%) apresentou-se polissensibilizada. Frequência superior aos 75,7% (28/37) encontrados por um estudo sorológico realizado no Rio Grande do Sul, Brasil, por Pereira (2015), e discretamente inferior aos 91,7% (11/12) obtidos por Nicoleti, Vandressen e Freccia (2018) em Santa Catarina, Brasil. Tais achados corroboram com a ideia de que, assim como em humanos, o estado de PS possa ser uma condição mais comum em relação a MS, também na espécie canina (PEREIRA, 2015).

Foi obtida a média de positividade de 4,3 extratos alergênicos por cão. Os demais estudos pesquisados não disponibilizaram este tipo de informação.

Ainda que a maioria dos cães tenha se mostrado PS, não é possível determinar, neste tipo de estudo, se isto se deve a CS verdadeiras ou se a sensibilizações por RC. Para tal, são necessários estudos sorológicos de competição – ELISA ou imunoblot, ambos de inibição.

Dentre as fontes alergênicas ambientais testadas, a frequência para o grupo dos ácaros domiciliares foi a mais alta observada (83,0%). Cento e dezessete cães, portanto, apresentaram IgEs específicas contra, pelo menos, uma variedade de ácaro. Entretanto, o quadro mais frequentemente observado foi o de polissensibilização dentro deste grupo, onde 68,1% apresentaram positividade contra dois ou mais tipos de ácaros, simultaneamente. Apenas 14,9% de cães foram sensibilizados a uma única variedade de ácaro.

O termo “ácaros domiciliares” ou ainda “ácaros domésticos” (ACD) é utilizado para representar o grupos que engloba os ácaros da poeira doméstica (ACP) - *Dermatophagoides farinae* e *D. pteronyssinus* - e os ácaros de estocagem (ACE) - *T. putrescentiae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro* e *Blomia tropicalis* - encontrados nos domicílios. ACE foram inicialmente identificados em depósitos de alimentos em áreas rurais, mas com o passar do tempo, invadiram os domicílios e, atualmente, são comumente encontrados junto com os AcD (CUNHA et al., 2012a).

Tradicionalmente, os ACD são considerados as fontes alergênicas mais importantes para humanos e cães (KANG et al., 2014). Na alergologia canina, isto foi inicialmente baseado no alto número de reações positivas, em testes intradérmicos, contra *Dermatophagoides farinae* e *D. pteronyssinus*. De acordo com cada região, a predominância de uma espécie sobre a outra é variável. Apesar dessas diferenças na prevalência geográfica, reações positivas a *D. farinae* são uniformemente observadas com alta frequência em testes intradérmicos (IDT). Um estudo demonstrou que cães atópicos reconheceram diversos alérgenos de *D. farinae* de diferentes pesos moleculares, demonstrando a importância desta espécie como sensibilizante para cães atópicos no Brasil (CUNHA et al., 2014). O *D. pteronyssinus* é a espécie mais comumente envolvida na alergia humana em muitos países (FOSTER et al., 2003; SKIN et al., 2000). Requer maior umidade e não é capaz de sobreviver a longos períodos secos, bem como o *D. farinae*. A predominância ambiental de cada um varia consideravelmente entre regiões geográficas (HILLIER; KW; PINCHBECK LR, 2000).

Muitas espécies de ácaros astigmatídeos como *A. siro*, *T. putrescentiae*, *B. tropicalis* e *L. destructor*, que são filogeneticamente relacionados aos ácaros da poeira doméstica *D. farinae* e *D. pteronyssinus*, são sabidamente sensibilizantes e indutores de reações alérgicas em humanos. Estes ácaros e seus produtos imunogênicos podem contaminar as rações secas.

Eles também podem invadir e crescer em algumas rações após a abertura dos sacos. Em ambos os casos, a ingestão dos ácaros e seus produtos pode sensibilizar e induzir reações alérgicas em cães, assim como em humanos (ARLIAN et al., 2003).

As condições climáticas da região estudada são bastante favoráveis ao desenvolvimento de ácaros, ao longo de todo o ano.

Sessenta e nove e meio por cento dos cães apresentaram sensibilização ao *D. farinae* e apenas 9.2% ao *D. pteronyssinus*. Tal perfil da pode ser comparado aos obtido por Skin et al. (2000) que obtiveram 34% e 14%, respectivamente; por Pereira (2015) que relatou 86.5% e 29.7%, respectivamente e por Foster et al. (2003) com 55.8% e 14.0%, respectivamente. Todos estes estudos demonstraram a superioridade na taxa de sensibilização ao *D. farinae* em relação ao *D. pteronyssinus*. Este estudo corrobora, portanto, com outros que evidenciam uma frequência maior de sensibilização ao *D. farinae* em comparação com *D. pteronyssinus* (FOSTER et al., 2003).

Observou-se, ainda, que a frequência de sensibilização ao *D. pteronyssinus* obtida neste estudo parece ser a mais baixa em relação às documentadas em outros estudos. De acordo com as características biológicas do *D. pteronyssinus*, mais adaptado a altos índices de umidade relativa, poderíamos esperar uma alta representatividade nas suas taxas de sensibilização. Entretanto, não foi o que se observou neste estudo. Uma possível explicação pode estar relacionada a condições específicas dos ambientes *indoor*. De fato, a umidade do microclima dos ácaros (colchões e sofás, p.ex.) não se correlaciona necessariamente bem com a umidade do macroclima.

Caso isto não reflita uma baixa prevalência ambiental deste ácaro, tal resultado poderia ser explicado com base na composição alergênica do extrato de *D. pteronyssinus* utilizado, o que pode ter privilegiado a especificidade em detrimento da sensibilidade nos resultados obtidos.

Estudos em humanos e cães revelaram ampla RC entre *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. siro*, *T. putrescentiae* e *L. destructor*. Corroborando isto, um estudo realizado na Alemanha, apontou que os ácaros de armazenamento são demonstrados com menor frequência em amostras coletadas de poeira doméstica e não puderam ser demonstrados em sacos abertos contendo ração seca. Juntos, esses dados suportam a existência de RC entre esses alérgenos (ROOSJE, 2010). Alérgenos principais e secundários distintos foram demonstrados, mas é provável que a maioria dos extratos contenha uma variedade de alérgenos com epítomos compartilhados (BUCKLEY et al., 2013). Isto poderia explicar a

ocorrência de 77,0% (81/117) de sensibilizações simultâneas a *D. farinae*, *T. putrescentiae* e *A. siro* obtida neste estudo. Tal frequência foi ainda superior aos 65,0% observados no estudo de Mas e Alvarez (2015) que, utilizando ensaios de ELISA de inibição, demonstraram uma alta capacidade inibitória dos três extratos, revelando uma alta RC entre essas três espécies de ácaros, embora com pequenas diferenças, o que poderia explicar a alta concordância de positividade observada neste estudo. Ainda que a ocorrência de RC entre eles seja provável, Foster et al.(2003) identificaram um grupo de cães com resultados positivos no IDT para alérgenos do *T. putrescentiae*, sem reações ao *Dermatophagoides spp.* Tal situação também foi observada nesta pesquisa em 12 de 94 cães positivos ao *T. putrescentiae* (12,8%), em relação ao *D. farinae* e nenhum em relação ao *D. pteronyssinus*. Isto reforça a hipótese de que o extrato de *T. putrescentiae* deve exibir seus próprios alérgenos principais. Foi observado, também, que apenas quatro de 93 cães positivos ao *A. siro* (4,3%) não apresentaram sensibilidade simultânea ao *T. putrescentiae* ou ao *D. farinae*, sugerindo que apesar da possível presença de alérgenos exclusivos neste extrato, sua frequência de positividade total possa estar mais relacionada à RC com os outros dois extratos.

Em relação ao extrato do ácaro *B. tropicalis*, observou-se uma positividade de 16,3%. Este resultado foi similar ao obtido por Cunha et al.(2007), de 12,0% (3/25); entretanto, bem inferior ao obtido por Pereira (2015) de 48,6% (8/37) e por Nicoletti, Vandressen e Freccia (2018) com 67,0% (8/12). Tal divergência de resultados poderia ser atribuída às diferenças metodológicas ou nas diferenças de prevalência deste ácaro nestes ambientes. Os ácaros de *Blomia tropicalis* são frequentemente encontrados em residências de áreas tropicais e subtropicais. Alguns antígenos desta espécie são reconhecidos como uma importante causa de reações alérgicas em humanos, mas seu papel na DAC ainda é pouco conhecido (CUNHA et al., 2012b). Neste estudo, o extrato de *B. tropicalis* revelou uma menor importância na sensibilização dos cães da região.

Estudos sobre a composição da acarofauna local ou da determinação de alérgenos ambientais específicos para cada uma das espécies de ácaros, através de métodos imunológicos (LOWENSTEIN et al., 1986), devem ser encorajados para melhor compreensão das observações deste estudo.

A sensibilização de cães com DA contra vários alérgenos derivados de plantas, como árvores, grama e pólen de ervas invasoras, está bem documentada (MUELLER et al., 2016). A exposição ao pólen depende da distribuição de espécies de plantas locais; assim, as diferenças geográficas permitem sensibilizações distintas (JENSEN-JAROLIM et al., 2015).

Neste estudo, em relação ao grupo dos pólenes em geral, observou-se grandes variações individuais, considerando gramas, ervas e árvores. Observou-se maior frequência de sensibilizações para o grupo das gramíneas (45,5%), seguida pelo grupo das árvores (34,0%) e das ervas invasoras (18,4%). Tal distribuição coincide com o que foi observado por Buckley et al. (2013).

A ampla distribuição de espécies de gramíneas, em geral, juntamente com a alta alergenicidade atribuída a elas, explicam por que essas espécies constituem a principal causa de polinose (termo cunhado para referir doença alérgica causada por pólenes) em todo o mundo, para humanos (DAMIALIS; KONSTANTINO, 2011). Evidência de uma comunidade de epítomos alergênicos na subfamília *Pooideae* de pólen de gramíneas também foi encontrada em cães (MARTINS et al., 2017). Isto corrobora os estudos sobre sensibilização aos pólenes na DAC que sugerem a existência de alérgenos comuns em pólen de grama e, em menor grau, pólen de plantas daninhas e árvores (BUCKLEY et al., 2013).

A principal sensibilização neste grupo foi obtida em relação à *Cynodon dactylon*. Observamos 45,4% de positividade, o que concorda com os resultados obtidos por Foster et al. (2003), Kang et al. (2014) e Pereira (2015), que observaram 46,5%, 41,2% e 42,4% de positividade, respectivamente. A grama Bermuda (*C. dactylon*) é uma grama perene. É comum em várias regiões do Brasil e, às vezes, é semeada como gramado. Esta espécie produz uma quantidade moderada de pólen. Poucos são os estudos de sensibilização alérgica ao *C. dactylon* em cães (PEREIRA, 2015; SKIN et al., 2000). Pelo conhecimento do autor, não existem estudos relevantes sobre seu papel na patogenia da DAC. Entretanto, assim como descrito por Pereira, 2015, *C. dactylon* parece ser importante na sensibilização de cães na região sul do Brasil e, possivelmente, como aponta nosso estudo, também na região da Baixada Santista, uma vez que é uma planta bem adaptada e distribuída em diversas regiões do país.

A frequência observada para ambas as gramíneas, *Phleum pratense* e *Lolium perenne* (17,7% e 17,0%, respectivamente) foram razoavelmente próxima às observadas por Foster et al. (2003) de 20,2% e 22,4% e por Kang et al. (2014) de 24,8% e 26,7%, respectivamente. Entretanto, diferiram consideravelmente das descritas por Pereira (2015), que obteve 5,9% para ambas. Este último estudo utilizou o mesmo teste de IgE específico utilizado nesta pesquisa, o P.E.T Elisa® (Alergovet, Espanha). Tal discrepância poderia ser atribuída a diferença amostral entre os dois estudos e/ou a variação regional sugerindo uma menor prevalência de alérgenos de *P. pratense* e de *L. perenne* na região sul do país. Não foram

encontradas informações precisas sobre a distribuição fitogeográfica destas gramíneas. Novos levantamentos na região do estudo de Pereira (2015) com um número maior de animais, poderiam auxiliar a elucidar se existe uma real variação ambiental entre as duas regiões brasileiras ou se consiste de viés analítico.

Observou-se positividade de 17,7% para a gramínea *Secale cereale*; no entanto, não foram encontrados outros estudos sobre frequência de sensibilização deste alérgeno em cães, que permitissem uma análise comparativa. Ainda que a frequência obtida em nosso estudo possa sugerir tratar-se de uma fonte alergênica importante para cães na região, não foi possível determinar se existe de fato uma relação causal ou se foi devido à RC com outras gramíneas relacionadas, fato comum entre as poáceas. Neste estudo foi possível notar uma alta correlação entre *S. cereale* e *L. perenne* ( $r = 0,88$ ;  $P \leq 0,05$ ), o que pode sugerir a participação de RC entre elas.

A positividade para *Avena sativa* observada foi de 7,8%, próxima aos 5,9% observados por Pereira (2015). Ainda que relativamente relevantes em nosso estudo, as sensibilizações aos pólenes de cereais (*S. cereale* e *A. sativa*) não puderam ser comprovada com segurança usando apenas extratos de pólen de cereais, uma vez que contêm epítomos semelhantes aos alérgenos do pólen de grama. A sensibilização genuína ao pólen de cereais pode ser garantida apenas em nível molecular (DAMIALIS; KONSTANTINO, 2011). Não foram encontrados estudos desta natureza para a espécie canina.

Em humanos, várias associações foram descritas entre pólenes de árvores e plantas e certos alimentos de origem vegetal (ENRIQUE et al., 2002; MIRALLES et al., 2002). Este tipo de associação é pouco estudado para a espécie canina.

Em nosso estudo, 11 cães (7,8%) apresentaram sensibilização ao *Platanus* spp.. As árvores do plátano (*Platanus* spp.) são típicas dos climas subtropical e temperado e, portanto, adaptadas a temperaturas mais baixas, diferentemente do que ocorre na região do estudo. A ausência de causalidade óbvia sugere que tais sensibilizações sejam, na verdade, resultados de RC. Em um dos cães positivos para o *Platanus* spp., frente à ausência de uma relação causal óbvia, o tutor foi submetido a um detalhado questionário sobre os hábitos de alimentação do paciente, tendo sido constatada a utilização frequente de banana (*Musa* spp.) como engodo para administração de medicação regular. Em humanos, foi descrita uma correlação alergênica positiva entre o pólen de *Platanus* spp. e banana, confirmada por experimentos de inibição que indicaram uma RC importante entre estas duas fontes alergênicas (MIRALLES et al., 2002). A banana foi suspeita como uma possível fonte alergênica com potencial de RC

com o plátano, em extrapolação ao que ocorre com pacientes humanos. O cão foi submetido à prova de restrição dietética, eliminando-se exclusivamente a banana, pelo período de oito semanas, e após este período foi notada a remissão completa dos sintomas (prurido e lesões). A reexposição à banana foi realizada durante duas semanas, tendo no dia 15 apresentado a recidiva do quadro clínico, com aumento no prurido e ressurgimento das lesões, principalmente em região perilabial, periocular, pescoço, patas e ouvidos. Novamente excluída a banana da dieta, repetiu-se a remissão completa dos sintomas, mantendo-se estável o quadro clínico.

Estudos de RC entre pólen e alimentos em veterinária são escassos. A identificação da síndrome oral em cão produzida pela reação cruzada entre o pólen do cedro-japonês (*Cryptomeria japonica*) e o tomate (*Lycopersicon esculentum*), identificada por Fujimura et al.(2002), possivelmente tenha sido a primeira a ser descrita para a espécie canina. Ao que se conhece, não existem outros relatos de DAIA em cães exacerbada por *Musa* spp.. Acredita-se que este seja o primeiro relato de caso da ocorrência de DAC induzida por alimento com a ocorrência de sensibilização cruzada entre pólen e fruta, envolvendo o *Platano* spp. e a banana (*Musa* spp.). No entanto, a associação entre alergia alimentar e atopia necessita de mais estudos, tanto para cães quanto para outros animais (MARTINS; BENTO; INÁCIO, 2016).

Observou-se uma frequência relevante para o *Ligustrum* spp. (28,4%) similar ao verificado por Kang et al. (2014) (29,2%). O *Ligustrum* spp. é um espécime arbóreo/arbustivo, não endêmico do Brasil, mas naturalizado, e tem sua ocorrência confirmada nos estados da região sudeste e sul do país.. Entretanto, não foi possível confirmar a presença do *Ligustrum* spp. em nosso meio. O pólen do *Ligustrum* spp. pode induzir asma, rinite alérgica e conjuntivite alérgica em humanos, mas não é considerada uma planta com potencial alergênico importante, pois a polinização é principalmente dependente de insetos, e o pólen não é encontrado em altos níveis no ar (LICCARDI; D'AMATO, M.; D'AMATO, G., 1996). Não foram encontrados estudos sobre seu potencial alergênico para a espécie canina. É esperada uma ampla RC entre as diferentes espécies individuais do gênero, e até certo ponto entre os membros da família *Oleaceae*, a qual pertence. Foi relatado, ainda, que o pólen do *Ligustrum* spp. exibe RC com os pólenes das gramíneas da família *Poaceae* em humanos (BALDO et al., 1992). Dos 40 cães sensibilizados ao *Ligustrum* spp. neste estudo, 87,5% (35/40) apresentaram sensibilização simultânea a um ou mais extratos do grupo das gramíneas. Obtivemos 27,3% de CS entre *Ligustrum* spp. e *C. dactylon* e uma correlação

importante ( $r = 0,85$ ;  $P \leq 0,05$ ). É provável que as sensibilizações observadas ao *Ligustrum* spp. possam estar associadas, em grande parte, a RC com poáceas.

Acredita-se que este tenha sido o primeiro relato de sensibilização ao *Ligustrum* spp. na espécie canina; entretanto, estudos clínicos, fitogeográficos e de RC são necessários para compreensão deste achado.

Em relação à *Betula* spp. foi obtida sensibilização em 12,8% dos cães. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Pereira (2015) (11,8%) e por Bjelland et al. (2014) (16,5%). É esperada RC entre pólen de espécies da família *Betulaceae* ou pertencentes a famílias estreitamente relacionadas. Em humanos, também foi observada RC entre artemísia, pólen de bétula e aipo (YMAN, 1982). Não foram encontrados estudos sobre a RC do alergoma de *Betula* spp. em cães. Dos cães sensibilizados a *Betula* spp., 44,4% (8/18) foram também positivos para *Artemisia* spp.. Dos cães sensibilizados a *Artemisia* spp., 50,0% (8/16) também se mostraram positivos para *Betula* spp.. Foi obtida uma correlação alta entre os dois ( $r = 0,78$ ;  $P \leq 0,05$ ). Tais resultados sugerem que, ainda que exista RC entre ambos os extratos, os extratos utilizados no estudo provavelmente contenham alérgenos próprios em seus repertórios.

Apenas 1,4% das amostras apresentou positividade ao *Cupressus* spp., valor consideravelmente inferior ao observado por Kang et al. (2014) de 17,8%. Provavelmente, tal discrepância deve-se a questões fitogeográficas, uma vez que coníferas não integram a paisagem da região do estudo. Nota-se, ainda, que nas únicas ocorrências de positividade ao *Cupressus* spp. (2/141) foram observadas intensa PS com vários outros pólenes e ácaros, sugerindo provável sensibilização por RC a panalérgenos.

Não obteve-se positividade ao *Populus* spp. em nenhuma das amostras analisadas. As árvores deste gênero são características das florestas boreais, mas também são encontradas em regiões mais temperadas e não ocorrem naturalmente no Brasil (“REFLORA”, 2019). Não foram encontrados estudos de sensibilização ao *Populus* spp. para a espécie canina.

Foi obtido 18,4% de sensibilizações ao grupo das ervas invasoras. Skin et al. (2000) encontrou positivities em 25,3%. A comparação entre estes dados apresenta a limitação de que os grupos analisados são heterogêneos em sua composição. De fato, ao contrário dos ácaros ou das gramíneas, não parece haver um consenso sobre a seleção de ervas invasoras. Em relação ao estudo de Skin et al. (2000) não foi possível uma comparação individual, pois não foram disponibilizadas as frequências individuais.

Neste grupo, obteve-se a maior positividade (16,3%) para *Chenopodium* spp., cuja frequência foi similar a obtida por Foster et al. (2003) (17,2%), inferior à obtida por Kang et al. (2014) (35,6%) e superior à relatada por Pereira (2015) (5,9%). Trata-se de uma herbácea naturalizada, não endêmica do Brasil, mas com ocorrências confirmadas nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, e pertence aos domínios fitogeográficos da Caatinga, Cerrado e da Mata Atlântica. É uma das plantas daninhas mais disseminadas do planeta, pois produz anualmente grande quantidade de sementes (“REFLORA”, 2019). Ainda que não existam dados oficiais disponíveis sobre a prevalência, o gênero compreende plantas popularmente conhecidas como erva-de-santa-maria e mastruz, que são ervas ocorrentes na região do estudo. Pode-se esperar uma ampla RC entre as diferentes espécies individuais do gênero, e até certo ponto entre os membros da família *Chenopodiaceae* (YMAN, 1982). A família de proteínas tipo Ole e 1, que pode resultar em vários graus de RC para humanos, compreende vários membros alergênicos entre os quais Lig v 1 de *Ligustrum* sp, Che a 1 de *Chenopodium álbum*, Lol p 11 de *Lolium perenne* e Phl p 11 de *Phleum pratense*. Neste estudo, observou-se sensibilizações simultâneas do *Chenopodium* spp. em relação a *C. dactylon*, a *P. pratense*, ao *Ligustrum* spp. e ao *L. perenne*, nas frequências de 82,6% (19/23;  $r = 0,84$ ;  $P \leq 0,05$ ), 78,3% (18/23;  $r = 0,73$ ;  $P \leq 0,05$ ), 73,9% (17/23;  $r = 0,84$ ;  $P \leq 0,05$ ) e 52,2% (12/23;  $r = 0,79$ ;  $P \leq 0,05$ ), respectivamente. De acordo com tais frequências seria possível supor que possa haver RC entre o *Chenopodium* spp. e os demais; entretanto, não foram encontrados estudos sobre tais RC em cães.

Foi obtida frequência de 11,3% (16/141) de positividade ao extrato de *Artemisia* spp. enquanto Pereira (2015) obteve 17,6% (1/17). Apesar da diferença entre as amostragens dos estudos, o padrão de sensibilização ainda assim mostrou-se similar. Não foram encontrados estudos de sensibilização ou RC para *Artemisia* spp. na espécie canina. Entretanto, entre os cães positivos para *Artemisia* spp., 93,8% (15/16) apresentaram sensibilização simultânea com o extrato de *Cynodon dactylon*, com alto coeficiente de correlação ( $r = 0,83$ ;  $P \leq 0,05$ ). Neste estudo não foi possível determinar se tais sensibilizações significam RC ou CS.

Uma frequência de sensibilização menor foi obtida para o extrato de *Parietaria* spp., de 2,8%. Em seu estudo, Pereira (2015) não obteve positividade a este extrato (0/17). Aparentemente, para ambas as regiões, a *Parietaria* spp. não parece ser um fator de sensibilização importante para cães.

Não foi obtida positividade para o extrato do *Plantago* spp.. Tal erva é nativa do Brasil e tem sua ocorrência confirmada em todas as regiões. Nenhum dos demais estudos avaliou as

taxas de sensibilização a esta fonte alergênica e nenhum estudo comprova a alergenicidade do *Plantago* spp. para a espécie canina.

De maneira geral, considera-se que as sensibilizações aos esporos de fungos anemófilos sejam relativamente comuns (KANG et al., 2014). Entretanto, obteve-se frequências muito baixas, apenas 2,1% para *Alternaria alternata* enquanto não houve positividade ao *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Cladosporium* spp.. Resultado similar foi obtido por Mueller (1999) ao avaliar a sensibilização fúngica por teste sorológico (Immunodot®) e por IDT em 49 cães suspeitos com DAC, onde não houve positividade aos testes sorológicos para nenhum dos soros testados, enquanto ao IDT dois cães reagiram a dois fungos cada, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., e um cão reagiu a *A. alternata*. Mueller (1999) concluiu em seu estudo que tais resultados indicaram uma baixa sensibilidade dos testes sorológicos aos fungos (0/5, 0,0%) enquanto a especificidade foi de 100% (191/191) – tendo ele considerado o IDT como teste padrão ouro para suas conclusões. Entretanto, atualmente o conceito de prova padrão-ouro para diagnóstico alergológico caiu em desuso. Ambas as técnicas apresentam limitações. Assim, se as positivities encontradas por Mueller (1999) ao IDT foram devidas a sensibilização verdadeira ou a falsos positivos em função de reações irritativas (uma vez que, especialmente à época do estudo, não existia padronização biológica para cães para os extratos por ele utilizados), ao invés de hipersensibilidade, permanece como especulação.

Estes resultados também estão de acordo com os encontrados por FOSTER et al., 2003 de baixa frequência de sensibilizações aos extratos fúngicos testados (2,6% para *Alternaria alternata*; 0,7% para *Aspergillus* spp.; 0,7% para *Cladosporium* spp.) sendo o único resultado discordante a sensibilização ao *Penicillium* spp. de 4,6%. Estudos sugerem que o *Penicillium* spp. possua epítomos alergênicos únicos (BUCKLEY et al., 2013). A ausência destes alérgenos no extrato utilizado neste estudo poderia explicar a diferença entre os resultados.

Por outro lado, no estudo de NICOLETI, 2018, realizado em Santa Catarina, BR, utilizando IDT em 12 cães, foi encontrada positividade para *Cladosporium* spp. de 41,6% (5/12). Esta discrepância pode ser explicada por diferenças metodológicas, características dos extratos utilizados, ou por possíveis variações regionais da micobiota (grupo de todos os fungos presentes em uma região geográfica específica ou tipo de habitat). De acordo com relatos prévios, a sensibilidade dos testes sorológicos para IgEs específicas contra fungos é inferior quando comparada aos testes intradérmicos, o que os tornaria menos confiáveis para a detecção de hipersensibilidades aos fungos (FOSTER et al., 2003; MUELLER; BURROWS;

TSOHALIS, 1999). A menor sensibilidade do teste sorológico poderia ser explicada pela ausência de moléculas alergênicas relevantes para a espécie canina nos extratos alergênicos utilizados; por outro lado, a maior positividade obtida nos testes cutâneos poderia estar relacionada com reações cutâneas irritativas (não alérgicas) proporcionada pela presença de concentrações normalmente elevadas de enzimas proteolíticas verificadas naturalmente nos extratos alergênicos fúngicos. Isto porque geralmente os extratos alergênicos utilizados para testes cutâneos carecem de padronização biológica para a espécie canina e estudos de limiar irritativo.

Para uma melhor acurácia do teste é de extrema importância a detecção do limiar irritativo dos extratos alergênicos, que devem ser previamente avaliados em cães saudáveis (PEREIRA et al., 2015). Para determinar a diluição a ser utilizada nos IDT para cada extrato alergênico, estes devem ser usados até um limiar de concentração correspondente à maior concentração que não cause uma reação irritante em animais não atópicos, ou seja uma reação falso-positiva (HILLIER; DEBOER, 2001). Este limiar deve ser estabelecido usando diluições seriadas em cães não atópicos e ajustando as concentrações, de forma a que não sejam registradas reações falso-positivas em mais de 10% de cães normais (REEDY; MILLER; WILLEMSE, 1997).

Entretanto, a padronização de extratos fúngicos pode ser desafiadora. A razão principal se deve a grande variação na expressão de proteínas dos fungos, em função da fase do ciclo do seu desenvolvimento e do tipo de substrato de cultivo.

Fungos potencialmente alergênicos podem estar presentes em grandes quantidades no ar, tanto em ambientes externos quanto internos. Em ambientes internos a oferta de nichos ecológicos favoráveis é superior ao ofertado naturalmente em ambientes externos, resultando em maior sensibilização específica dos pacientes (LOWENSTEIN et al., 1986).

Foi demonstrado em um estudo que o conteúdo do alérgeno principal Alt-1 de *Alternaria* spp., bem como outros alérgenos de *Aspergillus* spp. poderiam ser maior no micélio do que nos esporos (LOWENSTEIN et al., 1986). Isto poderia explicar porque, mesmo em ambientes com risco de desenvolvimento destes fungos, os níveis de sensibilização podem ser mais baixos, o que corroboraria com os dados obtidos neste estudo e nos de FOSTER et al., 2003 e MUELLER, 1999.

Existem poucos estudos específicos sobre alérgenos de fungos (BUCKLEY et al., 2013). Inexistem estudos sobre RC entre fungos para a espécie canina e, tampouco, estudos sobre a importância clínica destes alérgenos fúngicos na DAC. Estudos em humanos,

demonstram que as reações clínicas a alguns alérgenos foram amplamente independentes de outras em seus grupos. Inclui-se aqui a reação clínica ao *Penicillium* spp.. Isso pode sugerir que este possua epítomos alergênicos únicos, mas também é possível que induzam reações irritantes e não alergênicas em alguns cães (BUCKLEY et al., 2013).

Levantamentos de fungos em ambientes internos baseados em técnicas microscópicas são um complemento importante para as investigações clínicas. A demonstração e identificação de fungos podem servir a vários propósitos. Em geral, eles dão uma ideia da exposição específica para os diferentes gêneros de fungos (LOWENSTEIN et al., 1986). Estudos desta natureza devem ser encorajados para possibilitar uma melhor compreensão do perfil de sensibilização dos cães na região do estudo.

De modo geral, os perfis de sensibilização individuais apresentados pelos cães neste estudo permitiram identificar alguns padrões recorrentes. Os padrões de sensibilização mais frequentemente observados foram de cães polissensibilizados simultaneamente a fontes alergênicas pertencentes aos grupos dos ácaros domiciliares e dos pólenes em geral e, em segundo lugar, de cães sensibilizados apenas ao grupo dos ácaros domiciliares. Apenas 15,6% dos cães apresentaram-se sensibilizados exclusivamente aos pólenes em geral.

O estudo realizado por BJELLAND et al., 2014, na Noruega, demonstrou que a relação entre a região geográfica do cão e os resultados das frequências de sensibilizações foram estatisticamente significativas. Cientes disto procuramos neste estudo, produzir dados que pudessem auxiliar na seleção dos alérgenos ambientais relevantes para a população local e na composição assertiva da ASIT; mais do que isto, que pudessem produzir dados que auxiliem a compreender a distribuição destes alérgenos, entre diferentes regiões do país.

É importante ressaltar que alguns pesquisadores consideram a comparação direta entre IDT e resultados de SAT para IgE específica, por vezes impossível, uma vez que as duas técnicas detectam IgE de diferentes sítios, envolvem mecanismos fisiopatogênicos distintos, frequentemente utilizam extratos de origens diferentes, além das próprias variações metodológicas que implicam diretamente nas especificidade e sensibilidade de ambos (KANG et al., 2014). Neste contexto, vários fatores devem ser considerados: (i) testes cutâneos e testes sorológicos têm como alvo diferentes componentes de uma resposta de IgE a um alérgeno - a reação do teste cutâneo demonstra IgE ligada ao mastócito via FcεRIa ao passo que um ensaio *in vitro* mede a IgE sérica circulante; (ii) a meia-vida desses anticorpos varia em função do destes sítios - por exemplo, em humanos, a IgE ligada a mastócitos tem uma meia-vida de até 14 dias em comparação com 2 a 3 dias para IgE sérica (Ishizaka e Ishizaka,

1975); (iii) demonstrou-se, ainda, haver vários tipos de IgE canina (IgEs heterogêneas) que possuem propriedades biológicas e de detecção diferentes.

Da mesma forma, outros pesquisadores consideram desafiadora até mesmo a comparação dentro dos próprios SATs, o que foi demonstrado por um estudo que analisou os resultados fornecidos por quatro laboratórios norte-americanos diferentes, concluindo haver um baixo nível de concordância entre eles (PLANT et al., 2014). Entretanto, tal estudo apresentou a limitação de ter utilizado apenas 10 cães.

Com base no que foi discutido, não seria surpreendente se os resultados de um SAT não se correlacionassem rigorosamente com os de um IDT. Ainda assim, alguns estudos demonstram forte correlação entre eles, especialmente em relação a determinadas fontes alergênicas (MARTINS et al., 2017).

Atualmente, uma nova geração de testes sorológicos está começando a ser utilizados na rotina veterinária, com a capacidade de eliminar as IgEs anti-CCDs. Eliminando a interferência das CCDs o resultado *in vitro* aproxima-se mais ainda do resultado *in vivo*, obtido mediante IDT (comunicação pessoal)<sup>1</sup>. Ademais, um estudo preliminar mostrou que a alta porcentagem de reações positivas no SAT estava associada a anticorpos anti-CCD IgE e que a concordância com o IDT pode ser acentuadamente aumentada ao bloquear esses anticorpos. Esta nova modalidade de SAT facilita a seleção de alérgenos para a ASIT e é mais confiável que o teste sérico de rotina sem inibição da IgE anti-CCD. No entanto, para ambos os métodos de teste, os resultados ainda devem ser interpretados à luz da história clínica do paciente (GEDON et al., 2019).

Neste estudo, apesar das diferenças metodológicas entre alguns dos trabalhos aqui referenciados, foi possível confirmar que - a exceção de algumas poucas fontes alergênicas sujeitas a forte influência fitogeográfica - o perfil de sensibilização dos cães suspeitos com DA concorda com o que tem sido consistentemente apresentado pela literatura mundial.

Ainda que os estudos realizados no Brasil (BOTONI et al., 2012; CUNHA et al., 2014, 2007, 2012b; NICOLETI; VANDRESSEN; FRECCIA, 2018; PEREIRA et al., 2015), venham contribuindo para a compreensão do perfil de sensibilização na população dos nossos cães, ainda são discretos em termos de amostragem e bastante heterogêneos em relação as

---

<sup>1</sup> ALVAREZ, J., gerente de laboratório, pesquisa e desenvolvimento da empresa Alergovet, Madrid, Espanha. **Nome científico** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <allergenbrasil@gmail.com> em 11 set. 2019.

metodologias empregadas. Mais estudos e com amostragens mais representativas devem ser encorajados.

Ainda que existam variações entre os métodos utilizados por diferentes laboratórios no tocante a realização dos testes sorológicos, constatou-se neste estudo que, de maneira geral, os resultados fornecidos por eles foram passíveis de comparação. Em relação ao teste sorológico como ferramenta, podemos reafirmar sua utilidade para estudos desta natureza em função de sua simplicidade na obtenção de amostras, por não exigir habilidade específica e por não depender de subjetividade para a interpretação dos resultados.

Um ponto importante a ser considerado na interpretação dos testes sorológicos para detecção de IgE específica se refere aos pontos de corte (“*cut offs*”). Deve-se ter em mente que as reações biológicas dos cães aos alérgenos variam em uma escala contínua. Apesar disto, frequentemente são categorizadas nesses sistemas de teste – SAT ou IDT - como positivas ou negativas. Segundo FOSTER et al., 2003, o ato de determinar os valores de ponto de corte ideal para maximizar a sensibilidade "diagnóstica" específica talvez não seja apropriado para a análise de anticorpos IgE específicos para alérgenos. Afinal, estes são testes de sensibilização, não doença. No entanto, para o propósito deste estudo optamos por seguir a recomendação do laboratório com relação a forma de interpretação dos resultados. Seguimos os *cut offs* recomendados de acordo com as leituras de absorbâncias. Uma das razões foi facilitar a comparação com outros estudos que, tradicionalmente, reportam resultados e realizam suas análises com base na dicotomia “positivo/negativo”. Foram considerados “positivos” todos os valores iguais ou superiores a 200 ABS excluindo assim os valores entre 150 e 199 ABS considerados, pelo laboratório, como “duvidosos”; tal decisão visou maior rigor na interpretação dos resultados, o que provavelmente influenciou negativamente nos valores das frequências obtidas.

As características das sensibilizações demonstradas neste estudo ressaltam o papel dos ácaros domiciliares como importantes fontes sensibilizantes *indoor* para a espécie canina, em detrimento de outras fontes menos importantes encontradas no meio externo - *outdoor*. Talvez isto signifique que, em ambientes urbanizados, os hábitos de vida sejam mais importantes do que as características edafoclimáticas em si.

O teste sorológico utilizado foi capaz de detectar sensibilizações em 141 dos 191 cães testados (73.8%). Houve positividade para 19 dos 24 extratos alergênicos utilizados (79,1%). Com base nestas frequências, o teste provou-se útil para o estudo da sensibilização da maioria das fontes alergênicas testadas em cães suspeitos com DAC na região da Baixada Santista,

SP. Os extratos de espécies arbóreas sujeitas a influências climatogeográficas claras, como no caso do *Populus sp* e do *Cupressus sp*, não influenciaram nos resultados obtidos e, desta forma, sua inclusão no painel alergênico direcionado a esta região não é importante. Em relação aos fungos, mais estudos são necessários para definir a real necessidade de incluí-los neste tipo de teste.

## 7 CONCLUSÕES

O grupo dos ácaros domiciliares foi o responsável pelas maiores frequências de sensibilizações. O *D. farinae*, o *T. putrescentiae* e o *A. siro* foram as principais fontes alergênicas dentre os ácaros, enquanto *B. tropicalis* e *D. pteronyssinus* foram sensibilizantes para pequena parcela dos cães e o *L. destructor* não foi importante.

A sensibilização aos pólenes foi menor do que aos ácaros e representada em grande parte pelas gramíneas, com destaque para a *Cynodon dactylon*.

É possível que a sensibilização à *C. dactylon* interfira nas sensibilizações de outras plantas devido a reatividade cruzada na espécie canina.

A sensibilização ao pólen da árvore do gênero *Platanus* spp. pode estar associada a alergia alimentar envolvendo alimentos de origem vegetal, em cães.

A sensibilização ao pólen da árvore do gênero *Ligustrum* spp. foi uma particularidade deste estudo, entretanto não foi possível determinar se devido a uma característica fitogeográfica local ou reatividade cruzada com outras fontes.

Houve moderada sensibilização ao extrato da erva invasora *Chenopodium* spp. com provável relação de causalidade na região.

A sensibilização por fungos foi irrelevante para os cães do presente estudo.

O perfil de sensibilizações observado, no geral, assemelhou-se ao de algumas regiões do Brasil e do mundo.

As fontes alergênicas *indoors* exerceram maior influência sobre o perfil de sensibilizações.

Os padrões de sensibilização mais frequentemente observados neste estudo foram de cães polissensibilizados simultaneamente a fontes alergênicas pertencentes aos grupos dos ácaros domiciliares e dos pólenes em geral e, em segundo lugar, de cães sensibilizados apenas ao grupo dos ácaros domiciliares.

## REFERÊNCIAS

- AALBERSE, R. C.; AKKERDAAS, J.; VAN REE, R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 56, n. 6, p. 478–490, 2001.
- ALBUQUERQUE, T. M. et al. Avaliação do perfil de sensibilização ao teste sorológico de cães com dermatite atópica na cidade de São Paulo, Brasil: 64 casos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 3, p. 46–46, 2015.
- ALBUQUERQUE, T. M. et al. **Avaliação do perfil de sensibilização ao teste sorológico de cães com dermatite atópica na cidade de São Paulo, Brasil: 64 casos**. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. **Anais...**[s.n.], 18 jan. 2016
- ALLERGOME**. Disponível em: <<http://www.allergome.org/script/statistic.php>>. Acesso em: 8 set. 2019.
- ALVAREZ, J.; ZALVE, V. **Production of recombinant canine IgE molecule**. 24th annual Congress of the ECVD-ESVD. **Anais...**Firenze: 2010
- ARLIAN, L. G. et al. Serum immunoglobulin E against storage mite allergens in dogs with atopic dermatitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 1, p. 32–36, 2003.
- BALDO, B. A. et al. Olive (*Olea europea*) and privet (*Ligustrum vulgare*) pollen allergens. Identification and cross-reactivity with grass pollen proteins. **Molecular Immunology**, v. 29, n. 10, p. 1209–1218, 1992.
- BEHRENDT, H.; BECKER, W. M. Localization, release and bioavailability of pollen allergens: The influence of environmental factors. **Current Opinion in Immunology**, v. 13, n. 6, p. 709–715, dez. 2001.
- BENSIGNOR, E.; CARLOTTI, D. N. Sensitivity patterns to house dust mites and forage mites in atopic dogs: 150 cases. **Veterinary Dermatology**, v. 13, n. 1, p. 39–44, fev. 2002.
- BIZIKOVA, P. et al. Review: Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 26, n. 2, p. 95-e26, abr. 2015.
- BJELLAND, A. A. et al. Prevalence of and risk factors for increased serum levels of allergen-specific IgE in a population of Norwegian dogs. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 56, p. 81, 2014.
- BOTONI, L. S. et al. Prevalência de reações positivas a alérgenos causadores de dermatite atópica em cães na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**, v. 2, n. 3, p. 140–146, 2012.

- BROZOSKI, L. et al. Prevalência de alergia para diferentes alérgenos dentre os pacientes asmáticos da cidade de Indaiatuba, São Paulo Prevalence of allergy to different allergens among patients asthmatics city Indaiatuba, São Paulo. **J Health Sci Inst**, v. 32, n. 1, p. 18–22, 2014.
- BUCKLEY, L. et al. Cross-reaction and co-sensitization among related and unrelated allergens in canine intradermal tests. **Veterinary Dermatology**, v. 24, n. 4, p. 422-e92, ago. 2013.
- CHAN-YEUNG, M. et al. Geographical variations in the prevalence of atopic sensitization in six study sites across Canada. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 65, n. 11, p. 1404–1413, nov. 2010.
- CUNHA, V. et al. Dermatite atópica canina e ácaros domésticos: revisão. **Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**, v. 2, n. 4, p. 172–179, 2012a.
- CUNHA, V. et al. **Identificação sorológica de alérgenos de Dermatophagoides farinae em cães com dermatite atópica**. 35º Congresso Brasileiro ANCLIVEPA. **Anais...**Rio de Janeiro: ANCLIVEPA, 2014
- CUNHA, V. E. S. et al. Evaluation of skin sensitivity in dogs bearing allergic dermatitis to standardized allergenic extract of house dust and storage mites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 8, p. 341–344, 2007.
- CUNHA, V. E. S. et al. Serological identification of house dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis. **Pesq. Vet. Bras**, v. 32, n. 9, p. 917–921, 2012b.
- DAMIALIS, A.; KONSTANTINO, G. N. Cereal pollen sensitisation in pollen allergic patients: To treat or not to treat? **European Annals of Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 2, p. 36–44, 2011.
- DAY, M. J. Introduction: the immunological basis of allergic diseases. In: SONS, J. W. & (Ed.). **Veterinary Allergy**. 1a ed. ed. Chichester: Wiley/Blackwell (10.1111), 2014.
- DEBOER, D. J.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): Laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 2001a.
- DEBOER, D. J.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): Fundamental concepts in clinical diagnosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 271–276, 2001b.
- ELIAS, P. M.; HATANO, Y.; WILLIAMS, M. L. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: Outside-inside-outside pathogenic mechanisms. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 6, p. 1337–1343, jun. 2008.
- ENRIQUE, E. et al. Platanus acerifolia pollinosis and food allergy. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 57, n. 4, p. 351–356, abr. 2002.

FAVROT, C. et al. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 23–30, fev. 2010.

FAVROT, C. Clinical signs of canine atopic dermatitis. In: SONS, J. W. & (Ed.). . **Veterinary Allergy**. 1a ed. ed. Chichester: Wiley/Blackwell (10.1111), 2014.

FOSTER, A. P. et al. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεRIα-based assay in atopic dogs in the UK. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 93, n. 1–2, p. 51–60, 2003.

FUJIMURA, M. et al. Oral Allergy Syndrome Induced by Tomato in a Dog with Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica*) Pollinosis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 11, p. 1069–1070, 2002.

GARCIA-GALLO PINTO, M. et al. **Generation and characterization of a panel of specific monoclonal antibodies against canine IgE using recombinant immunogens**. XXVIII Annual Congress of AMVAC. **Anais...Madrid, Espanha: 2011**

GEDON, N. K. Y. et al. Agreement of serum allergen test results with unblocked and blocked IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) and intradermal test results in atopic dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 195-e61, 2019.

GRIFFIN, C. E. Diagnosis of canine atopic dermatitis. In: SONS, J. W. & (Ed.). . **Veterinary Allergy**. 1a ed. ed. Chichester: Wiley/Blackwell (10.1111), 2014.

GRIFFIN, C. E.; DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): Clinical manifestations of canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 255–269, 2001.

GRIFFIN, C. E.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 363–383, 2001.

HALLIWELL, R. Revised nomenclature for veterinary allergy. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 114, n. 3–4, p. 207–208, dez. 2006.

HALLIWELL, R. Foreword. In: SONS, J. W. & (Ed.). . **Veterinary Allergy**. 1a ed. ed. [s.l.] Wiley/Blackwell (10.1111), 2014. p. 448.

HENSEL, P. et al. Canine atopic dermatitis: Detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. **BMC Veterinary Research (2015)**, v. 11, n. 196, 2015.

HILL, P.; OLIVRY, T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis ( III ): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, p. 187–198, 2001.

HILLIER, A.; DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): Intradermal testing. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 289–304, 2001.

HILLIER, A.; GRIFFIN, C. E. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): Is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions? **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 227–231, 2001.

HILLIER, A.; KW, K.; PINCHBECK LR. Reactivity to intradermal injection of extracts of *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, house dust mite mix, and house dust in dogs suspected to have atopic. **J Am Vet Med Assoc. Aug dermatitis**, v. 15217, n. 4, p. 536–40, 2000.

JENSEN-JAROLIM, E. et al. Pollen Allergies in Humans and their Dogs, Cats and Horses: Differences and Similarities. **Clinical and Translational Allergy**, 2015.

KANG, M. G. et al. Patterns of inhalant allergen sensitization and geographical variation in Korean adults: A multicenter retrospective study. **Allergy, Asthma and Immunology Research**, v. 9, n. 6, p. 499–508, 2017.

KANG, M. H. et al. Sensitization rates of causative allergens for dogs with atopic dermatitis: Detection of canine allergen-specific IgE. **Journal of Veterinary Science**, v. 15, n. 4, p. 545–550, 2014.

KIM, S. T. et al. Allergen-specific intralymphatic immunotherapy in human and animal studies. **Asia Pacific Allergy**, v. 7, n. 3, p. 131, 2017.

LADICS, G. S. et al. Allergic sensitization: screening methods. **Clinical and Translational Allergy**, v. 4, n. 13, p. 1–18, 2014.

LICCARDI, G.; D'AMATO, M.; D'AMATO, G. Oleaceae pollinosis: a review. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 111, n. 3, p. 210–7, 1996.

LINEK, M.; FAVROT, C. Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 5, p. 456–462, out. 2010.

LOWENSTEIN, H. et al. Indoor Allergens. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 78, n. 5 PART 2, p. 1031–1035, 1986.

MARSELLA, R. Canine Atopic Dermatitis: What's New? **Compend Contin Educ Vet**, v. E1-4, p. 32, 2010.

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, n. 5, p. 306–312, out. 2006.

MARSELLA, R.; SARIDOMICHELAKIS, M. N. Environmental and oral challenge with storage mites in beagles experimentally sensitized to *Dermatophagoides farinae*. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 105–111, fev. 2010.

MARTINS, L. **Alergénios em Medicina Veterinária: Pensar diferente, mudar o conceito.** 7o Congresso da Sociedade Portuguesa de Alergologia Pediátrica. **Anais...**Aveiro: 2018

MARTINS, L. L.; BENTO, O. P.; INÁCIO, F. F. **Veterinary allergy diagnosis: Past, present and future perspectives** *Allergo Journal*, 10 dez. 2016.

MARTINS, L. M. L. et al. Allergy to grass pollen: Mapping of *Dactylis glomerata* and *Phleum pratense* allergens for dogs by two-dimensional immunoblotting. **Postepy Dermatologii i Alergologii**, v. 34, n. 1, p. 60–69, 2017.

MAS, A.; ALVAREZ, J. **Cross-reactivity between *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae* and *Acarus siro* in dogs from UK with Canine Atopic Dermatitis**. BSAVA Congress. *Anais...Birmingham, UK*: 2015

MASUDA, K. et al. Identification of peptides containing T-cell epitopes of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen (Cry j 1) in dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 102, n. 1–2, p. 45–52, 2004.

MIGUERES, M. et al. **Types of sensitization to aeroallergens: definitions, prevalences and impact on the diagnosis and treatment of allergic respiratory disease**. [s.l.: s.n.].

MIRALLES, J. C. et al. Cross-reactivity between *Platanus* pollen and vegetables. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 57, n. 2, p. 146–149, fev. 2002.

MUELLER, R. S. et al. Allergens in veterinary medicine. **Allergy**, v. 71, n. 1, p. 27–35, jan. 2016.

MUELLER, R. S.; BURROWS, A.; TSOHALIS, J. Comparison of intradermal testing and serum testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 5, p. 290–294, maio 1999.

NICOLETI, K.; VANDRESSEN, G.; FRECCIA, A. **Estudo da sensibilização de cães com dermatite atópica na região da Amurel, Santa Catarina, Brasil**. (Even3, Ed.) *Anais do I Simpósio de Integração da Pós-Graduação: Ciência, Tecnologia e Inovação*. *Anais...Lages (SC)*: 2018

NUTTALL, T. J. The genetics os canine atopic dermatitis. In: SONS, J. W. & (Ed.). **Veterinary Allergy**. 1a ed. ed. Chichester: Wiley/Blackwell (10.1111), 2014.

OLIVRY, T. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 3, p. 233–248, jun. 2010.

OLIVRY, T. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, 2015.

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. 31–40, fev. 2010.

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 Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 219–225, 2001.

OZMEN, I.; MARSELLA, R. Sublingual immunotherapy in human and canine Atopic Dermatitis: A mini review. **Veterinary Sciences**, v. 1, n. 3, p. 136–149, 2014.

PEREIRA, D. **Estudo Da Sensibilização De Cães Com Dermatite Atópica Na Região Central Do Rio Grande Do Sul**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2015.

PEREIRA, D. T. et al. **Avaliação da eficácia da imunoterapia alérgeno-específica na dermatite atópica canina (31 casos)**. Congresso Brasileiro de Dermatologia Veterinária da Sociedade Brasileira de Dermatologia Veterinária. **Anais...**Campos do Jordão, SP: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2015

PFIFFNER, P. et al. Allergen cross reactions: A problem greater than ever thought? **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 65, n. 12, p. 1536–1544, dez. 2010.

PLANT, J. D. et al. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. **Veterinary Dermatology**, v. 25, n. 1, 2014.

PUCHEU-HASTON, C. M. Atopic dermatitis in the domestic dog. **Clinics in Dermatology**, v. 34, n. 2, p. 299–303, 2016.

RAQUEL, F. T. **Caracterização do perfil de sensibilização alérgica da população seguida na consulta de Pediatria do CHCB**. Covilhã: UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR Ciências da Saúde, 2015.

REEDY, L.; MILLER, W.; WILLEMSE, T. **Allergic Skin Diseases of Dogs and Cats**. 2nd. ed. Londres: Saunders Ltd, 1997.

**REFLORA**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 27 set. 2019.

RING, J.; AKDIS, C. A.; AGACHE, I. **Global Atlas of Allergy**. [s.l.] European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014.

ROOSJE, P. J. **Interpretation of Laboratory Tests for Allergies in Dogs**. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. **Anais...**Bern, Switzerland: 2010

SALO, P. M. et al. Prevalence of allergic sensitization in the U.S.: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2005-2006. **J Allergy Clin Immunol**, v. 134, n. 2, p. 350–359, 2014.

SKIN, A. et al. Aero-allergens in canine atopic dermatitis in south- eastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. **Australian Veterinary Journal**, v. 78, n. 6, p. 6–9, 2000.

SOARES, F. A. A. et al. Perfil de sensibilização a alérgenos domiciliares em pacientes

ambulatoriais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 53, n. 1, p. 25–28, 2007.

SOUSA, C. A.; MARSELLA, R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): Genetic factors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3–4, p. 153–157, 2001.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. 8a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

TYAGI, N. et al. Comparisons of Allergenic and Metazoan Parasite Proteins: Allergy the Price of Immunity. **PLoS Computational Biology**, 2015.

VAN REE, R. Allergens - structure and function. In: AKDIS, C. A.; AGACHE, I. (Eds.). . **Global Atlas of Allergy**. [s.l.] European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014.

WASSOM; GRIEVE. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1α-based assays for detection of allergen-reactive IgE. **Veterinary Dermatology**, v. 9, n. 3, p. 173–178, 1 jul. 1998.

WILHEM, S.; KOVALIK, M.; FAVROT, C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 2, p. 143–149, abr. 2011.

WITTICH, F. W. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal. Seasonal hay fever (fall type) in a dog. **Journal of Allergy**, v. 12, n. 3, p. 247–251, 1941.

YMAN, L. **Botanical relations and immunological cross-reactions in pollen allergy**. 2nd. ed. Uppsala. Sweden.: Pharmacia Diagnostics AB, 1982.

ZAKZUK, J.; KILIMAJER, J.; LOCKEY, R. F. **Allergen Standardization and Characterization**. Disponível em: <<https://www.worldallergy.org/education-and-programs/education/allergic-disease-resource-center/professionals/allergen-standardization-and-characterization>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

ZUNDT, C. Baixada Santista : uso , expansão e ocupação do solo , estruturação de rede urbana regional e metropolização. **Expansão Metropolitana, Mobilidade espacial e segregação nos anos 90**, v. Edição esp, p. 305–363, 2006.