

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LUCAS ANDRÉ LUDWIG

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LIMIAR IRRITANTE DE EXTRATOS DE
ÁCAROS DE POEIRA DOMÉSTICA E DE ESTOCAGEM PARA TESTE DE
PUNTURA EM CÃES HÍGIDOS E COM DERMATITE ATÓPICA**

CURITIBA

2025

LUCAS ANDRÉ LUDWIG

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LIMIAR IRRITANTE DE EXTRATOS DE
ÁCAROS DE POEIRA DOMÉSTICA E DE ESTOCAGEM PARA TESTE DE
PUNTURA EM CÃES HÍGIDOS E COM DERMATITE ATÓPICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Clínica e Cirurgia Veterinária, da Escola de Medicina e Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias

CURITIBA

2025

Dedico este trabalho à minha avó, Ana Cecília Marchiori

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade da vida.

Agradeço à minha família pelo total suporte sempre, especialmente em dias difíceis.

Agradeço a todos os médicos veterinários do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e os aprimorandos da Clínica Veterinária Escola que ajudaram na realização deste trabalho, bem como alunos e estagiários que auxiliaram na parte prática durante a realização dos testes.

Agradeço aos responsáveis por estes animais por anuírem em participar deste projeto e cederem seus animais, os quais agradeço de forma especial pela doação, mesmo que involuntária, de seus corpos a fim de aprimorar a ciência.

Agradeço a todos os membros das bancas por aceitarem em participar e contribuir a aprimorar este trabalho.

E por fim, um agradecimento especial ao meu orientador Marconi Rodrigues de Farias, pela orientação e paciência durante a jornada da realização desta pesquisa. Seus ensinamentos tanto em âmbito profissional como pessoal sempre me acompanharão durante toda a vida.

FORMATO DA TESE

A presente tese é formada por capítulos. O capítulo 1 trata-se de uma revisão de literatura sobre ácaros de poeira doméstica e teses de sensibilização ambiental em cães com dermatite atópica. O capítulo 2 trata-se de artigo científico completo, com referências, destinado à submissão ao periódico *Veterinary Dermatology*. O capítulo 3 finaliza com conclusões gerais sobre o trabalho. As referências encontram-se ao final de cada capítulo.

RESUMO GERAL

A dermatite atópica em cães é uma doença hereditária, pruriginosa, associada à hiper-reatividade de sub-populações de linfócitos T, anormalidades de barreira cutânea, sensibilização alérgica e disbiose de microrganismos. Dentre os alérgenos ambientais, os ácaros de poeira doméstica e de estocagem são frequentemente implicados na sensibilização destes cães. O teste de puntura é um dos testes cutâneos in vivo que podem auxiliar na identificação da sensibilização a estes alérgenos. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração limiar irritante (CLI) dos extratos de ácaros de poeira doméstica e de estoque para uso no teste percutâneo em cães com dermatite atópica. Para isto, o teste alérgico percutâneo foi realizado na região lateral torácica em dois grupos: 43 cães hígidos e 33 cães com dermatite atópica. Foram utilizadas cinco diferentes concentrações (1, 5, 10, 20 e 40 mg/mL) para *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*, e quatro diferentes concentrações (0.5, 1, 2 e 5 mg/mL) para *Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae*, utilizando puntor plástico de ponta múltipla. O teste de normalidade foi realizado por meio do Shapiro-Wilk. Diferenças nas proporções de animais hígidos com pápulas iguais ou superiores a 3mm nos diferentes alérgenos foram analisadas por teste de Kruskal-Wallis. A comparação do tamanho papular entre os dois grupos foi realizada por teste de Mann Whitney. Diferenças entre os níveis de concentração foram avaliadas por comparações múltiplas com ajuste de Tukey. Nível de significância foi considerado como $p < 0.05$. Como resultado, o CLI em cães hígidos para cada alérgeno foi de 5 mg/mL para *B. tropicalis*, 10 mg/mL para *D. farinae* e *D. pteronyssinus* e 1 mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*. Em geral, concentrações maiores formam pápulas maiores tanto em hígidos como em atópicos. O teste foi bem tolerado pelos cães, sendo que alguns apresentaram leve desconforto durante o procedimento. Como conclusão, extratos utilizados no teste de puntura em cães com dermatite atópica devem apresentar concentração de 5 mg/mL para *B. tropicalis*, 10 mg/mL para *D. farinae* e *pteroysinus* e 1 mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*. Estas concentrações também podem promover pápulas mais visíveis em cães atópicos, facilitando a interpretação do teste.

GENERAL ABSTRACT

Canine atopic dermatitis is a hereditary, pruritic disease associated with hyperreactivity of T-lymphocyte subpopulations, skin barrier abnormalities, allergic sensitization, and microbial dysbiosis. Among environmental allergens, house dust and storage mites are frequently implicated in the sensitization of these dogs. The prick test is one of the in vivo skin tests that can help identify sensitization to these allergens. The aim of this study was to determine the irritant threshold concentration (ITC) of house dust and storage mite extracts for use in percutaneous testing in dogs with atopic dermatitis. For this purpose, the percutaneous allergy test was performed on the lateral thoracic region of two groups: 43 healthy dogs and 33 dogs with atopic dermatitis. Five different concentrations (1, 5, 10, 20, and 40 mg/mL) were used for *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, and *Blomia tropicalis*, and four different concentrations (0.5, 1, 2, and 5 mg/mL) for *Acarus siro* and *Tyrophagus putrescentiae*, using a multi-tip plastic lancet. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. Differences in the proportions of healthy dogs presenting wheals ≥ 3 mm for different allergens were analyzed using the Kruskal–Wallis test. Comparison of wheal sizes between the two groups was performed using the Mann–Whitney test. Differences among concentration levels were evaluated through multiple comparisons with Tukey adjustment. The level of significance was set at $p < 0.05$. As a result, the ITC in healthy dogs for each allergen was 5 mg/mL for *B. tropicalis*, 10 mg/mL for *D. farinae* and *D. pteronyssinus*, and 1 mg/mL for *A. siro* and *T. putrescentiae*. In general, higher concentrations produced larger wheals in both healthy and atopic dogs. The test was well tolerated by the dogs, although some showed mild discomfort during the procedure. In conclusion, extracts used in the prick test for dogs with atopic dermatitis should have concentrations of 5 mg/mL for *B. tropicalis*, 10 mg/mL for *D. farinae* and *D. pteronyssinus*, and 1 mg/mL for *A. siro* and *T. putrescentiae*. These concentrations may also produce more visible wheals in atopic dogs, facilitating test interpretation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (1) Microscopia eletrônica de uma fêmea de <i>D. pteronyssinus</i> ; nota-se pelos (a,b) e estrias longitudinais (c); (2) fêmea de <i>D. farinae</i> ; nota-se pelos (a,b) e estrias transversais (c).	2
Figura 2 - Microscopia eletrônica de um ácaro <i>B. tropicalis</i>	2
Figura 3 - Estruturas de formato de varas curtas na cutícula de um ácaro da espécie <i>B. tropicalis</i> . Microscopia eletrônica, 2000x.	3
Figura 4 - Variações de habitat de ácaros de poeira doméstica	5
Figura 5 - Expressão de genes relacionados a resposta inflamatória e pruriticênica selecionados após seis, 24 e 48 horas de exposição epicutânea de <i>D. farinae</i>	18
Figura 6 - Virilhas de seis cães e lesões após aplicação epicutânea de <i>D. farinae</i> . (A) pré-sensibilização; (B) pós-sensibilização; (C) pós-provocação.	19
Figura 7- (a) Puntor plástico utilizado no teste; (b) bandeja com extratos em diferentes concentrações de ácaros domésticos; (c) Teste percutâneo seguindo a ordem da esquerda para a direita com a menor e maior concentração, respectivamente, sendo a primeira linha para <i>B. tropicalis</i> , a segunda linha para <i>D. farinae</i> , a terceira linha para <i>D. pteronyssinus</i> , e quarta e quinta linhas para <i>A. siro</i> e <i>T. putrescentiae</i> , respectivamente. (d) Destaque para a marcação da puntura na pele após a puntura com o puntor plástico de ponta múltipla (UniTest® PC, Lincoln Diagnostics; Decatur, IL, EUA); (e) Reações em placa formadas após 15 minutos do teste de puntura com os extratos testes em múltiplas concentrações em cães do Grupo 2 com dermatite atópica.	48
Figura 8 - Distribuição do tamanho das pápulas nas concentrações testadas para as três diferentes espécies de ácaros de poeira doméstica: (a) <i>Blomia tropicalis</i> , (b) <i>Dermatophagoides farinae</i> e (c) <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> . Cães com dermatite atópica produziram pápulas maiores que cães não atópicos, em todas as concentrações testadas. Houve diferença estatística significativa (*) para o tamanho de pápulas observados entre os grupos de animais saudáveis e atópicos, incluindo diferença significativa entre as concentrações estudadas (Mann Whitney, $p < 0,001$).	51
Figura 9 - Distribuição do tamanho das pápulas nas concentrações testadas para as duas diferentes espécies de ácaros de estoque: (a) <i>Acarus siro</i> e (b) <i>Tyrophagus putrescentiae</i> . Cães com DAC produziram pápulas maiores que cães não atópicos, em todas as concentrações testadas. Houve diferença estatística significativa (*) para o tamanho de pápulas observados entre os grupos de animais saudáveis e atópicos, incluindo diferença significativa entre as concentrações estudadas (Mann Whitney, $p < 0,001$).	53
Figura 10 - Resultado do teste de concentração de limiar irritante para os três ácaros de poeira doméstica testados em cães não atópicos ($n=43$). As barras demonstram a porcentagem de animais que formaram pápulas iguais ou superiores a 3mm em cada concentração para (a) <i>Blomia tropicalis</i> , (b) <i>Dermatophagoides farinae</i> e (c) <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> . Considerando o teste de <i>Kruskal wallis</i> houve diferença estatística significativa entre concentrações dentro de cada alérgeno testado ($p < 0,01$). Após aplicação do teste post hoc de <i>Nemenyi</i> observou-se diferença estatística (*) entre todas as concentrações ($p < 0,01$), observando-se forte efeito dose-	

reposta, exceto entre concentração 1 vs 5 para <i>Blomia tropicalis</i> e <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> , e concentração 5 vs 10 para <i>Dermatophagoides farinae</i> ($p = 1$).....	53
Figura 11 - Resultado do teste de concentração de limiar irritante para os dois ácaros de estoque testados em cães não atópicos ($n=43$). As barras demonstram a porcentagem de animais que formaram pápulas iguais ou superiores a 3mm em cada concentração para (a) <i>Acarus siro</i> e (b) <i>Tyrophagus putrescentiae</i> . Considerando o teste de Kruskal wallis houve diferença estatística significativa entre concentrações dentro de cada alérgeno testado ($p < 0,01$). Após aplicação do teste post hoc de <i>Nemenyi</i> observou-se diferença estatística (*) entre todas as concentrações ($p < 0,01$), observando-se forte efeito dose-reposta.....	54
Figura 12 - <i>Blomia tropicalis</i> . Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Houve diferença significativa entre a média dos tamanhos papulares entre as concentrações ($p = 0.009$). * diferença significativa.....	55
Figura 13 - <i>Dermatophagoides farinae</i> . Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. * Significa diferença significativa entre as médias das concentrações 1 e 5 mg/mL ($p = 0.0050$) e entre 5 e 10 mg/mL ($p = 0.039$). ** Significa diferença altamente significativa entre as médias de 1 e 10 mg/mL ($p < 0.0001$). Teste de Turkey.....	56
Figura 14 - <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> . Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 1 e 5 mg/mL ($p = 0.150$). * Significa diferença significativa entre as concentrações 5 e 10 mg/mL ($p = 0.012$). ** Significa diferença altamente significativa entre as concentrações 1 e 10 mg/mL ($p < 0.0001$). Teste de Turkey.	56
Figura 15 - <i>Acarus siro</i> . Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 0.5 e 1 mg/mL, apesar de tendência à significância ($p = 0.057$). Teste de Turkey.	57
Figura 16 - <i>Tyrophagus putrescentiae</i> . Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 0.5 e 1 mg/mL ($p = 0.9430$). Teste de Turkey.	57
Figura 17 - Resultado de positividade aos cinco diferentes ácaros testados em cães com dermatite atópica, baseando-se na concentração ideal definida após teste de concentração de limiar irritante.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alérgenos identificados de <i>Blomia tropicalis</i>	10
Tabela 2 - Alérgenos identificados de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	10
Tabela 3 - Alérgenos identificados de <i>Dermatophagoides farinae</i>	11
Tabela 4 - Resultado de sensibilização aos ácaros domésticos de diferentes estudos.	15
Tabela 5 - Dados demográficos dos cães do Grupo 1 (cães hígidos) e 2 (cães com dermatite atópica) incluídos no presente estudo.	50
Tabela 6 - Média predita do tamanho papular nas diferentes concentrações que não causaram reações positivas em mais de 10% de cães saudáveis. Intervalo de confiança de 95%. APD = ácaros de poeira doméstica; AE = ácaros de estocagem; Bt = <i>Blomia tropicalis</i> ; Df = <i>Dermatophagoides farinae</i> ; Dp = <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> ; As = <i>Acarus siro</i> ; Tp = <i>Tyrophagus putrescentiae</i> ; E, padrão = erro padrão de média predita.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Medidas ambientais para controle de ácaros de poeira doméstica	7
--	----------

LISTA DE ABREVIATURAS

DAC	Dermatite atópica canina
HDM	Ácaros de poeira doméstica (do inglês, <i>house dust mites</i>)
mg/mL	Miligramma por mililitro
PNU/mL	Unidade de proteína nitrogenada por mililitro
UR	Umidade relativa

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	4
FORMATO DA TESE	5
RESUMO GERAL.....	6
GENERAL ABSTRACT	7
1. ÁCAROS DOMÉSTICOS E SEU PAPEL NA DERMATITE ATÓPICA CANINA – REVISÃO DA LITERATURA.....	1
1.1 Biologia e ecologia dos ácaros de poeira doméstica.....	1
1.2 Ácaros de estoque	8
1.3 Alérgenos de ácaros da poeira doméstica	9
1.4 Efeitos imunológicos dos ácaros de poeira doméstica na dermatite atópica em cães.....	16
2 TESTES DE SENSIBILIZAÇÃO NA DERMATITE ATÓPICA CANINA.....	20
2.1 Teste intradérmico	20
2.2 Teste sorológico alérgeno-específico	23
2.3 Teste de puntura (teste percutâneo, <i>prick test</i>)	25
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO CAPÍTULO 1	26
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2.....	41
INTRODUÇÃO	43
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
Animais do estudo	45
Teste de puntura	46
Análise estatística	48
RESULTADOS.....	49
Epidemiologia	49
Teste de puntura	50
Controles positivo e negativo	50
Determinação da concentração de limiar irritante em cães hígidos (Grupo 1)	51
Avaliação das concentrações em cães com dermatite atópica (Grupo 2)	54
Positividade aos alérgenos em cães com dermatite atópica	58
DISCUSSÃO	59

REFERÊNCIAS	66
CAPÍTULO 3.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

CAPÍTULO 1

1. ÁCAROS DOMÉSTICOS E SEU PAPEL NA DERMATITE ATÓPICA CANINA – REVISÃO DA LITERATURA

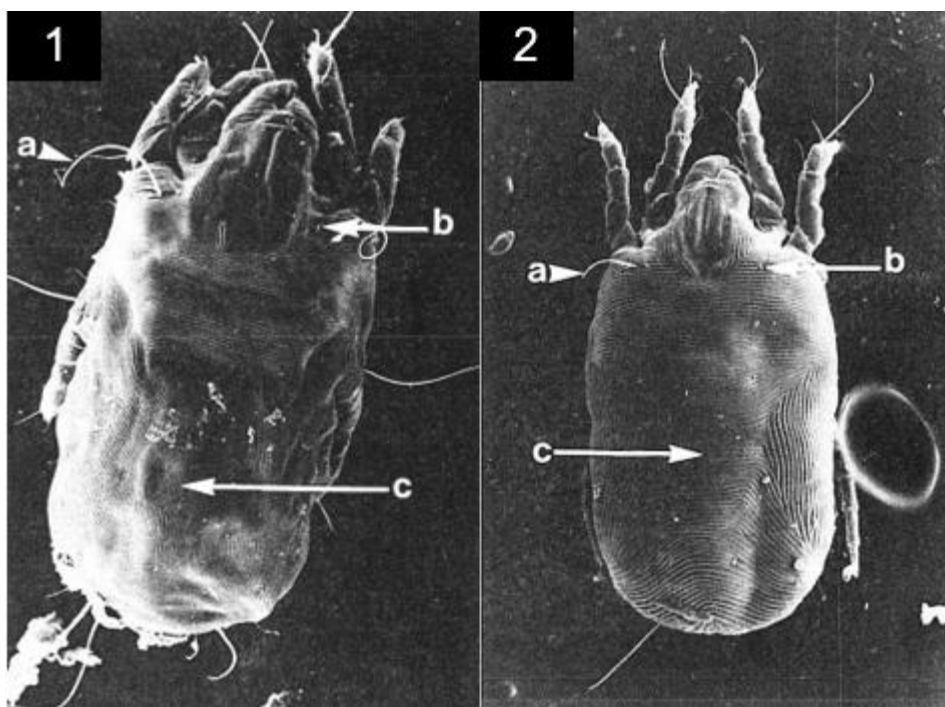
1.1 Biologia e ecologia dos ácaros de poeira doméstica

O termo *ácaro de poeira doméstica* (*house dust mites*, HDM) é tradicionalmente aplicado às espécies da família Pyroglyphidae, que comumente estão presente no ambiente domiciliar (Platts-Mills *et al.*, 1992). Contudo, o termo *ácaro doméstico* é aplicado aos ácaros desta família somados aos ácaros de estoque e alguns ácaros predadores (Platts-Mills *et al.*, 1997). Estes geralmente medem entre 0.1 e 0.6mm e, por isso, não são visíveis ao olho nú (Milián e Díaz, 2004).

A família Pyroglyphidae possui cerca de 18 gêneros e 46 espécies (Arlan e Morgan, 2003). Contudo, mais de 80% dos ácaros encontrados na poeira intradomiciliar corresponde as espécies *Dermatophagoides* e *Euroglyphus* (Hallas, 1991). O gênero *Dermatophagoides* também pode ser encontrado em nichos não-domésticos, como ninhos de aves e pequenos mamíferos (Colloff, 2009). As duas principais espécies deste gênero são *D. pteronyssinus* (figura 1) e *D. farinae*, sendo que, no passado, a primeira era mais prevalente na Europa enquanto a segunda, mais resistente à dissecação, era mais prevalente nos Estados Unidos (Sporik *et al.*, 1992).

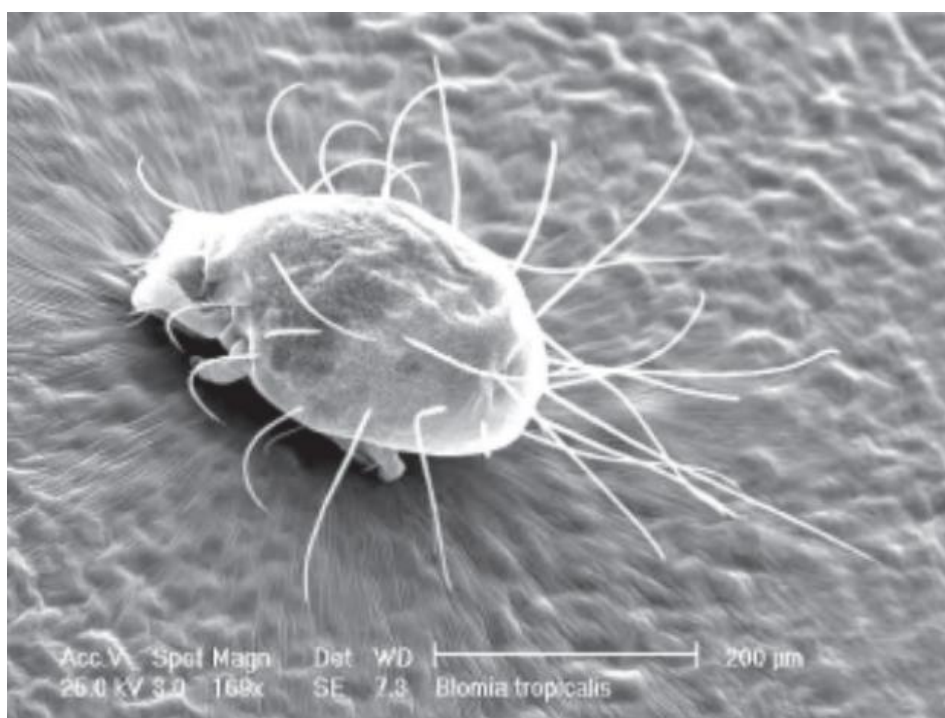
O primeiro estudo que identificou a espécie *Blomia tropicalis* (figura 2) foi publicado em 1974 e o categorizou como um ácaro de estoque por ter sido especialmente encontrado em ambientes e alimentos contendo grãos (Van Bronswijk e De Cook, 1974). Contudo, especialmente em países com clima tropical, esta espécie é frequentemente encontrada na poeira doméstica (Baqueiro *et al.*, 2006; Catanghal *et al.*, 2012; Fernandez-Duro *et al.*, 2013; Pauli *et al.*, 2023). Estes ácaros geralmente possuem cerca de 0,23 a 0,47mm de comprimento e geralmente são de corpo de formato globoso com uma cutícula que forma estruturas curtas com formato de vara (figura 3), o que difere a espécie de outros ácaros domésticos (Mariana *et al.*, 2007).

32 Figura 1 - (1) Microscopia eletrônica de uma fêmea de *D. pteronyssinus*; nota-se pelos (a,b) e estrias
33 longitudinais (c); (2) fêmea de *D. farinae*; nota-se pelos (a,b) e estrias transversais (c).



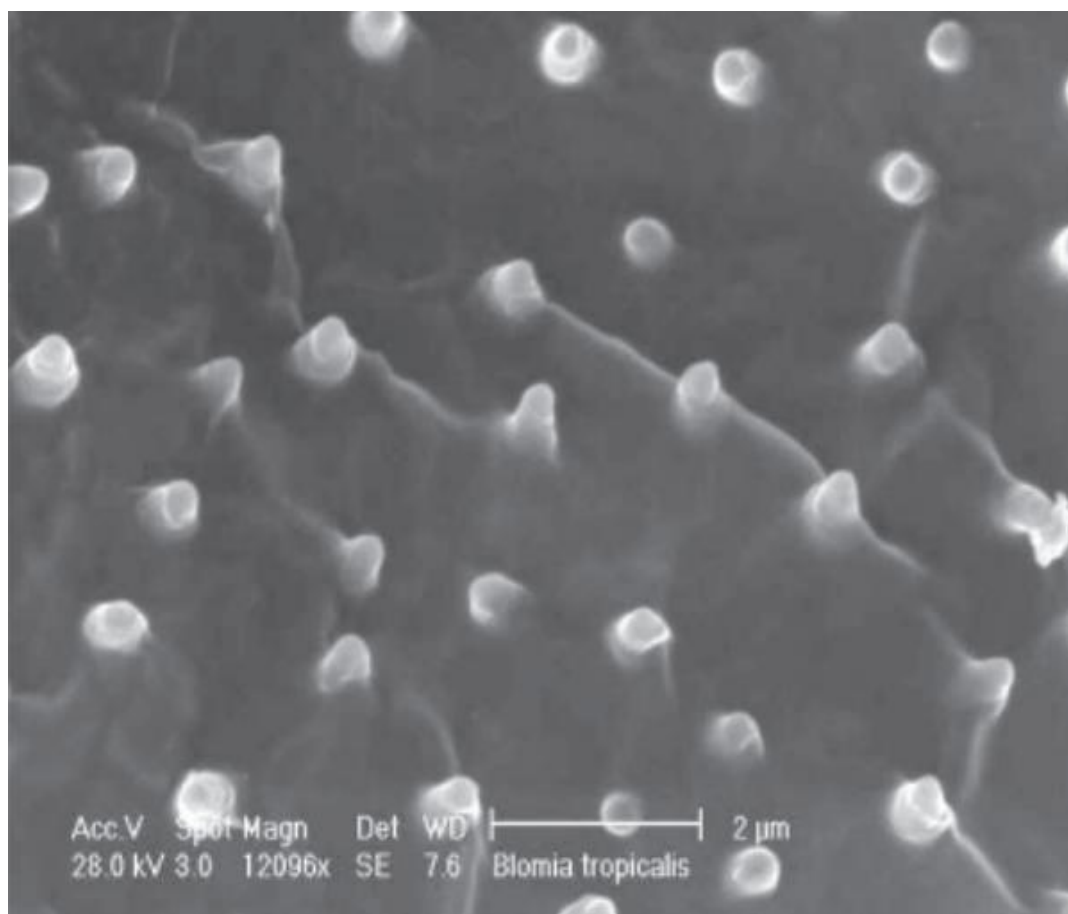
34 Fonte: Hart e Fain, 1988.

36 Figura 2 - Microscopia eletrônica de um ácaro *B. tropicalis*.



37 Fonte: Mariana et al., 2007

Figura 3 - Estruturas de formato de varas curtas na cutícula de um ácaro da espécie *B. tropicalis*. Microscopia eletrônica, 2000x.



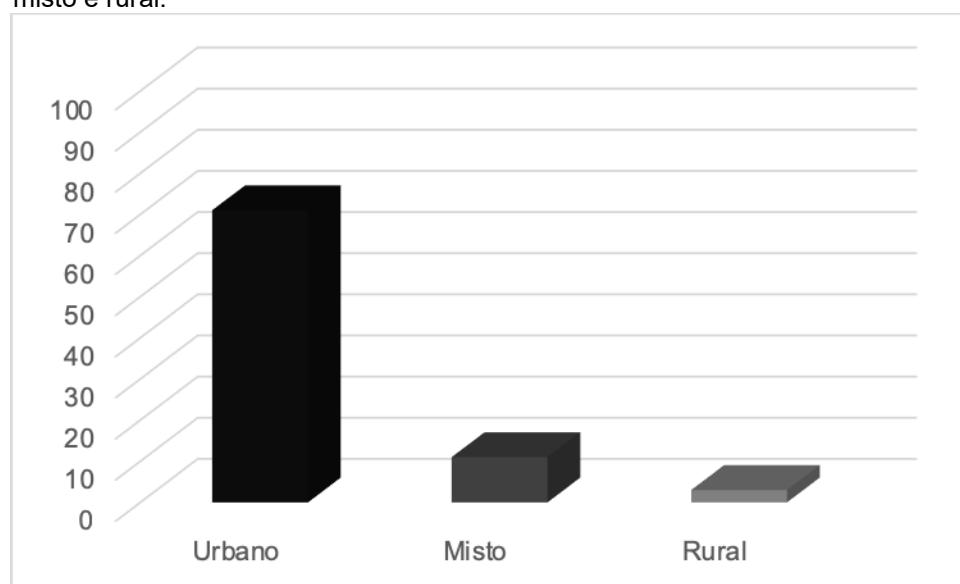
Fonte: Mariana et al., 2007

O termo *Dermatophagoides* significa comedor de pele, sendo que o termo *farinae* significa farinha, o que provavelmente reflete o *habitat* natural do ácaro antes dele ser associado com humanos, enquanto *pteronyssinus* significa “adora penas” (Arlian e Morgan, 2003). Os principais fatores determinantes para a sobrevivência dos ácaros são alta umidade, temperaturas moderadas e fontes adequadas de alimento (Nascimento et al., 2016). Ambas as espécies estão amplamente distribuídas ao redor do mundo (Thomas, 2010).

Em estudo espanhol, o *D. farinae* apresentou maior concentração em ambientes urbanos, quando comparados a ambientes rurais ou mistos (gráfico 1) (Agratorres et al., 1999), sendo que carpetes, tapetes, colchões e mobílias estofadas correspondem ao principal nicho habitacional dos ácaros em ambiente intradomiciliar (Nascimento et al., 2016). Contudo, se recursos apropriados de alimento e água estiverem disponíveis, eles podem se desenvolver em qualquer local (Arlian e Morgan, 2003). O colchão, quando separado por camadas, apresenta na camada intermediária

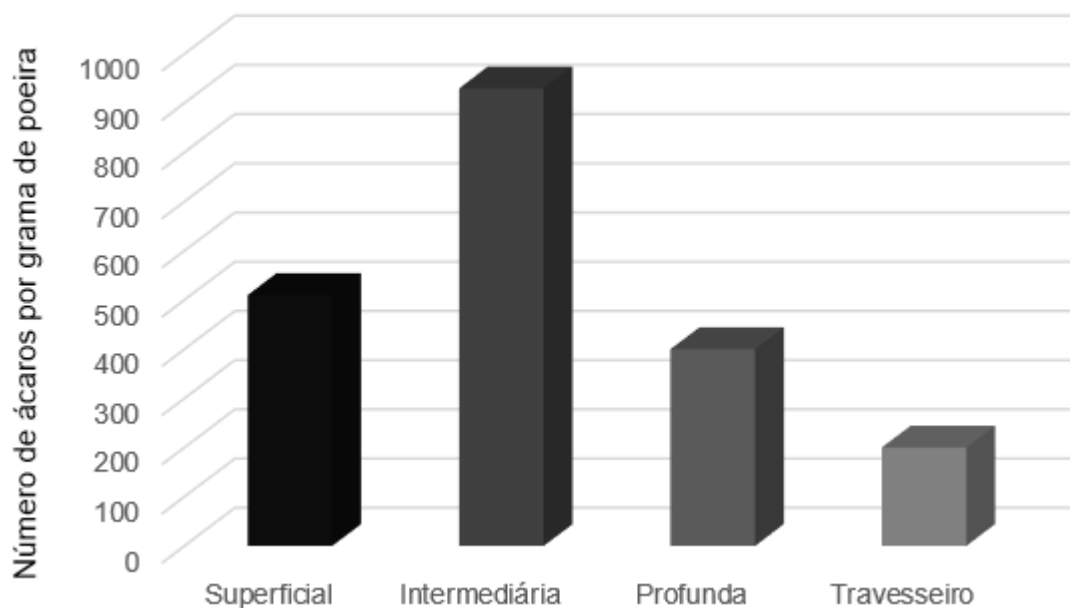
a maior concentração de HDM por grama de poeira (gráfico 2) (Coloff, 2009). O *habitat* dos ácaros pode também variar de acordo com diferentes escalas, como variações dentro de um mesmo cômodo da casa, variações entre diferentes cômodos da casa, bem como variações territoriais por meio de diferentes geografias e climas (figura 4) (Coloff, 2009). Roupas provavelmente não são locais de reprodução de HDM, mas servem como meios de transporte entre diferentes locais (Neal *et al.*, 2002). Carros, trens e aviões podem ter certa quantidade de HDM em seus assentos e contribuem para a sua dispersão (Arlan e Morgan, 2003).

Gráfico 1. Porcentagem de concentração de ácaros de poeira doméstica separados em ambientes urbano, misto e rural.



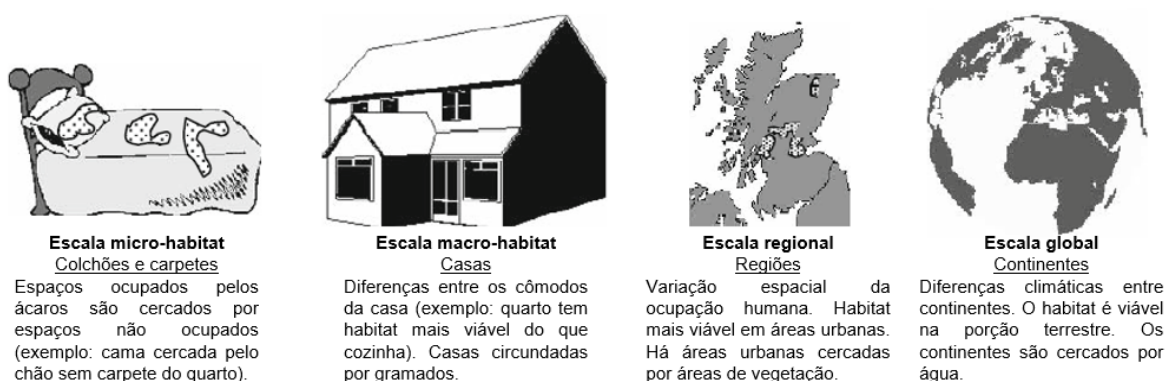
Fonte: adaptado de Agratorres et al., 1999.

Gráfico 2. Número de ácaros por grama de poeira em diferentes camadas do colchão, além de travesseiro.



Fonte: adaptado de Colloff, 2009.

Figura 4 - Variações de habitat de ácaros de poeira doméstica



Fonte: adaptado de Colloff, 2009.

O ciclo de vida dos ácaros da família Pyroglyphidae consiste em cinco estágios: ovo, larva, protoninfa, tritoinfa e adulto (Arlian e Platts-Mills, 2001). A nutrição dos HDM é baseada basicamente em material epitelial de animais no ambiente (Hallas, 1991; Nadchatram, 2005) e, sua reprodução baseia-se na cópula entre machos e fêmeas adultos, e o ato da cópula pode durar até 48 horas. Neste tempo, a fêmea continua se movimentando pelo ambiente levando o macho (Hart, 1998) e depositam alguns ovos por dia, durante alguns dias ou meses antes de morrer (Hallas, 1991). O

número de ovos que uma fêmea pode depositar ao longo da vida é incerto, com estimativas entre 40 e 100 ovos.

Ácaros de poeira doméstica podem viver entre dois e cinco meses, dependendo das condições ambientais (Milián et al., 2004; Nadchatran, 2005). Devido ao fato de que a temperatura e a umidade relativa ambientais não são uniformes ao longo do tempo, a taxa de reprodução, desenvolvimento e população é altamente variável em determinado local (Arlian e Platts-Mills, 2001). Ao longo do ano, uma maior concentração de HDM é encontrada na época do verão, quando a temperatura e a umidade estão elevadas (Arlian et al., 1982; Arlian e Morgan, 2003; Kosik-Bogacka et al., 2012).

Cerca de 75% do peso corporal dos HDM consiste em água, e a umidade relativa do ar (UR) é muito importante no ciclo de vida. Os ácaros obtêm água bebendo-a diretamente, ingerindo com alimentos umedecidos ou absorvendo passivamente pela umidade do ar (Arlian, 1992). Para o *D. farinae*, as condições ambientais ideais apresentam UR entre 55-75% com temperatura entre 15-35°C (Arlian e Platts-Mills, 2001). De maneira simplificada, a temperatura ambiental influenciará na velocidade de desenvolvimento dos ácaros, enquanto a umidade ambiental tem influência na quantidade de ácaros capazes de habitar o local (Hallas, 1991).

Um estudo demonstrou que os ácaros se desenvolvem melhor em um ambiente com temperatura de 25°C quando comparado com 20°C (Arlian et al., 2010). O *D. farinae* possui certa resistência às alternâncias de UR. Estudos demonstraram que estes ácaros podem se desenvolver completamente em ambientes controlados com baixa UR durante a maior parte do dia e pequenos períodos com UR a 75% (Arlian et al., 1998; Arlian et al., 1999). Em um ambiente com apenas quatro horas diárias de UR a 75%, uma fêmea adulta de *D. farinae* pode produzir até um terço dos ovos que produziria em um ambiente com constante UR a 75% (Arlian et al., 1998). A associação de umidade relativa do ar elevada e baixa ventilação do ambiente também pode estar associadas a maiores concentrações de ácaros de poeira doméstica em domicílios (Munir et al., 1995; Sun et al., 2022).

Em relação a tolerância térmica, a concentração de HDM reduz significativamente em ambientes com temperatura entre 40°C e 50°C (Arlian e

Morgan, 2003). A ionização do ar também demonstrou eficiência na redução das concentrações de HDM em ambiente laboratorial controlado, mas baixa eficácia na redução em colchões e mobília (Abidin e Ming, 2012).

A concentração de ácaros domésticos em poeira é muito maior em domicílios do que em ambientes públicos como hospitais (Custovic et al., 1998), escolas (Berge et al., 1998; Cyprowski et al., 2013; Xue et al., 2023) e hotéis (Xue et al., 2023).

No Brasil, os ácaros da família Pyroglyphidae também são os mais comuns, sendo que o *D. pteronyssinus* é mais comum em regiões costeiras e de alta umidade, enquanto o *D. farinae* é mais comum em locais secos e quentes (Souza e Filho, 2012). Na cidade de Curitiba, em ambientes domésticos, ambas as espécies podem ser encontradas, embora haja um predomínio de *D. pteronyssinus* e de seus alérgenos do grupo 1 (Dutra et al., 2001; Assunção et al., 2017). Estudos em diversos países colocam o *D. farinae* como o ácaro mais prevalente em lares da Coreia do Sul (Jeong et al., 2012) e, recentemente, em estudo sul coreano, o Der f 1 foi muito mais prevalente que o Der p 1, o qual não foi encontrado na maioria das amostras incluídas no estudo de lares de cães com dermatite atópica e não atópicos (Kim et al., 2023). Um outro resultado interessante deste estudo é que o Der f 1 foi muito mais prevalente em lares próximos às áreas verdes, como florestas e montanhas, quando comparado a lares de regiões mais pavimentadas (Kim et al., 2023). O Der p 1 está relacionado em maiores concentrações em lares com tapetes e colchões antigos (Mihirshahi et al., 2002). Ainda, Der f 1 é mais prevalente que o Der p 1 em ambientes de trabalho (Sander et al., 2012).

Quadro 1 - Medidas ambientais para controle de ácaros de poeira doméstica

Proteger o colchão e roupa de cama com capas protetoras e, idealmente, a roupa de cama deve ser lavada a cada uma a duas semanas, preferencialmente com água quente;
--

Se possível, remover ou diminuir tapetes, carpetes, cortinas e mobília estofada; tapetes e carpetes devem ser batidos, aspirados e lavados regularmente, além de colocados no sol;
--

Utilizar acaricidas ou ácido tânico em carpetes e tapetes;
--

Utilizar purificadores de ar nos cômodos, preferencialmente com filtros do tipo HEPA;
Manter umidade relativa do ar igual ou menor que 45%;
Ventilar a casa em dias que a umidade relativa do ar externa estiver baixa;
Se possível, substituir cortinas por persianas ou cortinas com tecidos laváveis;
Se possível, remover brinquedos de tecido e/ou pelúcia;
Manter objetos com capacidade de acumular pó em armários fechados;

Adaptado de: Bush, 2008; Wilson e Platts-Mills, 2018

Colchões mais antigos têm maiores concentrações de ácaros, ao passo que colchões em lares com ventilação mecânica contínua apresentam menores concentrações quando comparado a colchões em lares com ventilação natural (Van Strien et al., 1994). Em lares de humanos com doenças alérgicas respiratórias, o uso de capas impermeáveis em travesseiros e colchões reduziu significativamente a concentração de alérgenos do grupo 1 de *D. farinae* e *D. pteronyssinus* (Tobias et al., 2004). Contudo, o uso isolado de capas impermeáveis como roupa de cama, não foi capaz de reduzir sinais clínicos de crianças com rinite alérgica, sendo necessário o uso conjunto de outras medidas de controle ambiental para atingir benefícios clínicos nestes pacientes (Terreehorst et al., 2003). Medidas para controle ambiental de ácaros podem ser vistos no quadro 1.

1.2 Ácaros de estoque

Ácaros de estoque pertencem às famílias Glycyphagidae e Acaridae e também se desenvolvem bem em climas com temperatura entre 25-30 graus e umidade relativa do ar a 80 (Van Hage-Hamesten e Johanson, 1992) e se reproduzem por até 30 vezes ao ano, o que caracteriza uma reprodução bem mais acelerada do que ácaros de poeira doméstica (Panzer e Krebs, 2020). Alguns exemplos destes ácaros incluem os gêneros *Glycyphagus*, *Tyrophagus*, *Lepidoglyphus* e *Acarus* (Fernández-Caldas et al 2014).

Estes ácaros podem ser encontrados em diferentes produtos, como grãos, farinha, feno, palha, frutas, queijo, dentre outros (Van Hage-Hamesten e Johanson, 1992) e têm sido relacionados com indução de doenças alérgicas em humanos, como asma e rinite, especialmente em populações de ambiente rural (Van Hage-Hamesten

e Johanson, 1998). É estabelecido que existem similaridades entre alguns epítomos de determinadas espécies de ácaros de estoque com ácaros de poeira como, por exemplo, similaridades entre Lep d 1 e Der p 1 e, em menor escala, do grupo 2 destes alérgenos (Van Hage-Hamsten e Johanson, 1998).

Em cães, diversos estudos demonstram que cães com dermatite atópica apresentam sensibilização a estas espécies, com resultados variando de 73 a 100% (Arlian et al., 2003; Mueller et al., 2005; Nuttal et al., 2006; Popiel e Cekiera, 2015).

1.3 Alérgenos de ácaros da poeira doméstica

Alérgeno é um antígeno capaz de suscitar uma resposta de hipersensibilidade (Olivry et al., 2001). Os alérgenos de ácaros são estabelecidos pelo Sub-comitê de Nomenclatura de Alérgenos da Organização Mundial da Saúde (OMS). A OMS estabelece que cada alérgeno seja representado, em itálico, pelas três primeiras letras do gênero do ácaro, seguido por um espaço simples e pela primeira inicial da espécie e, em seguida, por um número romano (exemplo: *Der f 1* para *Dermatophagoides farinae* 1). Os alérgenos serão numerados de acordo com a ordem de descoberta ou estrutura bioquímica, com algumas exceções. Estruturas homólogas de diferentes espécies serão classificadas com o mesmo número (Marsh et al, 1986).

Os principais alérgenos de ácaros da poeira doméstica são oriundos de enzimas digestivas, como proteases cisteínas, tripsinas e quimotripsinas, amilases, collagenases e quitinases (Bessot e Pauli, 2011), e sofrem importantes influências dietéticas. Estes alérgenos são liberados juntamente com as partículas fecais dos ácaros e elementos de sua cutícula (Colloff, 2009), e estas partículas são mantidas em sua estrutura por uma membrana peritrófica. Isto é importante pois alguns alérgenos podem ser suspensos no ar na forma de partículas fecais intactas (Platts-Mills et al., 1997).

A produção de IgE frente a um alérgeno pode promover respostas a outros antígenos e respostas a componentes não-alergênicos podem acontecer, tornando necessária a identificação dos reais alérgenos que levam a sensibilização do indivíduo (Thomas, 2015).

205 Até o momento, segundo a Organização Mundial da Saúde, são descritos 40
 206 alérgenos de *D. farinae*, 34 alérgenos de *D. pteronyssinus* e 13 alérgenos de *B.*
 207 *tropicalis* (tabelas 1 a 3).

208 Tabela 1 - Alérgenos identificados de *Blomia tropicalis*
 209 Alérgenos identificados de *Blomia tropicalis*

Alérgeno	Nome bioquímico	Peso molecular (kDa)
Blo t 1	Cisteína	39 kDa
Blo t 2	Família NPC2; MD-2 proteínas relacionadas a lipídios	14.5 kDa
Blo t 3	Tripsina	23.8 kDa
Blo t 4	Alfa-amilase	56 kDa
Blo t 5	Alérgeno do grupo 5/21	14 kDa
Blo t 6	Quimotripsina	25 kDa
Blo t 7	Bactericidal permeability-increasing like protein	25 kDa
Blo t 8	Glutathione S-transferase	27 kDa
Blo t 9	Trypsin-like serine protease	27 kDa
Blo t 10	Tropomyosin	33 kDa
Blo t 11	Paramyosin	110 kDa
Blo t 12	Peritrophin-A-like domain containing protein	14 kDa
Blo t 13	Cytosolic fatty acid-binding protein	14.8 kDa

210 Fonte: allergen.org

211
 212 Tabela 2 - Alérgenos identificados de *Dermatophagoides pteronyssinus*.
 213 Alérgenos identificados de *Dermatophagoides pteronyssinus*

Der p 1	Cisteína	24
Der p 2	<u>NPC2 family; MD-2-related lipid recognition (ML) domain containing protein</u>	15 kDa
Der p 3	<u>Trypsin</u>	31 kDa
Der p 4	<u>Alpha-amylase</u>	60 kDa
Der p 5	<u>Group 5/21 allergen</u>	14 kDa
Der p 6	<u>Chymotrypsin</u>	25 kDa
Der p 7	<u>Bactericidal permeability-increasing like protein</u>	26, 30 and 31 kDa
Der p 8	<u>Glutathione S-transferase</u>	27 kDa
Der p 9	<u>Collagenolytic serine protease</u>	29 kDa
Der p 10	<u>Tropomyosin</u>	36 kDa
Der p 11	<u>Paramyosin</u>	103 kDa
Der p 13	<u>Cytosolic Fatty Acid Binding Protein</u>	15 kDa
Der p 14	<u>Apolipoprotein</u>	177 kDa
Der p 15	<u>Chitinase, contains a C-terminal peritrophin-A-like domain</u>	58.8 and 61.4 kDa
Der p 16	<u>Gelsolin</u>	55 kDa
Der p 18	<u>Non-catalytic chitinase-like protein (contains a C-terminal peritrophin-A-like domain)</u>	49.2 kDa
Der p 20	<u>Arginine kinase</u>	40 kDa
Der p 21	<u>Group 5/21 allergen</u>	14.726 kDa
Der p 23	<u>Peritrophin-like protein domain (PF01607)</u>	14 kDa (dimer)
Der p 24	<u>Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein; Cytochrome b-c1 complex subunit 7</u>	13 kDa
Der p 25	<u>Triosephosphate isomerase</u>	27 kDa
Der p 26	<u>Myosin light-chain</u>	14.1 kDa
Der p 27	<u>Serpin serine protease inhibitor</u>	45 kDa
Der p 28	<u>Heat shock protein Hsp70</u>	45 kDa
Der p 29	<u>Cyclophilin</u>	27.7 kDa
Der p 30	<u>Ferritin</u>	12.1 kDa
Der p 31	<u>Cofilin</u>	16.8 kDa
Der p 32	<u>Inorganic pyrophosphatase</u>	45 kDa

Der p 33	<u>alpha-tubulin</u>	44.2 kDa
Der p 36	<u>C2 domain containing protein</u>	23 kDa
Der p 37	<u>Chitin binding protein (contains 2 peritrophin-A-like domains)</u>	30 kDa
Der p 38	<u>Bacteriolytic enzyme</u>	15 kDa
Der p 39	<u>Troponin C</u>	18 kDa
Der p 40	<u>Thioredoxin like protein</u>	12 kDa

214 Fonte: allergen.org

215

216 *Tabela 3 - Alérgenos identificados de Dermatophagoides farinae.*

217 Alérgenos identificados de *Dermatophagoides farinae*

Alérgeno	Nome bioquímico	Peso molecular (kDa)
Der f 1	Cisteína	27
Der f 2	Família NPC2; MD-2 proteínas relacionadas a lipídios	15 kDa
Der f 3	Trypsin	29 kDa
Der f 4	Alpha-amylase	57.9 kDa
Der f 5	Group 5/21 allergen	15.5 kDa
Der f 6	Chymotrypsin	25 kDa
Der f 7	Bactericidal permeability-increasing like protein	30-31 kDa
Der f 8	Glutathione S-transferase	32 kDa
Der f 10	Tropomyosin	37 kDa
Der f 11	Paramyosin	98 kDa
Der f 13	Cytosolic fatty acid-binding protein	15 kDa
Der f 14	Apolipoprotein	177 kDa
Der f 15	Chitinase, contains a C-terminal peritrophin-A-like domain	98/109 kDa
Der f 16	Gelsolin/villin	53 kDa
Der f 17	Calcium binding protein	53 kDa
Der f 18	Proteína tipo quitinase não catalítica	60 kDa
Der f 20	Arginine kinase	40 kDa
Der f 21	Group 5/21 allergen	14 kDa
Der f 22	NPC2 family; MD-2-related lipid recognition (ML) domain containing protein	14.7 kDa
Der f 23	Peritrophin-A-like protein	19 kDa (Der f 23.01), 8 kDa (Der f 23.02)
Der f 24	Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein; Cytochrome b-c1 complex subunit 7	13 kDa
Der f 25	Triosephosphate isomerase	34 kDa
Der f 26	Myosin alkali light chain	18 kDa
Der f 27	Serpin	48 kDa
Der f 28	Heat shock protein Hsp70	70 kDa
Der f 29	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (cyclophilin)	15 kDa
Der f 30	Ferritin	15 kDa
Der f 31	Cofilin	15 kDa
Der f 32	Inorganic pyrophosphatase	35 kDa
Der f 33	alpha-tubulin	52 kDa
Der f 34	Rid-like protein; enamine/imine deaminase	16 kDa
Der f 35	NPC2 family; MD-2-related lipid recognition (ML) domain containing protein	14.4 kDa, natural and recombinant
Der f 36	C2 domain-containing protein	23 kDa
Der f 37	Chitin binding protein (contains 2 peritrophin-A-like domains)	29 kDa
Der f 38	Bacteriolytic enzyme	15 kDa
Der f 39	Troponin C	18 kDa
Der f 40	Thioredoxin like protein	12 kDa
Der f 42	Na/K-exchanging ATPase beta-subunit	36 kDa
Der f 43	Peroxiredoxin 1	27 kDa
Der f 44	Peroxiredoxin 2	25 kDa

218 Fonte: allergen.org

Diversos estudos em cães demonstraram resultados de sensibilização aos ácaros domésticos utilizando-se de teste intradérmico e/ou sorologia alérgeno-específica, com resultados variando de 1,6 a 100%, dependendo da metodologia utilizada. Os resultados de diversos estudos estão sintetizados na tabela 4.

Na medicina veterinária, a caracterização de quais proteínas derivadas de ácaros têm importância em cães com dermatite atópica começou no início do século XV. Nuttal et al. (2001) utilizaram soro de cães com dermatite atópica para demonstrar que a maioria das amostras reconheciam epítomos de alto peso molecular frente a alérgenos de *D. farinae* e *D. pteronyssinus*, em especial alérgenos de peso entre 97-98kDa e 102-104kDa.

No mesmo ano, McCall et al. (2001) caracterizaram e clonaram um alérgeno de importância do *D. farinae* com peso molecular de 98-109kDa, identificado como Der f 15, uma quitinase, especialmente localizada em órgãos como ventrículo, esôfago, reto e intestinos dos ácaros, implicando em uma função relacionada à digestão destes.

Posteriormente, Weber et al. (2003) demonstraram que o Der f 18, outra quitinase de 60kDa, foi reconhecido na maioria dos soros de cães sensibilizados aos ácaros de poeira, tal qual em humanos. Segundo O'Neil et al. (2006), Der f 18 e Der p 18 possuem 88% de aminoácidos idênticos ao passo que Der p 15 e Der f 15 possuem 90% de similaridade na sequência de aminoácidos, o que fortemente sugere possível reação-cruzada entre estes alérgenos.

Por outro lado, alérgenos de baixo peso parecem diferir em sua importância na dermatite atópica em cães, a depender da região. Noli et al. (1996) relataram que nenhum soro de cão com dermatite atópica foi positivo para proteínas do grupo 1 e 2 de *Dermatophagoides farinae* e *pteronyssinus*, por western blot em cães europeus. No Japão, por outro lado, estes alérgenos de baixo peso molecular parecem ter importância nos cães com dermatite atópica deste país (Masuda et al., 1999). Neste estudo, de 16 soros de cães com dermatite atópica, seis detectaram IgE contra Der f 1 e sete contra Der f 2, o que aconteceu similarmente ao mensurarem alérgenos de Der p 1 e Der p 2 (Masuda et al., 1999). Ainda, oito cães não apresentaram IgE específica contra nenhum destes alérgenos (Masuda et al., 1999).

Outro estudo japonês demonstrou por volta de 45% e 75% de sensibilização aos alérgenos purificados de Der f 1 e Der f 2, respectivamente (Yamashita et al., 2002). Neste estudo, alérgenos de *D. pteronyssinus* apresentaram bem menor positividade, resultando em quase 8% e 23% de cães positivos ao Der p1 e Der p 2, respectivamente.

No Brasil, alguns estudos utilizando western blot também mostraram que alguns soros de cães atópicos reconheciam bandas de baixo peso molecular de ácaros *Dermatophagoides*. No Rio de Janeiro, apenas 20% de 10 soros reconheceram bandas entre 12 e 17kDa de *D. farinae*, possivelmente se tratando de Der f 2 (Cunha et al., 2012). Neste mesmo estudo, ao menos 50% das amostras reconheceram proteínas de alto peso molecular, como 102kDa (80%), 52-76kDa (80%), 76kDa (50%) e 225kDa (50%).

Outros estudos em cidades brasileiras demonstraram que os grupos 1 e 2 podem sim estar implicados na sensibilização de cães com dermatite atópica. Em um estudo avaliando o soro de cães por western blot para alérgenos de *D. pterononyssinus*, os autores demonstraram que 100% dos cães sensibilizados ao ácaro reconheceram bandas entre 21-31kDa, o que pode corresponder ao Der p 1 (24kDa), e 54% reconheceram bandas entre 14-21kDa, o que pode indicar o Der p 2 (14kDa) (Possebom et al., 2016). Similarmente, em outro estudo, os mesmos autores relataram que 100% dos soros utilizados, através de western blot, reconheceram bandas entre 21-31kDa de *D. farinae*, o que pode corresponder ao Der f 1 (24kDa) (Possebom et al., 2016).

Mais recentemente, diversos estudos pesquisaram IgE sérica utilizando Der f 2 recombinante em cães atópicos, demonstrando diferentes resultados a depender da localização geográfica. Em 2016, Olivry et al. identificaram apenas 6 e 28% de positividade ao Der f 2 em amostras de cães com dermatite atópica no Estado americano da Carolina do Norte e na Europa (França e Suíça). Ainda, menos de 50% de positividade também foi demonstrada em cães provenientes da Malásia, onde um estudo relatou que 48% dos cães foram positivos ao Der f 2 (Chan et al., 2016).

Todavia, em cães ingleses, o Der f 2 foi positivo em 90% de 85 amostras de soro de cães com dermatite atópica incluídos (Patel et al., 2018), demonstrando a

importância deste alérgeno como causador de sensibilização nesta região. No Brasil, estudos na cidade de Curitiba (Paraná) e Botucatu (São Paulo) mostraram positividade sérica de 56% e 97,5% ao alérgeno, respectivamente (Ludwig et al., 2021; Freeza et al., 2023).

Outro alérgeno de alto peso molecular que tem grande importância na sensibilização de cães com dermatite atópica é o Zen 1 e vem sendo descrito em diversas publicações, desde sua identificação por Tsukui et al. (2008) no soro de cães japoneses. Este alérgeno possui 188kDa e parte de sua sequência de aminoácidos é similar ao Der f 15, o que pode tornar concebível a possibilidade de reação cruzada em epítomos repetidos entre os dois alérgenos (Olivry et al., 2016). O Zen 1 é considerado um importante alérgeno derivado de *D. farinae* relacionado com dermatite atópica em cães dos Estados Unidos (Olivry et al., 2016), Itália, Letônia, Holanda, Inglaterra (Olivry et al., 2016; Patel et al., 2018; Favrot et al., 2022), Malásia, Japão, Taiwan, Tailândia (Chan et al., 2019; Favrot et al., 2022), Brasil (Ludwig et al., 2021; Freeza et al., 2023), Argentina e África do Sul (Favrot et al., 2022).

Cães experimentalmente infectados com *Toxocara canis* apresentaram níveis séricos de IgE contra *D. farinae* maiores do que cães não infectados com *T. canis*. Contudo, estes cães apresentaram menos prurido e sinais clínicos quando desafiados com *D. farinae* do que cães controle, o que mostra que pode haver uma reação cruzada entre os alérgenos, mas de alguma forma a infestação com *T. canis* apresentou um efeito protetor (Fischer et al., 2018).

Posteriormente, em outro estudo, utilizando soro de 73 cães sensibilizados a *D. farinae*, foi observado que reações cruzadas entre *T. canis* e alérgenos de *D. farinae* são complexas e heterogêneas, uma vez que algumas moléculas de IgE de reação cruzada podem reconhecer glicanas em Der f 15 e Zen 1, e outras podem reconhecer epítomos em paramiosinas e tropomiosinas mútuas (Olivry et al., 2024). A sensibilização por ácaros de poeira doméstica também demonstrou produzir moléculas de IgE e IgG que podem reagir de forma cruzada contra antígenos derivados de larvas de *Ascaris*, em especial dos tipos tropomiosina e enolase (Gazzinelli-Guimarães et al., 2021).

Ainda, cães com contato direto com um ácaro de aves europeu, o *Dermanyssus gallinae*, não apresentaram sensibilização cruzada com ácaros de poeira doméstica (*D. farinae* e *D. pteronyussinus*) e ácaros de estoque (*L. destructor*, *A. siro* e *T. putrescentiae*), através de avaliação por teste cutâneo intradérmico e pesquisa de IgE sérica. Muitos destes cães apresentaram sensibilização ao *D. gallinae*, sem apresentarem sinais clínicos de alergia (Martins et al., 2019).

Tabela 4 - Resultado de sensibilização aos ácaros domésticos de diferentes estudos.
Resultado de sensibilização aos ácaros domésticos de diferentes estudos (valores em porcentagem)

Autores	N	Df		Dp		HDM		As		Tp		Ld	
		IDT	IgE	IDT	IgE	IDT	IgE	IDT	IgE	IDT	IgE	IDT	IgE
Vollset, 1985	122	37,7		1,6									
Carlotti e Costargent, 1994	409	54,5		20,5									
Koch e Peters, 1994	207	18,8		13,5									
Sture et al., 1995		45,6		19,4		60,1							
Lian e Haliwell, 1998	65	89,2	86,2	69,2	84,6								
Mueller et al., 1999		34		14									
Masuda et al., 1999		64,3		54,8			54,4						
Hillier et al., 2000	115	21 ^z		2 ^z		47							
Bensignor e Carlotti, 2002	150	72		25									
Yamashita et al., 2002							54,5						
Foster et al., 2003	265	78,9	55,8	66,4	14								
Nodtvedt et al., 2006	282	68,1		15,3				46,5		55,7		22,7	
Chantick et al., 2008		74,6		53,5									
Farmaki et al., 2012	20	100	100	50	70			65	100	70	100	55	70
Bjelland et al., 2014	1107		80,2						84		79,9		
Pereira et al., 2015		33,3	86,5	24,2	29,7								
Chermprapai et al., 2020		64,6		58,5		47,5							
Adam et al., 2022	189		14		6				5,4		10,3		
Drouet et al., 2024	19.239		84,2		41,6				81,4		78,5		20,7

319

320 1.4 Efeitos imunológicos dos ácaros de poeira doméstica na dermatite atópica em
321 cães
322

323 A dermatite atópica em cães é uma doença hereditária, pruriginosa, associada
324 à hiper- reatividade de sub- populações de linfócitos T, anormalidades de barreira
325 cutânea, sensibilização alérgica e disbiose de microrganismos (Eisenschenk, et al.,
326 2024).

327 Diversos estudos demonstram que a aplicação epicutânea de ácaros de poeira
328 doméstica, em especial o *D. farinae*, pode provocar produção de diversas citocinas
329 pró-inflamatórias e pruritogênicas, aumentando, assim, o prurido e sinais clínicos da
330 doença. Ácaros de poeira doméstica podem produzir proteases, impactando
331 negativamente a barreira epidérmica, além de conter diversas outras substâncias
332 biológicas que podem, de alguma maneira, modular a resposta imunológica e facilitar
333 a penetração de outros alérgenos devido às suas ações em desmosossomos
334 (Marsella, 2009).

335 A aplicação epicutânea de *D. farinae* pode promover sinais clínicos como
336 eritema, pápulas e prurido em cães sensibilizados, primeiramente visíveis dentro de
337 seis horas após aplicação (Marsella et al., 2006). Neste estudo piloto, os autores
338 demonstraram que cães não sensibilizados não apresentaram tais sinais (Marsella et
339 al., 2006). Posteriormente, Pucheu-Haston et al. (2008) demonstraram que a
340 aplicação epicutânea de *D. farinae* foi capaz de induzir dermatite pruriginosa
341 localizada e generalizada em cães de laboratório, bem como promovendo alterações
342 histológicas semelhantes às ocasionadas por inflamação mediada por IgE,
343 mimetizando o desenvolvimento natural da doença. Ainda, estes cães apresentaram
344 elevações de níveis de IgE específicas contra ácaros de poeira doméstica. Além de
345 IgE, a aplicação epicutânea de *D. farinae* pode promover reações tardias como
346 hiperplasia epidérmica, hiperplasia de células de Langerhans, atração epidérmica de
347 eosinófilos e linfócitos, bem como aumento de células T e células dendríticas na derme
348 (Olivry et al., 2006).

349 Alterações na expressão de citocinas também são observadas após aplicação
350 epicutânea de ácaros de poeira doméstica. Olivry et al. (2016) demonstraram a

expressão de diversos genes após 24 e 48 horas de exposição, com destaque da predominância de genes relacionados a transcrição da IL-31, confirmando uma rápida expressão de citocinas do tipo Th2 e Th22 induzida por ácaros (figura 5). Outro estudo mostrou que em 24 horas após aplicação epicutânea, beagles de laboratório sensibilizados a ácaros apresentaram crescente regulação de genes Th2 (IL-4R, IL-5, IL-13, CCL17), bem como pró-inflamatórias (IL-18, IL-1A), Th17 (IL-17B, IL-17F, CCL20) e Th22 (IL-22) (Banovic e Blubaugh, 2024). Este estudo demonstrou que mesmo cães não sensibilizados apresentaram essa regulação, com exceção de genes Th22 (Banovic e Blubaugh, 2024). Isso pode ser explicado pois, além de mecanismos induzidos pela ligação às moléculas de IgE na epiderme, os ácaros podem promover inflamação da pele por outros mecanismos, como a ação de inerentes propriedades proteolíticas contra proteínas de barreira e pela ativação de receptores ativados por proteases (PARs) em terminações nervosas e células imunológicas (Banovic e Blubaugh, 2024).

Um outro estudo propôs estabelecer um modelo experimental completo de dermatite atópica canina utilizando a aplicação epicutânea de *D. farinae* como alérgeno provocador (Kim e Kim, 2022). Os autores utilizaram seis beagles de laboratório de 14 meses de idade e aplicaram adesivos de contato contendo extrato de *D. farinae* e óleo mineral nas regiões abdomino-inguinal de cada cão incluído (figura 6). As avaliações de scores de lesão e a perda de água transepidérmica significativamente aumentaram após as fases de sensibilização e provocação, bem como citocinas pró-Th2, como a IL-13 e IL-31. Em adição, níveis de IL-10 reduziram significativamente, mostrando uma supressão de células T reguladoras após sensibilização e provocação com ácaros de poeira doméstica (Kim e Kim, 2022).

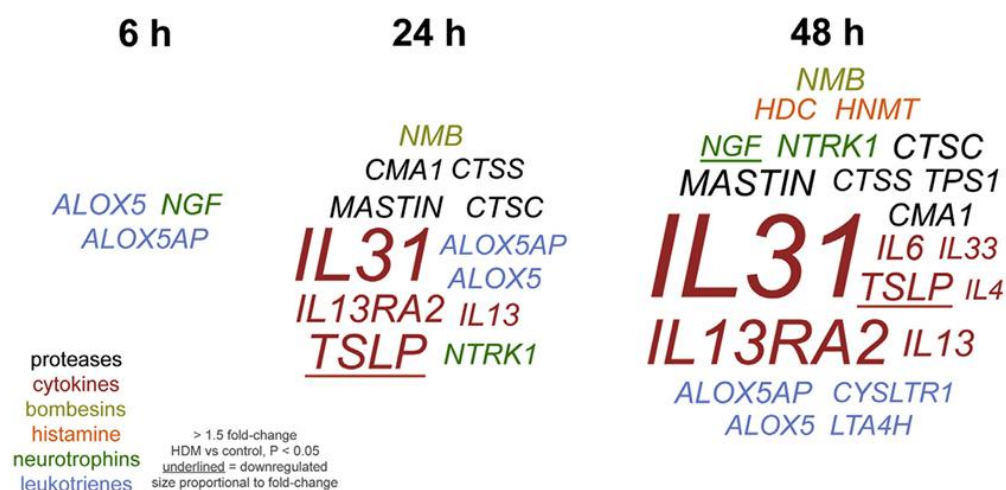
Ainda, ácaros de poeira doméstica podem promover a resposta imune inata através de mecanismos ainda pouco esclarecidos (Jacquet, 2021). Contudo, sabe-se que estes alérgenos podem ativar respostas inatas resultando em citocinas pró-inflamatórias epiteliais e liberação de alarminas, como o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF), IL-25, IL-33 e TSLP, promovendo um meio favorável a resposta pró-Th2 (Jacquet, 2021).

Ácaros podem estimular receptores do tipo ativador de proteases (PARs) ou do tipo toll (TLRs), levando a ativação de TSLP por queratinóticos (Tamamoto-

Mochizuki et al., 2022). Ainda, cães com dermatite atópica sensibilizados à ácaros de poeira doméstica apresentam níveis elevados de quimiocina ativadora da regulação do timo (TARC/CCL17), quando comparados a cães sem dermatite atópica. Esta substância está positivamente correlacionada com severidade da doença em cães com dermatite atópica (Asahina et al., 2020).

O uso de componentes orgânicos voláteis, detergentes e sabonetes, solventes e produtos de limpeza, produtos de cuidados com a pele e abrasões cutâneas podem prejudicar a barreira cutânea e favorecer a entrada de alérgenos derivados de ácaros (Cork et al., 2006; Huss-Marp et al., 2006). Ainda, ácaros de poeira doméstica podem ser encontrados em fluidos gástrico e duodenal de cães com enteropatias crônicas, ajudando a promover um aumento na expressão da citocina IL-1beta por macrófagos e, de alguma forma, tendo importância na patogênese desta doença gastrointestinal (Takahashi et al., 2020).

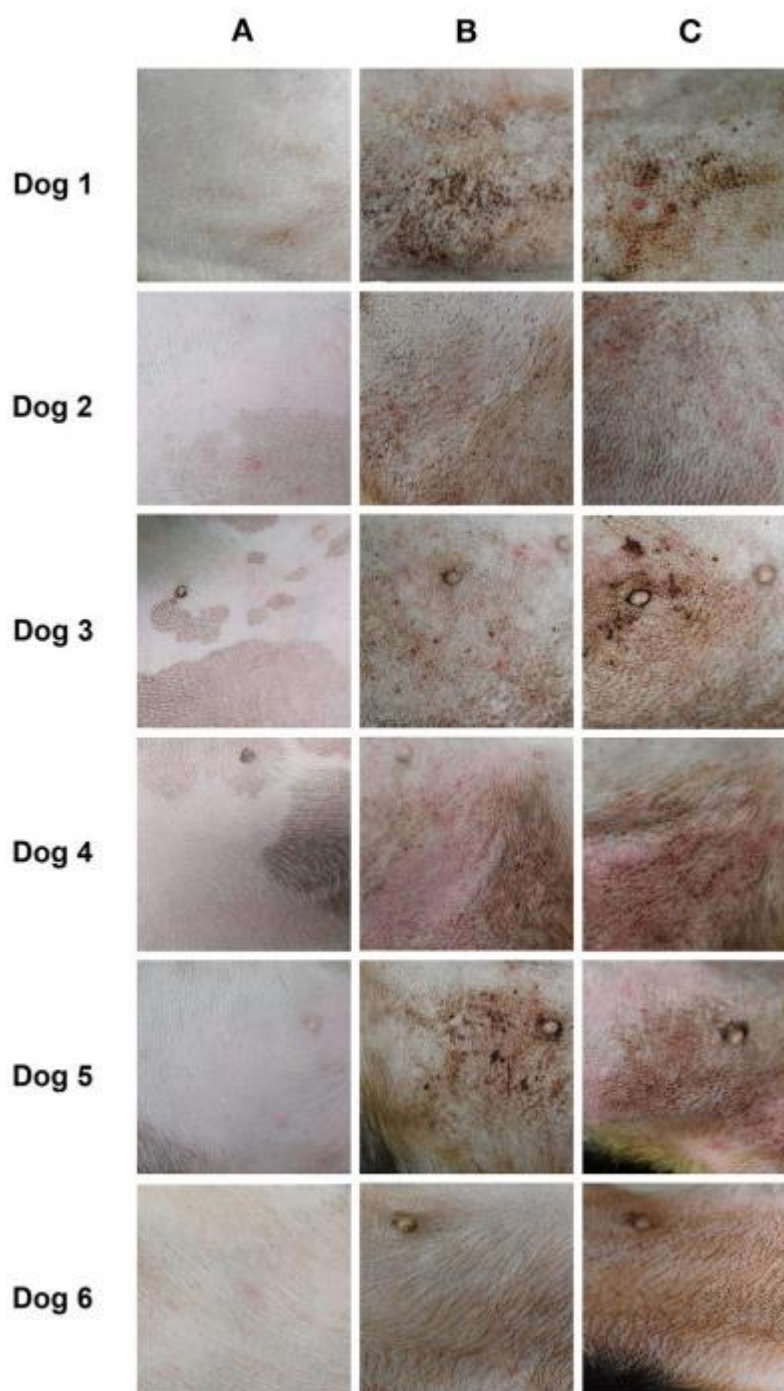
Figura 5 - Expressão de genes relacionados a resposta inflamatória e pruriginosa selecionados após seis, 24 e 48 horas de exposição epicutânea de *D. farinae*.



Fonte: Olivry et al., 2016.

406
407

Figura 6 - Virilhas de seis cães e lesões após aplicação epicutânea de *D. farinae*. (A) pré-sensibilização; (B) pós-sensibilização; (C) pós-provocação.



408
409

Fonte: Kim e Kim, 2022.

410

411

412

2 TESTES DE SENSIBILIZAÇÃO NA DERMATITE ATÓPICA CANINA

Os testes de sensibilização (também conhecidos como testes alérgicos) para alérgenos ambientais podem ser realizados após o diagnóstico clínico da dermatite atópica em cães e não devem ser usados como teste de triagem (Hensel et al., 2015). Na medicina veterinária, os testes mais utilizados globalmente são os testes intradérmico e a sorologia alérgeno-específica e devem ser realizados a fim de tentar reduzir exposição aos possíveis alérgenos sensibilizadores e formular imunoterapia alérgeno-específica (Hensel et al., 2015). Recentemente, uma revisão sistemática avaliou a eficácia de testes de sensibilização em cães com dermatite atópica e concluiu que há pouca informação disponível para estabelecer uma performance diagnóstica destes testes, tornando difícil recomendações de utilização, enfatizando a necessidade de novos estudos a fim de padronizar todas as técnicas (Morales-Romero et al., 2025).

2.1 Teste intradérmico

O teste intradérmico é um teste de sensibilização *in vivo* muito utilizado em cães com dermatite atópica. Por outro lado, em humanos, este teste é menos utilizado devido ao custo e maior risco de efeitos adversos, quando comparados a outro método *in vivo*, como o teste de punção (Hillier e DeBoer, 2001).

O teste é usualmente realizado na lateral torácica, após tricotomia local, onde marcações com canetas são realizadas para cada aplicação, com intervalo em geral de 2cm entre eles. Tipicamente, aplica-se pela via intradérmica um volume de 0.05 a 0.1mL de cada alérgeno e aguarda-se um intervalo de 15-20 minutos para a leitura das reações (Hensel et al., 2015). Há duas formas de interpretação destes resultados: subjetiva e objetiva. Subjetivamente, analisa-se intensidade de eritema, turgidez e tamanho papular formado, ao passo que objetivamente analisa-se o diâmetro de área papular, comparando-se com pontos de corte resultantes dos controles positivos e negativos (Hubbard e White, 2011).

Controles positivos geralmente constituem-se de fosfato de histamina, com concentrações variando entre 0.01 e 0.1 mg/m, ao passo que o controle negativo se constitui de solução salina fenolada (Hensel et al., 2015). Extratos glicerizados podem

aumentar a durabilidade dos extratos, porém em estudo recente demonstrou que extratos de histamina e salina glicerinados a 50% podem induzir resultados falsos positivos em animais saudáveis (Banovic et al., 2023). Cães saudáveis também podem resultar positivos para alguns alérgenos. Quando aplicado em Beagles de laboratório saudáveis, o intradérmico resultou positivo para ao menos um de quatro ácaros testados em sete de 17 animais inclusos. Um deles, apresentou também sorologia por ELISA monoclonal para os mesmos alérgenos, o que pode indicar sensibilização assintomática (Koebrich et al., 2012).

Alguns estudos buscaram identificar o limiar de concentração irritante de extratos aquosos para testes intradérmicos em cães saudáveis. O primeiro estudo data de 1982 onde os autores incluíram 45 cães saudáveis e observaram que para *D. pteronyssinus*, a concentração ideal era de 10 U/mL, similar o que era utilizado em humanos na data (Willemse e Van Den Brom, 1982). Na década de 90, dois estudos avaliaram extratos de diferentes fabricantes. Um avaliou um extrato misto de 1:1 de *D. farinae* e *D. pteronyssinus* (Mixed Mites, Center Laboratories®, Port Washington, NY, Estados Unidos) e identificou a concentração de 31.24 PNU/mL como a concentração ideal a ser utilizada daquele extrato (Wellington et al., 1991). O segundo avaliou também um extrato misto de ambas as espécies de *Dermatophagoides* (Greer Laboratories Inc®, Lenoir, NC, Estados Unidos) e identificou a concentração de 1:50.000 p/v como a concentração ideal, o que representava uma diluição bem maior do que a recomendada pelo fabricante até aquela data (1:5.000 p/v) (Codner e Tinker, 1995). Alguns anos depois, a primeira força tarefa de dermatite atópica reforçou a sugestão do uso de concentração de 1:50.000 p/v para ácaros de poeira doméstica (Hillier et al., 2001). Um outro estudo avaliou 30 cães saudáveis com extratos aquosos de dois diferentes laboratórios (Greer Laboratories Inc®, Lenoir, NC, Estados Unidos; ALK®, Round Rock, TX, Estados Unidos) e identificaram, para *D. pteronyssinus*, a concentração ideal de 100 PNU/mL. Os autores não conseguiram identificar as concentrações ideais para *D. farinae* e *T. putrescentiae* pois mais de 10% dos cães incluídos tiveram reações positivas mesmo para as mais baixas diluições testadas (Hensel et al., 2004). Os mais recentes estudos descrevendo concentrações de limiar irritante para ácaros reportam as concentrações de 100-200 PNU/mL para *D. pteronyssinus*, 75 PNU/mL para *T. putrescentiae* e *L. Destructor*, 50 PNU/mL para *B. tropicalis* e *A. siro* (Greer Laboratories Inc®, Lenoir, NC, Estados Unidos) (Hensel et

479 al., 2015), além de 75 PNU/mL para *D. farinae* (Greer Laboratories Inc®, Lenoir, NC,
480 Estados Unidos) (Hensel et al., 2015) e <1:10.000 p/v (ALK®, Round Rock, TX,
481 Estados Unidos) (Foust-Wheatcraft et al., 2017).

482 De fato, a composição de diferentes extratos para teste intradérmico
483 disponíveis torna difícil a padronização da técnica. Um estudo avaliou extratos
484 alergênicos de diferentes fabricantes etiquetados com as mesmas espécies e
485 concentrações e demonstrou heterogeneidade na composição e potência entre cada
486 lote (Abrams et al., 2018).

487 Determinadas drogas podem interferir na realização do teste intradérmico e a
488 administração destas devem ser levadas em consideração quando optado pela
489 realização do teste. Medicamentos devem ser descontinuados por determinado tempo
490 antes do teste: anti-histamínicos por sete dias; glicocorticoides orais de curta duração
491 por 14 dias e de longa duração por ao menos 28 dias; glicocorticoides tópicos por 14
492 dias (Hensel et al., 2015). O uso da ciclosporina (Burton et al. 2002; Goldman et al.,
493 2010) e de oclacitinib (Aleo et al., 2023; Baretta et al., 2023) não parecem interferir na
494 performance do teste. Da mesma forma, o uso de pomada de tacrolimus a 0.1%
495 parece não interferir em reações imediatas, dentro de 15 minutos, mas pode interferir
496 em reações mais tardias (Marsella et al., 2004). Em recente estudo, uma única
497 aplicação de medicamento otológico contendo furoato de mometasona foi capaz de
498 reduzir o diâmetro de pápulas de histamina por semanas em cães com e sem otite
499 externa, o que torna prudente aguardar ao menos quatro semanas para realizar o
500 teste após a aplicação deste tipo de produto em cães com otite externa (Clegg et al.,
501 2024).

502 Ainda, da mesma forma, o uso de sedativos e anestésicos deve ser usado com
503 cautela. Deve-se evitar o uso de oximorfona, quetamina/diazepam, acepromazina e
504 morfina, dando preferência ao uso de (dex)medetomidina, xilazina,
505 tiletamina/zolazepam e anestésicos inalatórios (Hensel et al., 2015). A interferência do
506 propofol ainda é pouco esclarecida, visto que dois estudos apresentaram resultados
507 distintos: um inibindo e o outro aumentando as reações de extratos de histamina
508 (Kennis et al., 1998; Graham et al., 2003). Um estudo comparou o uso intravascular
509 de alfaxolona e de medetomidina como medicamentos sedativos para a realização do
510 teste intradérmico, com ambos os medicamentos apresentando-se similares, sem

influências significativas em oito diferentes alérgenos, além dos controles positivo e negativo (Meason et al., 2023). Mais recentemente, a medetomidina também foi comparada com vatinoxano demonstrando que ambas não interferem com o tamanho das pápulas de histamina em animais hígidos, com um efeito sedativo alcançado mais rapidamente pelo vatinoxano (Santoro et al., 2025). Ainda, o uso externo de creme de lidocaína a 5% no local da aplicação intradérmica mostrou não interferir nos diâmetros das pápulas de diferentes alérgenos, promovendo uma analgesia extra durante a realização do teste (Tomich et al., 2021).

2.2 Teste sorológico alérgeno-específico

Testes sorológicos detectam IgE sérica contra um painel de alérgenos considerados relevantes na precipitação dos sinais clínicos de um indivíduo alérgico, em especial alérgenos ambientais (DeBoer e Hillier, 2001). Contudo, animais saudáveis sem histórico de doença cutânea alérgica podem apresentar níveis elevados de IgE sérica frente a diversos alérgenos (Roque et al., 2011). Classicamente, a detecção de IgE sérica é realizada utilizando moléculas anti-IgE canina policlonais, monoclonais ou mistas; contudo, os anticorpos monoclonais são preferíveis devido a maior sensibilidade e especificidade (Hensel et al., 2015). De fato, um estudo utilizando teste policlonal demonstrou sensibilidade e especificidade de 53 e 84%, respectivamente, com baixa correlação com o teste intradérmico (Saevik et al., 2003). Ainda, há um teste de ELISA utilizando um domínio extracelular recombinante da proteína da cadeia alfa do receptor Fc-epsilon de alta afinidade (FcεRIα), que apresenta alta afinidade para IgE canina sem apresentar reação cruzada com outros anticorpos, como IgG (Wassom et al., 1998; Hensel et al., 2015). Contudo, em um estudo, este teste apresentou baixa sensibilidade para ácaros de poeira doméstica quando comparados ao intradérmico, com resultados variando de 19 a 77% para *D. pteronyssinus* e *D. farinae*, respectivamente (Foster et al., 2003). De fato, há diversos testes disponíveis globalmente com pouca concordância entre eles, e a escolha do método pode influenciar nos resultados e em futuras recomendações terapêuticas (Plant et al., 2014).

Por outro lado, há estudos demonstram que a sorologia alérgeno-específica pode apresentar alta sensibilidade e especificidade para alérgenos ambientais quando

comparados com o intradérmico, como os ácaros domésticos (Mueller et al., 1999; Tarpataki et al., 2008). Um estudo avaliando 84 cães demonstrou sensibilidade de 95.1% e especificidade de 96.3% (Mueller et al., 1999). Outro estudo utilizando ELISA monoclonal demonstrou uma sensibilidade média de 82.4% e especificidade de 93.8% para ácaros domésticos, com acurácia de 91.3% (Tarpataki et al., 2008). A concordância entre os testes aumenta quando testes sorológicos contendo bloqueadores de determinantes carboidratos de reações cruzadas (CCDs) são utilizados (Gedon et al., 2019). Os CCDs são porções de carboidratos encontradas na superfície de células comuns em muitos alérgenos ambientais, em especial plantas e insetos, e podem ser encontrados em alta prevalência no soro de cães saudáveis e com dermatite atópica, apesar de não apresentarem relevância clínica (Levy e DeBoer, 2018; Piccione e DeBoer, 2019). Ao bloquear estes CCDs em testes sorológicos, a positividade de alérgenos de plantas e insetos cai substancialmente. Contudo, alérgenos de ácaros parecem não sofrer influência destas moléculas (Canning et al., 2021; Kaspert et al., 2023).

Mais recentemente, um estudo demonstrou que anticorpos IgG1 anti-ácaros de poeira doméstica podem servir como biomarcadores para detectar alérgenos no soro de cães com dermatite atópica, potencialmente agindo em conjunto com testes baseados na pesquisa de anticorpos IgE. Níveis de anticorpos IgE e IgG1 estavam mais altos no soro de cães que apresentaram resultados intradérmicos positivos frente a ácaros de poeira doméstica quando comparados a amostras de soro advindas de cães negativos no intradérmico (Khantavee et al., 2021). Nos últimos anos, há o advento de métodos diagnósticos mais avançados, como a pesquisa sérica de componentes moleculares substituindo extratos crus, com todos os componentes de um alérgeno. Assim chamada alergologia molecular aumenta a sensibilidade e especificidade, uma vez que cada “ponto” do teste contém 100% de uma única proteína alergênica ao invés de uma mistura de proteínas, como, por exemplo, proteínas de Der f 2, Der f 15 e Der f 18 advindas de *D. farinae*, facilitando a identificação de potenciais reações cruzadas, reduzindo a influência de extratos crus heterogêneos em resultados falsos e levando à uma seleção mais lógica de componentes de uma formulação de imunoterapia alérgeno-específica (Olivry et al., 2024; Welters et al., 2025).

Diferentemente do teste intradérmico, medicamentos dificilmente interferem no resultado de teste sorológico, não havendo a necessidade de descontinuação medicamentosa para sua realização (Hensel et al., 2015).

2.3 Teste de puntura (teste percutâneo, *prick test*)

Na medicina, médicos utilizam o teste de puntura em pacientes doenças alérgicas, o que confere um resultado rápido e com baixa incidência de efeitos adversos quando comparado ao teste intradérmico. Por isso, o teste de puntura atualmente é o teste alérgico de escolha na medicina (Bousquet et al., 2012).

O primeiro estudo a utilizar a técnica foi realizado em 1991, o qual os autores compararam o método com o teste intradérmico e concluíram que as reações resultantes do teste de puntura foram mais difíceis de interpretar do que as reações do intradérmico (Ballauf, 1991). Após duas décadas, um novo estudo preliminar demonstrou que o método, em comparação com o teste intradérmico, foi mais simples, rápido, com menor desconforto e irritação em cães (Rocha, 2012). Um ano após, a técnica promoveu resultados de controles positivo e negativo confiáveis em gatos “saudáveis” (Rossi et al., 2013). Outro estudo utilizando gatos considerados saudáveis demonstrou que os extratos utilizados não causaram irritação nos animais, embora as pápulas de histamina (controle positivo) foram menores do que as observadas no teste intradérmico (Gentry e Messinger, 2016). Em cães, há alguns estudos publicados que pesquisaram a concentração de limiar irritativo em cães considerados saudáveis, para diferentes alérgenos. Um estudo demonstrou que as concentrações ideais para *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. siro* e *T. putrescentiae* foram de 10 mg/mL, 20mg/mL, 10mg/mL e 20mg/mL, respectivamente (Lorente et al., 2016). Outro estudo utilizando GREER® Pick® System demonstrou que as concentrações ideais do extrato utilizado foram de 1:400 p/v para *D. farinae* e 1:200 p/v para *D. pteronyssinus* (Carnett e Plant, 2018). Recentemente, um estudo, utilizando diferentes avaliações subjetivas e objetivas, demonstrou uma fraca a moderada correlação entre o teste de puntura e o teste intradérmico (Badulescu et al., 2022). Os autores concluem que novos estudos devem ser realizados utilizando a puntura e não recomendam seu uso em cães atópicos como substituto do teste intradérmico (Badulescu et al., 2022). Ainda, o teste de puntura apresentou-se específico, mas pouco sensível em relação ao intradérmico

em relação a extratos mistos de ácaros domésticos e outros alérgenos ambientais, com os autores não recomendando o uso de extratos mistos para ambas as técnicas para evitar falsos negativos relacionados à diluição de componentes específicos (Fleischmen et al., 2023).

Poucos estudos epidemiológicos utilizando o teste de puntura foram realizados em cães. Em estudo realizado no Rio de Janeiro utilizando puntor plástico de ponta dupla, 30 dos 45 cães com dermatite atópica tiveram reações positivas, sendo três com reações positivas a apenas um alérgeno (um para *D. farinae*, dois para *D. pteronyssinus*), 18 cães positivos para dois ácaros diferentes (10 *D. farinae* e *D. pteronyssinus*, seis para *D. farinae* e *B. tropicalis*), dois para *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis*), e nove cães positivos para os três ácaros pesquisados (Cunha et al., 2020). Outro estudo realizado na Colômbia demonstrou que dentre os nove cães atópicos incluídos no estudo, quatro foram positivos a *D. farinae* e *D. pteronyssinus* (ambos na concentração de 100mg/mL), e cinco positivos a *B. tropicalis* (na concentração de 150mg/mL) (Carmona-Gil et al., 2019).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO CAPÍTULO 1

Ácaros domésticos estão presentes no ambiente doméstico e convivem intimamente com humanos e seus animais de estimação. Há diversas proteínas alergênicas relacionadas a estes ácaros que podem sensibilizar cães com dermatite atópica e promover sinais clínicos da doença.

Por isso, os testes alérgicos são necessários a fim de identificar quais as espécies destes ácaros que possam estar envolvidas na precipitação da doença em cada paciente. Dentre os testes in vivo, o teste de puntura é o preferível na medicina. Contudo, em cães, ainda é pouco utilizado, apesar de suas vantagens em relação à praticidade, rapidez e menos desconforto quando comparado ao teste intradérmico.

O teste de puntura ainda é pouco padronizado em cães. Há poucos estudos utilizando esta técnica como método complementar em cães atópicos. Estes poucos estudos divergem em tipos de extratos, concentrações, puntores e técnica aplicada. Por isso, estudos que visam aprimorar a técnica são necessários a fim de tornar esse método mais aplicável por médicos veterinários ao redor do mundo.

REFERÊNCIAS

- Abidin SZ, Ming HT. Effect of a commercial air ionizer on dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae) in the laboratory. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012 Feb;2(2):156-8. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60212-8. PMID: 23569888; PMCID: PMC3609258.
- Abrams SB, Brock GN, Palettas M, Bolner ML, Moore-Sowers T, Plunkett GA, Cole LK, Diaz SF, Lorch G. An evaluation of veterinary allergen extract content and resultant canine intradermal threshold concentrations. *Vet Dermatol*. 2018 Dec;29(6):496-e167. doi: 10.1111/vde.12686. Epub 2018 Sep 3. PMID: 30175877; PMCID: PMC9017537.
- Agratorres JM, Pereira-Lorenzo A, Fernandez-Fernandez I. Population dynamics of house dust mites (acari: pyroglyphidae) in Santiago de Compostela (Galicia, Spain). *Acarologia*. 1999;40(1):59-63.
- Aleo MM, Messamore J, Nieto BA, Fleck TJ, Humphrey WR, Coscarelli EM, Mahabir SP, McCall RB, Gonzales AJ. Lack of Interference of Oclacitinib with the results of intradermal testing or allergen-specific IgE serology in *Dermatophagoides farinae*-sensitized beagle dogs. *Vet Immunol Immunopathol*. 2023 Feb;256:110537. doi: 10.1016/j.vetimm.2022.110537. Epub 2022 Dec 16. PMID: 36603446.
- Alves VS, Salazar-Garcés LF, Santiago LF, Fonseca PLC, Fernandes AMS, Silva RC, Souza LM, Cunha PPRS, Barbosa MFC, Aguiar ERGR, Pacheco LGC, Alcantara-Neves NM, Pinheiro CS. Identification of *Glycycometus malaysiensis* (for the first time in Brazil), *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* through multiplex PCR. *Exp Appl Acarol*. 2022 Mar;86(3):385-406. doi: 10.1007/s10493-022-00694-y. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35286553; PMCID: PMC8919168.
- Arlian LG, Bernstein IL, Gallagher JS. The prevalence of house dust mites, *Dermatophagoides* spp, and associated environmental conditions in homes in Ohio. *J Allergy Clin Immunol*. 1982;69(6):527-32.
- Arlian LG. Water balance and humidity requirements of house dust mites. *Exp Appl Acarol*. 1992;16(1-2):15-35.
- Arlian LG, Platts-Mills TAE. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(3):S406-S413.
- Arlian LG, Morgan MS. Biology, ecology and prevalence of dust mites. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2003;23:443-468.
- Asahina R, Ueda K, Oshima Y, Kanei T, Kato M, Furue M, Tsukui T, Nagata M, Maeda S. Serum canine thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) concentrations correlate with disease severity and therapeutic responses in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2020 Dec;31(6):446-455. doi: 10.1111/vde.12894. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32945018; PMCID: PMC7756442.
- Assunção DL, Farias MR, Barbosa MCR, Machado LHA. Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and households dust of dogs with atopic dermatitis. *Pes Vet Bras*. 2017;37(1):41-46.

682 Badulescu E, Sofou EI, Aleksandrova S, Chatzis M, Saridomichelakis MN.
683 Investigation of the diagnostic performance of prick test with two environmental
684 allergens in dogs with atopic dermatitis: A study using intradermal test as the gold
685 standard. *Vet Dermatol*. 2023 Feb;34(1):46-52. doi: 10.1111/vde.13130. Epub 2022
686 Oct 13. PMID: 36229985.

687 Ballauf B. Vergleich von Intrakutan- und Pricktest in der Allergiediagnostik beim Hund
688 [Comparison of the intradermal and prick tests for diagnosis of allergy in the dog].
689 *Tierarztl Prax*. 1991 Aug;19(4):428-30. German. PMID: 1948991.

690 Banovic F, Vargo C, Denley T. Effect of glycerin on immediate cutaneous reactions of
691 histamine (positive) and phosphate-buffered saline (negative) controls in intradermal
692 skin testing of healthy dogs: A randomised, blinded study. *Vet Dermatol*. 2023
693 Aug;34(4):348-354. doi: 10.1111/vde.13158. Epub 2023 Mar 20. PMID: 36938838.

694 Banovic F, Blubaugh A. Epicutaneous house dust mite (HDM)-induced skin lesions
695 feature early activation of T helper 2 inflammatory and pruritogenic pathways in HDM-
696 nonsensitised dogs. *Vet Dermatol*. 2024 Oct 23. doi: 10.1111/vde.13307. Epub ahead
697 of print. PMID: 39440450.

698 Baqueiro T, Carvalho FM, Rios CF, dos Santos NM, Alcantara-Neves NM; Medical
699 Student Group: Dust mite species and allergen concentrations in beds of individuals
700 belonging to different urban socioeconomic groups in Brazil. *J Asthma* 2006;43:101–
701 105.

702 Baretta LT, do Espírito Santo Cunha V, Figueiredo CD, Gerardi DG. A randomised,
703 double-blinded trial to assess the effect of oclacitinib and prednisolone on intradermal
704 allergen and prick tests in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2024
705 Feb;35(1):71-80. doi: 10.1111/vde.13209. Epub 2023 Sep 28. PMID: 37770410.

706 Berge M, Munir AK, Dreborg S. Concentrations of cat (Fel d1), dog (Can f1) and mite
707 (Der f1 and Der p1) allergens in the clothing and school environment of Swedish
708 schoolchildren with and without pets at home. *Pediatr Allergy Immunol*. 1998
709 Feb;9(1):25-30. doi: 10.1111/j.1399-3038.1998.tb00296.x. PMID: 9560839.

710 Bessot JC, Pauli G. Mite allergens: an overview. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011
711 Oct;43(5):141-56. PMID: 22145250.

712 Bjelland AA, Dolva FL, Nødtvedt A, Sævik BK. Prevalence of and risk factors for
713 increased serum levels of allergen-specific IgE in a population of Norwegian dogs. *Acta*
714 *Vet Scand*. 2014 Dec 5;56(1):81. doi: 10.1186/s13028-014-0081-z. PMID: 25475748;
715 PMCID: PMC4264244.

716 Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG,
717 Canonica GW, Carlsen KH, Cox L, Haahtela T, Lodrup Carlsen KC, Price D, Samolinski
718 B, Simons FE, Wickman M, Annesi-Maesano I, Baena-Cagnani CE, Bergmann KC,
719 Bindselev-Jensen C, Casale TB, Chiriac A, Cruz AA, Dubakiene R, Durham SR,
720 Fokkens WJ, Gerth-van-Wijk R, Kalayci O, Kowalski ML, Mari A, Mullol J, Nazamova-
721 Baranova L, O'Hehir RE, Ohta K, Panzner P, Passalacqua G, Ring J, Rogala B,
722 Romano A, Ryan D, Schmid-Grendelmeier P, Todo-Bom A, Valenta R, Woehrl S, Yusuf

OM, Zuberbier T, Demoly P; Global Allergy and Asthma European Network; Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012 Jan;67(1):18-24. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x. Epub 2011 Nov 4. PMID: 22050279.

Burton, G.; Robson, D.; Bassett, R.; Kiermeier, A. A pilot trial on the effect of Cyclosporin A on intradermal skin test reactions in dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 2002, 13, 211–229.

Bush RK. Indoor allergens, environmental avoidance, and allergic respiratory disease. *Allergy Asthma Proc.* 2008 Nov-Dec;29(6):575-9. doi: 10.2500/aap.2008.29.3172. PMID: 19173784.

Canning P, Brame B, Stefanovski D, Lee KW, Cain CL, Rook K, Morris DO. Multivariable analysis of the influence of cross-reactive carbohydrate determinant inhibition and other factors on intradermal and serological allergen test results: a prospective, multicentre study. *Vet Dermatol.* 2021 Aug;32(4):347-e96. doi: 10.1111/vde.12974. Epub 2021 Jun 9. PMID: 34105194.

Carnett MJH, Plant JD. Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Vet Dermatol.* 2018 Apr;29(2):117-e47. doi: 10.1111/vde.12514. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29315920.

Carmona-Gil AM, Sánchez J, Maldonado-Estrada J. Evaluation of Skin Prick-Test Reactions for Allergic Sensitization in Dogs With Clinical Symptoms Compatible With Atopic Dermatitis. A Pilot Study. *Front Vet Sci.* 2019 Dec 17;6:448. doi: 10.3389/fvets.2019.00448. PMID: 31921909; PMCID: PMC6927991.

Catanghal RA, Paller VG: Mite fauna and mite antigen detection in house dust found in residential areas in Los Banos, Laguna, Philippines. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2012;43:1114–1121.

Chermprapai S, Anukkul PC, Kritsadasima T, Kromkhun P, Thengchaisri N. Comparing the results of intradermal skin tests for four dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis in Thailand. *Vet World.* 2020 Nov;13(11):2381-2387. doi: 10.14202/vetworld.2020.2381-2387. Epub 2020 Nov 9. PMID: 33363330; PMCID: PMC7750237.

Chan WY, Selvarajah GT, Ajat M, Suzuki R, Tsukui T. The detection of house dust mite *Dermatophagoides farinae*, Der f 2 and Zen-1 allergen-specific immunoglobulin E antibodies in dogs with atopic Dermatitis in Malaysia. *Vet Immunol Immunopathol.* 2019 Jun;212:43-49. doi: 10.1016/j.vetimm.2019.05.002. Epub 2019 May 22. PMID: 31213251.

Chanthick C, Anaman S, Buathet K. The prevalence of positive intradermal allergy tests in 114 dogs with atopic dermatitis in the Bangkok metropolis, Thailand. *Vet Immunol Immunopathol.* 2008 Dec 15;126(3-4):256-62. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.07.010. Epub 2008 Aug 3. PMID: 18783836.

762 Codner EC, Tinker MK. Reactivity to intradermal injections of extracts of house dust
 763 and housedust mite in healthy dogs and dogs suspected of being atopic. *J Am Vet Med*
 764 *Assoc.* 1995 Mar 15;206(6):812-6. PMID: 7759333.

765 Colloff, MT. Dust mites. 1.ed. Collingwood: CSIRO, 2009; xiv.

766 Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, Ferguson A, Moustafa M, MacGowan A, Duff
 767 GW, Ward SJ, Tazi-Ahnini R. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in
 768 atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol.* 2006
 769 Jul;118(1):3-21; quiz 22-3. doi: 10.1016/j.jaci.2006.04.042. Epub 2006 Jun 9. PMID:
 770 16815133.

771 Cunha VES, Silva MH, Faccini JLH. Serological identification of house dust mite
 772 allergens in dogs with atopic dermatitis. *Pesq Vet Bras.* 2012;32(9):869-74.
 773 DOI:10.1590/S0100-736X2012000900016

774 Cunha V, Souza C, Contreras E, Nunes T, Rocha R, Bernardes F. Evaluation of skin
 775 prick test to identify sensitization to house dust mite allergens in dogs. *Vet Dermatol*
 776 2020;31(Suppl. 1):P-18. (Abstract).
 777

778 Custovic A, Fletcher A, Pickering CA, Francis HC, Green R, Smith A, Chapman M,
 779 Woodcock A. Domestic allergens in public places III: house dust mite, cat, dog and
 780 cockroach allergens in British hospitals. *Clin Exp Allergy.* 1998 Jan;28(1):53-9. doi:
 781 10.1046/j.1365-2222.1998.00183.x. PMID: 9537780.

782 Cyprowski M, Buczyńska A, Szadkowska-Stańczyk I. Indoor allergens in settled dust
 783 from kindergartens in city of Łódź, Poland. *Int J Occup Med Environ Health.* 2013
 784 Dec;26(6):890-9. doi: 10.2478/s13382-013-0153-8. PMID: 24464567.

785 DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory
 786 evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Vet Immunol*
 787 *Immunopathol.* 2001 Sep 20;81(3-4):277-87. doi: 10.1016/s0165-2427(01)00304-x.
 788 PMID: 11553390.

789 Dong Y, Wang L, Zhang K, Zhang H, Guo D. Prevalence and association with
 790 environmental factors and establishment of prediction model of atopic dermatitis in pet
 791 dogs in China. *Front Vet Sci.* 2024 Sep 25;11:1428805. doi:
 792 10.3389/fvets.2024.1428805. PMID: 39386248; PMCID: PMC11461458.

793 Drouet L, Bonati S, Cozar A, Petit N, Prélaud P. Prevalence of immunoglobulin E
 794 sensitisation to mites and pollens in 25,451 French dogs from 2016 to 2022. *Vet*
 795 *Dermatol.* 2025 Feb;36(1):52-63. doi: 10.1111/vde.13309. Epub 2024 Oct 29. PMID:
 796 39469743.

797 Dutra BMRS, Filho NAR, Zavadniak AF. Alérgenos inaláveis em Curitiba: uma
 798 revisão de sua relevância clínica. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 2001;24(5):189-195.

799 Eisenschenk MC, Hensel P, Saridomichelakis MN, Tamamoto-Mochizuki C, Pucheu-
 800 Haston CM, Santoro D. Introduction to the ICADA 2023 canine atopic dermatitis
 801 pathogenesis review articles and updated definition. *Vet Dermatol.* 2024 Feb;35(1):3-
 802 4. doi: 10.1111/vde.13183. Epub 2023 Dec 14. PMID: 38095285.

803 Farmaki R, Saridomichelakis MN, Leontides L, Papazahariadou MG, Gioulekas D,
804 Koutinas AF. Presence and density of domestic mites in the microenvironment of mite-
805 sensitive dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2010 Oct;21(5):469-76. doi:
806 10.1111/j.1365-3164.2010.00891.x. Epub 2010 May 4. PMID: 20456719.

807 Farmaki R, Saridomichelakis MN, Leontides L, Papazahariadou MG, Gioulekas D,
808 Koutinas AF. Dust mite species in the households of mite-sensitive dogs with atopic
809 dermatitis. *Vet Dermatol*. 2012 Jun;23(3):222-e45. doi: 10.1111/j.1365-
810 3164.2012.01052.x. PMID: 22575020.

811 Favrot C, Olivry T, Iwasaki T. An international seroprevalence survey of the IgE
812 sensitisation to the *Dermatophagoides farinae* house dust mite and two of its major
813 allergens (Der f 2, Zen 1) in atopic dogs. *Vet Dermatol*. 2022 Apr;33(2):117-e34. doi:
814 10.1111/vde.13005. Epub 2021 Aug 19. PMID: 34414620; PMCID: PMC9292188.

815 Fleischman DA, Morris DO. Pilot study to determine the concordance between skin
816 prick and intradermal test (IDT) reactivity to environmental allergens in atopic dogs
817 using IDT as the gold standard. *Vet Dermatol*. 2023 Dec;34(6):505-513. doi:
818 10.1111/vde.13187. Epub 2023 Jun 29. PMID: 37382082.

819 Fernandez-Duro BI, Cuervo-Pineda N, Rodriguez-Alvizar JA, Celio-Murillo R,
820 JuarezAnaya D, Perez-Ortiz TM: Identification of house dust mite fauna from allergic
821 patients' mattress in six Mexican states (in Spanish). *Rev Alerg Mex* 2013;60:87–92

822 Fernández-Caldas E, Puerta L, Caraballo L. Mites and allergy. *Chem Immunol Allergy*.
823 2014;100:234-42. doi: 10.1159/000358860. Epub 2014 May 22. PMID: 24925403

824 Fischer N, Rostaher A, Zwickl L, Deplazes P, Olivry T, Favrot C. A *Toxocara canis*
825 infection influences the immune response to house dust mite allergens in dogs. *Vet*
826 *Immunol Immunopathol*. 2018 Aug;202:11-17. doi: 10.1016/j.vetimm.2018.06.009.
827 Epub 2018 Jun 11. PMID: 30078584.

828 Foust-Wheatcraft DA, Dell DL, Rosenkrantz WS, Griffin CE. Comparison of the
829 intradermal irritant threshold concentrations of nine allergens from two different
830 manufacturers in clinically nonallergic dogs in the USA. *Vet Dermatol*. 2017
831 Dec;28(6):564-e136. doi: 10.1111/vde.12464. Epub 2017 Jun 29. PMID: 28664559.

832 Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JL, Rogers K, Shaw SE. Comparison of
833 intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fcepsilon RIalpha-
834 based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol*. 2003 May 30;93(1-
835 2):51-60. doi: 10.1016/s0165-2427(03)00052-7. PMID: 12753775.

836 Frezza APDM, Lourenço MLG, Meira J, Tsukui T, Kageyama M, de Araújo Machado
837 LH. Seroprevalence of *Dermatophagoides farinae*-specific IgE in dogs with atopic
838 dermatitis in São Paulo, Brazil. *Res Vet Sci*. 2023 Nov;164:105002. doi:
839 10.1016/j.rvsc.2023.105002. Epub 2023 Sep 9. PMID: 37713746.

840 Gazzinelli-Guimaraes PH, Bennuru S, de Queiroz Prado R, Ricciardi A, Sciurba J,
841 Kupritz J, Moser M, Kamenyeva O, Nutman TB. House dust mite sensitization drives
842 cross-reactive immune responses to homologous helminth proteins. *PLoS Pathog*.

843 2021 Mar 2;17(3):e1009337. doi: 10.1371/journal.ppat.1009337. PMID: 33651853;
844 PMCID: PMC7924806.

845 Gedon NKY, Boehm TMSA, Klinger CJ, Udraite L, Mueller RS. Agreement of serum
846 allergen test results with unblocked and blocked IgE against cross-reactive
847 carbohydrate determinants (CCD) and intradermal test results in atopic dogs. *Vet*
848 *Dermatol.* 2019 Jun;30(3):195-e61. doi: 10.1111/vde.12742. Epub 2019 Mar 24. PMID:
849 30908739.

850 Gentry CM, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to
851 histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Vet Dermatol.* 2016
852 Oct;27(5):370-e92. doi: 10.1111/vde.12343. Epub 2016 Jun 20. PMID: 27324418.

853 Goldman C, Rosser E Jr, Petersen A, Hauptman J. Investigation on the effects of
854 ciclosporin (Atopica) on intradermal test reactivity and allergen-specific
855 immunoglobulin (IgE) serology in atopic dogs. *Vet Dermatol.* 2010 Aug;21(4):393-9.
856 doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00862.x. Epub 2010 Mar 1. PMID: 20214766.

857 Hallas TE. The biology of mites. *Allergy.* 1991;46(11):6-9.

858 Hart BJ, Fain A. Morphological and biological studies of medically important house-
859 dust mites. *Acarology.* 1988 29(3):285-295.

860 Hensel P, Austel M, Medleau L, Zhao Y, Vidyashankar A. Determination of threshold
861 concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in
862 canine intradermal testing. *Vet Dermatol.* 2004 Oct;15(5):304-8. doi: 10.1111/j.1365-
863 3164.2004.00400.x. PMID: 15500482.

864 Hensel P, Bauer CL, Austel M, Keys D. Serological and intradermal test reactivity
865 patterns among six species of house dust and storage mites. *Vet Dermatol.*
866 2009;20:228

867 Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed
868 guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015 Aug 11;11:196.
869 doi: 10.1186/s12917-015-0515-5. PMID: 26260508; PMCID: PMC4531508.

870 Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII):
871 intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001 Sep 20;81(3-4):289-304. doi:
872 10.1016/s0165-2427(01)00313-0. PMID: 11553391.

873 Hillier A, Kwochka KW, Pinchbeck LR. Reactivity to intradermal injection of extracts of
874 *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, house dust mite mix,
875 and house dust in dogs suspected to have atopic dermatitis: 115 cases (1996-1998).
876 *J Am Vet Med Assoc.* 2000 Aug 15;217(4):536-40. doi: 10.2460/javma.2000.217.536.
877 PMID: 10953719.

878 Hubbard TL, White PD. Comparison of subjective and objective intradermal allergy test
879 scoring methods in dogs with atopic dermatitis. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2011 Nov-
880 Dec;47(6):399-405. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5638. PMID: 22058346.

881 Huss-Marp J, Eberlein-König B, Breuer K, Mair S, Ansel A, Darsow U, Krämer U, Mayer
882 E, Ring J, Behrendt H. Influence of short-term exposure to airborne Der p 1 and volatile
883 organic compounds on skin barrier function and dermal blood flow in patients with
884 atopic eczema and healthy individuals. *Clin Exp Allergy*. 2006 Mar;36(3):338-45. doi:
885 10.1111/j.1365-2222.2006.02448.x. PMID: 16499645.

886 Gazzinelli-Guimaraes PH, Bennuru S, de Queiroz Prado R, Ricciardi A, Sciurba J,
887 Kupritz J, Moser M, Kamenyeva O, Nutman TB. House dust mite sensitization drives
888 cross-reactive immune responses to homologous helminth proteins. *PLoS Pathog*.
889 2021 Mar 2;17(3):e1009337. doi: 10.1371/journal.ppat.1009337. PMID: 33651853;
890 PMCID: PMC7924806.

891 Graham LF, Torres SM, Jessen CR, Horne KL, Hendrix PK. Effects of propofol-induced
892 sedation on intradermal test reactions in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*.
893 2003;14(3):167–76.

894 Jackson AP, Foster AP, Hart BJ, Helps CR, Shaw SE. Prevalence of house dust mites
895 and dermatophagoides group 1 antigens collected from bedding, skin and hair coat of
896 dogs in south-west England. *Vet Dermatol*. 2005 Feb;16(1):32-8. doi: 10.1111/j.1365-
897 3164.2005.00427.x. PMID: 15725103.

898 Jacquet A. Characterization of Innate Immune Responses to House Dust Mite
899 Allergens: Pitfalls and Limitations. *Front Allergy*. 2021 Mar 11;2:662378. doi:
900 10.3389/falgy.2021.662378. PMID: 35386970; PMCID: PMC8974781.

901 Jeong KY, Park JW, Hong CS. House dust mite allergy in Korea: the most important
902 inhalant allergen in current and future. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2012
903 Nov;4(6):313-25. doi: 10.4168/aair.2012.4.6.313. Epub 2012 Jul 27. PMID: 23115727;
904 PMCID: PMC3479224.

905 Khantavee N, Chanthick C, Tungtrongchitr A, Techakriengkrai N, Suradhat S,
906 Sookrung N, Roytrakul S, Prapasarakul N. Immunoglobulin G1 subclass responses
907 can be used to detect specific allergy to the house dust mites *Dermatophagoides*
908 *farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in atopic dogs. *BMC Vet Res*. 2021 Feb
909 5;17(1):71. doi: 10.1186/s12917-021-02768-2. PMID: 33546688; PMCID:
910 PMC7866685.

911 Kasper B, Boehm T, Wittenstein N, Mueller RS. Cross-reactive carbohydrate
912 determinants in atopic and healthy dogs and their influence on allergy test specificity.
913 *Vet Rec*. 2023 Nov 18;193(10):e3308. doi: 10.1002/vetr.3308. Epub 2023 Aug 24.
914 PMID: 37614212.

915 Kennis RA, Robertson SA, Rosser Jr EJ, Hauptman JG. Effects of propofol
916 anesthesia on intradermally injected histamine phosphate in clinically normal dogs. *Am*
917 *J Vet Res*. 1998;59(1):7–9.

918 Kim SW, Kim JH. Establishing an experimental model for canine atopic dermatitis
919 through epicutaneous application of *Dermatophagoides farinae*. *Front Vet Sci*. 2022
920 Oct 20;9:1015915. doi: 10.3389/fvets.2022.1015915. PMID: 36337184; PMCID:
921 PMC9632614.

922 Kim J, Lee JH, Song Y, Kim HJ. Effect of indoor house dust mite concentration on
 923 canine atopic dermatitis. *Front Vet Sci.* 2023 Feb 2;10:1078306. doi:
 924 10.3389/fvets.2023.1078306. PMID: 36816188; PMCID: PMC9932715.

925 Koch HJ, Peters S. 207 intracutaneous tests in dogs with suspicion of atopic dermatitis.
 926 *Kleintierpraxis.* 1994;39:25-36.

927 Koebrich S, Nett-Mettler C, Wilhelm S, Favrot C. Intradermal and serological testing
 928 for mites in healthy beagle dogs. *Vet Dermatol.* 2012 Jun;23(3):192-e39. doi:
 929 10.1111/j.1365-3164.2012.01041.x. Epub 2012 Mar 20. PMID: 22433019.

930 Kosik-Bogacka DI, Kalisinska E, Henszel L, Kuzna-Grygiel W. Seasonal dynamics of
 931 house dust mites in dust samples collected from sleeping places in north-western
 932 Poland. *Zoonoses Public Health.* 2012;59(1):8-15.

933 Levy BJ, DeBoer DJ. A preliminary study of serum IgE against cross-reactive
 934 carbohydrate determinants (CCD) in client-owned atopic dogs. *Vet Dermatol.* 2018
 935 Jun;29(3):243-e90. doi: 10.1111/vde.12529. Epub 2018 Mar 1. PMID: 29498135.

936 Lorente C, Ruiz-Tapia P. Determination of the optimal threshold concentrations of eight
 937 allergens for skin percutaneous (prick) test in dogs. *Vet Dermatol* 2016; 27(Suppl. 1):
 938 71. (Abstract).
 939

940 Ludwig L, Tsukui T, Kageyama M, Farias M. Evaluation of sensitization to the crude
 941 extract of *Dermatophagoides farinae* and its derived allergens, Der f 2 and Zen 1, in
 942 dogs with atopic dermatitis in Southern Brazil. *Vet Immunol Immunopathol.* 2021
 943 Apr;234:110199. doi: 10.1016/j.vetimm.2021.110199. Epub 2021 Feb 10. PMID:
 944 33662650.

945 Mariana A, Santhana Raj AS, Tan SN, Ho TM. Scanning electron micrographs of
 946 *Blomia tropicalis* (Acari:Astigmata: Echimyopodidae), a common house dust mite in
 947 Malaysia. *Trop Biomed.* 2007 Dec;24(2):29-37. PMID: 18209705.

948 Marsella R, Samuelson D. Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic
 949 dermatitis and house dust mites. *Vet Dermatol.* 2009 Oct;20(5-6):533-40. doi:
 950 10.1111/j.1365-3164.2009.00809.x. PMID: 20178491.

951 Marsella R. Investigation into the Effects of Allergen Exposure and Topical Vinegar and
 952 Water Spray on Skin Barrier Parameters in Atopic Dogs. *Vet Sci.* 2024 Oct
 953 1;11(10):459. doi: 10.3390/vetsci11100459. PMID: 39453051; PMCID: PMC11512369.

954 Marsella R, Ahrens K, Sanford R. Investigation of the correlation of serum IL-31 with
 955 severity of dermatitis in an experimental model of canine atopic dermatitis using beagle
 956 dogs. *Vet Dermatol.* 2018 Feb;29(1):69-e28. doi: 10.1111/vde.12500. Epub 2017 Oct
 957 6. PMID: 28983982.

958 Marsella R, Olivry T, Nicklin C, Lopez J. Pilot investigation of a model for canine atopic
 959 dermatitis: environmental house dust mite challenge of high-IgE-producing beagles,
 960 mite hypersensitive dogs with atopic dermatitis and normal dogs. *Vet Dermatol.* 2006
 961 Feb;17(1):24-35. doi: 10.1111/j.1365-3164.2005.00496.x. PMID: 16412117.

962 Marsella R, Nicklin CF, Saglio S, Lopez J. Investigation on the effects of topical therapy
 963 with 0.1% tacrolimus ointment (Protopic) on intradermal skin test reactivity in atopic
 964 dogs. *Vet Dermatol.* 2004 Aug;15(4):218-24. doi: 10.1111/j.1365-3164.2004.00387.x.
 965 PMID: 15305928.

966 Martins LML, Ventura ACN, Brazis P, Cerrato S. An investigation of cross-reactivity
 967 between the poultry red mite and house dust and storage mites in dogs with contact
 968 with chickens infested with red mites. *Vet Dermatol.* 2020 Apr;31(2):167-169. doi:
 969 10.1111/vde.12816. Epub 2019 Dec 5. PMID: 31808208.

970 Marsh DG, Goodfriend L, King TP, Lowenstein H, Platts-Mills TA. Allergen
 971 nomenclature. *Bull World Health Organ.* 1986;64(5):767-74. PMID: 3492310; PMCID:
 972 PMC2490960.

973 Masuda K, Tsujimoto H, Fujiwara S, Kurata K, Hasegawa A, Yasueda H, Yamashita K,
 974 DeBoer DJ, de Weck AL, Sakaguchi M. IgE sensitivity and cross-reactivity to crude
 975 and purified mite allergens (Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2) in atopic dogs sensitive
 976 to *Dermatophagoides* mite allergens. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999 Dec 30;72(3-
 977 4):303-13. doi: 10.1016/s0165-2427(99)00142-7. PMID: 10628674.

978 McCall C, Hunter S, Stedman K, Weber E, Hillier A, Bozic C, Rivoire B, Olivry T.
 979 Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen
 980 (Der f 15) for dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001 Feb 10;78(3-4):231-47. doi:
 981 10.1016/s0165-2427(00)00258-0. PMID: 11292526.

982 Meason C, Salazar R, Gentry CM. Alfaxalone provides reliable sedation for intradermal
 983 allergen testing in dogs and does not significantly affect results when compared to
 984 dexmedetomidine. *Vet Dermatol.* 2023 Oct;34(5):404-414. doi: 10.1111/vde.13175.
 985 Epub 2023 Jun 7. PMID: 37286524.

986 Milián E, Díaz AM. Allergy to house dust mites and asthma. *P R Health Sci J.* 2004
 987 Mar;23(1):47-57. PMID: 15125219.]

988 Mahrshahi S, Marks G, Vanlaar C, Tovey E, Peat J. Predictors of high house dust mite
 989 allergen concentrations in residential homes in Sydney. *Allergy.* 2002 Feb;57(2):137-
 990 42. doi: 10.1034/j.1398-9995.2002.5720999.x. PMID: 11929416.

991 Mueller RS, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum
 992 testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs.
 993 *Aust Vet J.* 1999 May;77(5):290-4. doi: 10.1111/j.1751-0813.1999.tb10263.x. PMID:
 994 10376096.

995 Mueller RS, Fieseler KV, Rosychuk RA, Greenwalt T. Intradermal testing with the
 996 storage mite *Tyrophagus putrescentiae* in normal dogs and dogs with atopic dermatitis
 997 in Colorado. *Vet Dermatol.* 2005 Feb;16(1):27-31. doi: 10.1111/j.1365-
 998 3164.2005.00415.x. PMID: 15725102.

999 Munir AK, Björkstén B, Einarsson R, Ekstrand-Tobin A, Möller C, Warner A, Kjellman
 1000 NI. Mite allergens in relation to home conditions and sensitization of asthmatic children

1001 from three climatic regions. *Allergy*. 1995 Jan;50(1):55-64. doi: 10.1111/j.1398-
1002 9995.1995.tb02483.x. PMID: 7741189.

1003 Nadchatram M. House dust mites, our intimate associates. *Trop Biomed*. 2005
1004 Jun;22(1):23-37. PMID: 16880751.

1005 Nascimento, J. M., Reis-Avila, G., Dutra, M. S., Silva, D. E., Castro, L. C. de, & Ferla,
1006 N. J. (2016). Seasonal and environmental variations in community structure of house
1007 dust mites (Acari) in subtropical southern Brazil. *International Journal of*
1008 *Acarology*, 43(1), 86–90. <https://doi.org/10.1080/01647954.2016.1232309>

1009 Neal JS, Arlian LG, Morgan MS. Relationship among house-dust mites, Der 1, Fel d 1,
1010 and Can f 1 on clothing and automobile seats with respect to densities in houses. *Ann*
1011 *Allergy Asthma Immunol*. 2002 Apr;88(4):410-5. doi: 10.1016/S1081-1206(10)62373-
1012 3. PMID: 11991559.

1013 Noli C, Bernadina WE, Willemse T. The significance of reactions to purified fractions of
1014 *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* in canine atopic
1015 dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol*. 1996 Jul;52(3):147-57. doi: 10.1016/0165-
1016 2427(96)05550-x. PMID: 8809997.

1017 Nuttall TJ, Hill PB, Bensignor E, Willemse T; members of the International Task Force
1018 on Canine Atopic Dermatitis. House dust and forage mite allergens and their role in
1019 human and canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2006 Aug;17(4):223-35. doi:
1020 10.1111/j.1365-3164.2006.00532.x. PMID: 16827665.

1021 Olivry T, Deangelo KB, Dunston SM, Clarke KB, McCall CA Olivry T, DeBoer DJ, Griffin
1022 CE, Halliwell RE, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on
1023 canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001 Sep
1024 20;81(3-4):143-6. doi: 10.1016/s0165-2427(01)00343-9. PMID: 11553374.

1025 Olivry T, Deangelo KB, Dunston SM, Clarke KB, McCall CA. Patch testing of
1026 experimentally sensitized beagle dogs: development of a model for skin lesions of
1027 atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2006 Apr;17(2):95-102. doi: 10.1111/j.1365-
1028 3164.2006.00502.x. PMID: 16515651.

1029 Olivry T, Dunston SM, Favrot C, Prélard P, Tsukui T. The novel high molecular weight
1030 *Dermatophagoides farinae* protein Zen-1 is a major allergen in North American and
1031 European mite allergic dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2017 Apr;28(2):177-
1032 e38. doi: 10.1111/vde.12393. Epub 2016 Nov 7. PMID: 28261917.

1033 Olivry T, Fontao AM, Aumayr M, Ivanovova NP, Mitterer G, Harwanegg C. Validation of
1034 a Multiplex Molecular Macroarray for the Determination of Allergen-Specific IgE
1035 Sensitizations in Dogs. *Vet Sci*. 2024 Oct 7;11(10):482. doi: 10.3390/vetsci11100482.
1036 PMID: 39453074; PMCID: PMC11512340.

1037 Olivry T, Mas-Fontao A, Jacquenet S, Aumayr M, Tsukui T, Gomord V, Faye L, Favrot
1038 C. Identification of cross-reactive allergens between the *Dermatophagoides farinae*
1039 house dust mite and the *Toxocara canis* nematode in dogs with suspected allergies.

1040 Vet Dermatol. 2024 Dec;35(6):662-671. doi: 10.1111/vde.13295. Epub 2024 Aug 30.
1041 PMID: 39210736.

1042 Olivry T, Mayhew D, Paps JS, Linder KE, Peredo C, Rajpal D, Hofland H, Cote-Sierra
1043 J. Early Activation of Th2/Th22 Inflammatory and Pruritogenic Pathways in Acute
1044 Canine Atopic Dermatitis Skin Lesions. J Invest Dermatol. 2016 Oct;136(10):1961-
1045 1969. doi: 10.1016/j.jid.2016.05.117. Epub 2016 Jun 21. PMID: 27342734.

1046 O'Neil SE, Heinrich TK, Hales BJ, Hazell LA, Holt DC, Fischer K, Thomas WR. The
1047 chitinase allergens Der p 15 and Der p 18 from *Dermatophagoides pteronyssinus*. Clin
1048 Exp Allergy. 2006 Jun;36(6):831-9. doi: 10.1111/j.1365-2222.2006.02497.x. PMID:
1049 16776685.

1050 Piccione ML, DeBoer DJ. Serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants
1051 (CCD) in healthy and atopic dogs. Vet Dermatol. 2019 Dec;30(6):507-e153. doi:
1052 10.1111/vde.12799. Epub 2019 Oct 22. PMID: 31642119.

1053 Panzer R, Krebs S. Mites, caterpillars and moths. J Dtsch Dermatol Ges. 2020
1054 Aug;18(8):867-880. doi: 10.1111/ddg.14207. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32776473.

1055 Patel A, Curtis CF, Cerundolo R. Incidence of anti-Der f 2 and anti-Zen 1-specific
1056 immunoglobulin E antibodies in atopic dogs from South-East England. Vet Rec. 2019
1057 Mar 9;184(10):317. doi: 10.1136/vr.104810. Epub 2019 Jan 23. PMID: 30674643.

1058 Pauli G, Wurmser C, Roos A, Kokou C, Huang HJ, D'souza N, Lupinek C, Zakzuk J,
1059 Regino R, Acevedo N, Caraballo L, Vrtala S, Valenta R. Frequent IgE recognition
1060 of *Blomia tropicalis* allergen molecules in asthmatic children and young adults in
1061 equatorial Africa. Front Immunol. 2023 Jun 2;14:1133935. doi: 10.

1062 Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between
1063 allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four
1064 commercial laboratories in the USA. Vet Dermatol. 2014 Feb;25(1):15-e6. doi:
1065 10.1111/vde.12104. PMID: 24461034; PMCID: PMC4209119.

1066 Platts-Mills TAE, Thomas WR, Aalberse RC, Vervloet D, Chapman MD. Dust mite
1067 allergens and asthma: report of a second international workshop. J Allergy Clin
1068 Immunol. 1992;89(6):1046-1060.

1069 Platts-Mills TAE, Vervloet D, Thomas WR, Aalberse RC, Chapman M. Indoor allergens
1070 and asthma: report of the third international workshop. J Allergy Clin Immunol.
1071 1997;100(6):S2-S24.

1072 Popiel J, Cekiera A. Comparison of IgE test results with intradermal skin tests for dust
1073 mites and storage mites in atopic dogs. Pol J Vet Sci. 2015;18(2):351-6. doi:
1074 10.1515/pjvs-2015-0045. PMID: 26172185.

1075 Possebom J, Cunha V, Lima M et al. Serological identification of low molecular weight
1076 allergens from domestic mites associated with canine atopic dermatitis. Vet Dermatol
1077 2016; 27: 49 (abstract).

1078 Pucheu-Haston CM, Jackson HA, Olivry T, Dunston SM, Hammerberg B. Epicutaneous
1079 sensitization with *Dermatophagoides farinae* induces generalized allergic dermatitis

1080 and elevated mite-specific immunoglobulin E levels in a canine model of atopic
 1081 dermatitis. *Clin Exp Allergy*. 2008 Apr;38(4):667-79. doi: 10.1111/j.1365-
 1082 2222.2008.02949.x. Epub 2008 Feb 26. PMID: 18307530.

1083 Reboux G, Valot B, Rocchi S, Scherer E, Roussel S, Millon L. Storage mite
 1084 concentrations are underestimated compared to house dust mite concentrations. *Exp*
 1085 *Appl Acarol*. 2019 Apr;77(4):511-525. doi: 10.1007/s10493-019-00376-2. Epub 2019
 1086 May 15. PMID: 31093854.

1087 Rocha, M.I.L. Skin prick tests – preliminary evaluation of this technique for the
 1088 diagnosis of canine atopic dermatitis sensitization. 68f. 2012. 68f. Dissertation
 1089 (Masters in Veterinary Medicine) - Technical University of Lisboa, POR.

1090

1091 Rossi MA, Messinger L, Olivry T, Hoontrakoon R. A pilot study of the validation of
 1092 percutaneous testing in cats. *Vet Dermatol*. 2013 Oct;24(5):488-e115. doi:
 1093 10.1111/vde.12054. Epub 2013 Jul 5. PMID: 23826630.

1094 Roque JB, O'Leary CA, Kyaw-Tanner M, Latter M, Mason K, Shipstone M, Vogelnest
 1095 L, Duffy D. High allergen-specific serum immunoglobulin E levels in nonatopic West
 1096 Highland white terriers. *Vet Dermatol*. 2011 Jun;22(3):257-66. doi: 10.1111/j.1365-
 1097 3164.2010.00939.x. Epub 2011 Jan 26. PMID: 21265887.

1098 Saevik BK, Ulstein TL, Larsen HJ. Evaluation of a commercially available enzyme-
 1099 linked immunosorbent assay for the detection of allergen-specific IgE antibodies in
 1100 dogs. *Res Vet Sci*. 2003 Feb;74(1):37-45. doi: 10.1016/s0034-5288(02)00151-0.
 1101 PMID: 12507565.

1102 Santoro D, Moura RA, McKenzie SR, Chiavaccini L. Equivalence in intradermal
 1103 reactions to histamine and compound 48/80 in dogs before and after sedation with
 1104 dexmedetomidine or a 1:20 combination of medetomidine and vatinoxan. *Vet*
 1105 *Dermatol*. 2025 Feb;36(1):43-51. doi: 10.1111/vde.13306. Epub 2024 Oct 14. PMID:
 1106 39400922.

1107 Sander I, Zahradnik E, Kraus G, Mayer S, Neumann HD, Fleischer C, Brüning T, Raulf-
 1108 Heimsoth M. Domestic mite antigens in floor and airborne dust at workplaces in
 1109 comparison to living areas: a new immunoassay to assess personal airborne allergen
 1110 exposure. *PLoS One*. 2012;7(12):e52981. doi: 10.1371/journal.pone.0052981. Epub
 1111 2012 Dec 21. PMID: 23285240; PMCID: PMC3528730.

1112 Song H, Lee J, Jeong KY, Cheon DS, Park JW. Comparison of sensitization patterns
 1113 to dust mite allergens between atopic dermatitis patients and dogs, and non-specific
 1114 reactivity of canine IgE to the storage mite *Tyrophagus putrescentiae*. *Exp Appl Acarol*.
 1115 2022 Sep;88(1):41-55. doi: 10.1007/s10493-022-00744-5. Epub 2022 Oct 3. PMID:
 1116 36190668.

1117 Souza CCT, Filho NAR. Perfil de aeroalérgenos intradomiciliares comuns no Brasil:
 1118 revisão dos últimos 20 anos. *Rev Bras Alerg Immunopatol*. 2012;35(2):47-52.

1119 Sporik R, Chapman MD, Platts-Mills TAE. House dust mite exposure as a cause of
 1120 asthma. *Clin Exp Allergy*. 1992;22:897-906.

1121 Sun Y, Cui L, Hou J, Luo S, Norbäck D, Sundell J. Role of ventilation and cleaning for
 1122 controlling house dust mite allergen infestation: A study on associations of house dust
 1123 mite allergen concentrations with home environment and life styles in Tianjin area,
 1124 China. *Indoor Air*. 2022 Aug;32(8):e13084. doi: 10.1111/ina.13084. PMID: 36040279.

1125 Takahashi K, Yanuma N, Hirokawa M, Miyajima M, Ogawa M, Osada H, Sugita K,
 1126 Kondo H, Ohmori K. Presence of the house dust mite allergen in the gastrointestinal
 1127 tract of dogs with chronic enteropathy: A potential inducer of interleukin-1 β . *Vet*
 1128 *Immunol Immunopathol*. 2020 Dec;230:110150. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110150.
 1129 Epub 2020 Nov 6. PMID: 33190867.

1130 Tamamoto-Mochizuki C, Santoro D, Saridomikelakis MN, Eisenschenk MNC, Hensel
 1131 P, Pucheu-Haston C; International Committee on Allergic Diseases of Animals
 1132 (ICADA). Update on the role of cytokines and chemokines in canine atopic dermatitis.
 1133 *Vet Dermatol*. 2024 Feb;35(1):25-39. doi: 10.1111/vde.13192. Epub 2023 Jul 23. PMID:
 1134 37485553.

1135 Tarpataki N, Bigler B, Vajdovich P, Vörös K. Comparison between an intradermal skin
 1136 test and allergen-specific IgE-ELISA for canine atopic dermatitis. *Schweiz Arch*
 1137 *Tierheilkd*. 2008 Mar;150(3):117-22. doi: 10.1024/0036-7281.150.3.117. PMID:
 1138 18429502.

1139 Terreehorst I, Hak E, Oosting AJ, Tempels-Pavlica Z, de Monchy JG, Bruijnzeel-
 1140 Koomen CA, Aalberse RC, Gerth van Wijk R. Evaluation of impermeable covers for
 1141 bedding in patients with allergic rhinitis. *N Engl J Med*. 2003 Jul 17;349(3):237-46. doi:
 1142 10.1056/NEJMoa023171. PMID: 12867607.

1143 Thomas WR. Geography of house dust mite allergens. *Asian Pac J Allergy Immunol*.
 1144 2010;28(4):211-24.

1145 Tobias KR, Ferriani VP, Chapman MD, Arruda LK. Exposure to indoor allergens in
 1146 homes of patients with asthma and/or rhinitis in southeast Brazil: effect of mattress and
 1147 pillow covers on mite allergen levels. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004 Apr;133(4):365-
 1148 70. doi: 10.1159/000077356. Epub 2004 Mar 17. PMID: 15031610.

1149 Tomich LM, Keating SCJ, Allender MC, Pieper JB. The effect of topical lidocaine on
 1150 intradermal testing in atopic dogs. *Vet Dermatol*. 2021 Apr;32(2):139-e31. doi:
 1151 10.1111/vde.12923. Epub 2021 Jan 8. PMID: 33417735.

1152 van Bronswijk JE, de Cock AW. The genus *Blomia* Oudemans (Acari : Glycyphagidae).
 1153 II. Comparison of its species. *Acarologia*. 1974 Mar;15(3):490-505. PMID: 4446909.

1154 van Hage-Hamsten M, Johansson SG. Storage mites. *Exp Appl Acarol*. 1992
 1155 Nov;16(1-2):117-28. doi: 10.1007/BF01201495. PMID: 1493741.

1156 van Hage-Hamsten, M. and Johansson, E. (1998), Clinical and immunologic aspects
 1157 of storage mite allergy. *Allergy*, 53: 49-53

1158 Van Strien RT, Verhoeff AP, Brunekreef B, Van Wijnen JH. Mite antigen in house dust:
 1159 relationship with different housing characteristics in The Netherlands. *Clin Exp Allergy*.
 1160 1994 Sep;24(9):843-53. doi: 10.1111/j.1365-2222.1994.tb01807.x. PMID: 7812886.

Wassom, Grieve. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1α-based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Vet Dermatol.* 1998 Sep;9(3):173-178. doi: 10.1046/j.1365-3164.1998.00121.x. PMID: 34644938.

Weber E, Hunter S, Stedman K, Dreitz S, Olivry T, Hillier A, McCall C. Identification, characterization, and cloning of a complementary DNA encoding a 60-kd house dust mite allergen (Der f 18) for human beings and dogs. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Jul;112(1):79-86. doi: 10.1067/mai.2003.1602. PMID: 12847483.

Wellington J, Miller WH Jr, Scarlett JM. Determination of skin threshold concentration of an aqueous house dust mite allergen in normal dogs. *Cornell Vet.* 1991 Jan;81(1):37-42. PMID: 1993391.

Welters M, Mas-Fontao A, Auxilia ST, Olivry T. Composition Heterogeneity and Low-Molecular-Weight Allergen Content of *Dermatophagoides farinae* House Dust Mite Allergen Extracts Used in Veterinary Medicine. *Vet Sci.* 2025 Aug 27;12(9):824. doi: 10.3390/vetsci12090824. PMID: 41012749; PMCID: PMC12474439.

Willemse A, van den Brom WE. Evaluation of the intradermal allergy test in normal dogs. *Res Vet Sci.* 1982 Jan;32(1):57-61. PMID: 7089382.

Xue Q, Zou M, Guo J, Teng Q, Zhang Q, Sheng L, Xu S, Fang C, Yao N, Li Y, Zhao J. Detection and assessment of dust mite allergens in an indoor environment in Anhui, China. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023 Jan;30(2):3045-3055. doi: 10.1007/s11356-022-22395-0. Epub 2022 Aug 8. PMID: 35941504; PMCID: PMC9892137.

Yamashita K, Fujiwara C, Azuma R, Sawazaki T, Nakao Y, Hasegawa A. Determination of antigenic proteins of housedust mites in 90 dogs suffering from atopic dermatitis. *J Vet Med Sci.* 2002 Aug;64(8):673-6. doi: 10.1292/jvms.64.673. PMID: 12237510.

CAPÍTULO 2

Artigo científico a ser submetido ao periódico *Veterinary Dermatology*.

Avaliação da concentração limiar irritante de extratos de ácaros de poeira doméstica e de estocagem para teste de puntura em cães hígidos e com dermatite atópica

Lucas André Ludwig; Larissa Condas; Jorge Martinez Quesada; Marconi Rodrigues de Farias

RESUMO

Introdução: A dermatite atópica é uma doença cutânea comum em cães e está relacionada com sensibilização alérgica a diversos alérgenos ambientais, como os ácaros. O teste alérgico percutâneo é um teste de sensibilidade *in vivo* utilizado para pesquisa de sensibilização a alérgenos em cães com dermatite atópica. Ácaros de poeira doméstica são frequentemente implicados na sensibilização destes cães.

Objetivo: O principal objetivo deste estudo é determinar a concentração limiar irritante (CLI) dos extratos de ácaros de poeira doméstica e de estoque para uso no teste percutâneo em cães com dermatite atópica.

Animais: 33 cães hígidos e 43 cães com diagnóstico clínico de dermatite atópica.

Material e métodos: o teste de puntura foi realizado na lateral torácica e foram testados cinco diferentes concentrações (1, 5, 10, 20 e 40 mg/mL) para *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*, e quatro diferentes concentrações (0.5, 1, 2 e 5 mg/mL) para *Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae*, utilizando puntor plástico de ponta múltipla.

Resultados: o CLI em cães hígidos para cada alérgeno foi de 5 mg/mL para *B. tropicalis*, 10 mg/mL para *D. farinae* e *D. pteronyssinus* e 1 mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*. Em geral, concentrações maiores formam pápulas maiores tanto em hígidos como em atópicos. O teste foi bem tolerado pelos cães, sendo que alguns apresentaram leve desconforto durante o procedimento.

Conclusões e relevância clínica: extratos utilizados no teste de puntura em cães com dermatite atópica devem apresentar concentração de 5 mg/mL para *B. tropicalis*,

10 mg/mL para *D. farinae* e *pteroysinus* e 1 mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*.
Estas concentrações também podem promover pápulas mais visíveis em cães atópicos, facilitando a interpretação do teste.

ABSTRACT

Background: Atopic dermatitis is a common skin disease in dogs and is associated with allergic sensitization to various environmental allergens, such as mites. The percutaneous (intradermal) allergy test is an in vivo sensitivity test used to investigate allergen sensitization in dogs with atopic dermatitis. House dust mites are frequently implicated in the sensitization of these dogs.

Objective: The main objective of this study was to determine the irritant threshold concentration (ITC) of house dust mite and storage mite extracts for use in percutaneous testing in dogs with atopic dermatitis.

Animals: Thirty-three healthy dogs and forty-three dogs with a clinical diagnosis of atopic dermatitis.

Materials and Methods: The prick test was performed on the lateral thoracic area, testing five different concentrations (1, 5, 10, 20, and 40 mg/mL) for *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, and *Blomia tropicalis*, and four different concentrations (0.5, 1, 2, and 5 mg/mL) for *Acarus siro* and *Tyrophagus putrescentiae*, using a multi-tip plastic lancet.

Results: The ITC in healthy dogs for each allergen was 5 mg/mL for *B. tropicalis*, 10 mg/mL for *D. farinae* and *D. pteronyssinus*, and 1 mg/mL for *A. siro* and *T. putrescentiae*. In general, higher concentrations produced larger wheals in both healthy and atopic dogs. The test was well tolerated, with only mild discomfort observed in some dogs during the procedure.

Conclusions and clinical relevance: Extracts used for prick testing in dogs with atopic dermatitis should have concentrations of 5 mg/mL for *B. tropicalis*, 10 mg/mL for *D. farinae* and *D. pteronyssinus*, and 1 mg/mL for *A. siro* and *T. putrescentiae*. These concentrations may also promote more visible wheals in atopic dogs, facilitating test interpretation.

INTRODUÇÃO

A dermatite atópica em cães (DAC) é uma doença hereditária, pruriginosa, associada à hiper-reatividade da via *janus quinase* e de sub-populações de linfócitos T, anormalidades da barreira cutânea, sensibilização alérgica, disbiose e infecções recorrentes (Eisenchenk et al., 2024).

Alérgenos ambientais podem estar relacionados com sensibilização alérgica em cães com DAC com modo de vida intradomiciliar, principalmente de ácaros domésticos. Os ácaros de importância médica dividem-se em ácaros de poeira doméstica, como *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*, além de ácaros de estoque (armazenamento) como *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Lepidoglyphus destructor* e *Glycyphagus domesticus* (Hensel et al., 2024).

Após diagnóstico clínico, testes alérgicos podem ser utilizados a fim de identificar a sensibilização alérgica e auxiliar na formulação de imunoterapia com alérgenos (Hensel et al., 2015). Na medicina, os métodos mais utilizados incluem a avaliação sérica de anticorpos IgE alérgeno-específica, teste percutâneo e, eventualmente, intradérmico.

O teste percutâneo é um teste *in vivo* para avaliar a hipersensibilidade imediata aos alérgenos ambientais. Em humanos, este é preferido ao intradérmico devido ao menor risco de efeitos adversos locais e sistêmicos, como anafilaxia e outras complicações relacionadas à resposta de hipersensibilidade imediata (Patel e Saltoun, 2019).

Na medicina veterinária, os testes mais comumente utilizados na DAC são os sorológicos e intradérmico (IDT) (Hensel et al., 2015). O teste intradérmico consiste na inoculação de extratos de alérgenos selecionados na derme superficial do paciente. Apesar de muito utilizado, o teste intradérmico pode ser associado a desconforto em relação a sua aplicação, tem maior necessidade de sedação, maior risco de efeitos colaterais tópicos e anafilactóides sistêmicos e há limitação de sua confecção em cães utilizando anti-histamínicos e corticoides (Carmona-Gil et al., 2019).

Já o teste percutâneo, apesar de não padronizado, vem sendo investigado em cães com DAC, por ser uma técnica mais rápida, específica, de fácil execução e que pode não requerer sedação prévia do paciente (Carmona-Gil et al., 2019; Cerdeiro et al., 2021). Em adição, dois estudos demonstraram que essa técnica, isolada ou associada com teste de contato com extratos alergênicos alimentares, pode ser utilizada no auxílio da elaboração de dietas de exclusão em cães com DAC agravada por alimentos (Possebom et al., 2022; Alcalá et al., 2023).

Quando comparado ao teste intradérmico, o teste percutâneo promove pápulas menores e menos palpáveis (Gentry et al., 2016; Cerdeiro et al., 2021; Badulescu et al., 2023; Baretta et al., 2024). O primeiro estudo que tentou comparar ambas as técnicas foi publicado em 1991, sendo concluído pelo autor que o teste de punтура era de difícil interpretação e com baixa correlação com o teste intradérmico (Ballauf, 1991). Em 2022, um estudo também identificou baixa correlação entre os testes, além de 0% de sensibilidade para o teste de punтура. Os autores utilizaram extratos glicerinados de *D. farinae* (100 UBE/mL) e *Lolium perenne* (4% peso/volume), além de controles positivo e negativo, e resultados positivos foram caracterizados aplicando sete diferentes critérios utilizados em estudos prévios em medicina e medicina veterinária. A principal razão para a baixa sensibilidade, segundo os autores, foi a baixa quantidade de reações positivas observadas (Badulescu et al., 2023).

Os extratos alergênicos são importantes pré-requisitos para a realização do teste de punтура com resultados confiáveis, e devem ser padronizados e sua antigenicidade, estabilidade e composição conhecidas, além de não possuírem componentes irritantes ou tóxicos (Motta et al. 2005). Embora estudos iniciais investigaram concentrações ideais para testes percutâneos de extratos de alérgenos ambientais (Carnett e Plant, 2018; Fleischman et al., 2023), são poucos os dados na literatura médico veterinária sobre o assunto, o que torna necessários novos estudos a fim de aprimorar a técnica e melhorar sua acurácia.

Assim, o objetivo principal deste estudo foi determinar a concentração limiar irritante (CLI) dos extratos de ácaros de poeira doméstica e de estoque para uso no teste percutâneo em cães com DAC. Objetivos secundários incluem comparar as concentrações até o CLI e observar se há diferença no tamanho das pápulas

formadas, bem como avaliar a sensibilidade aos alérgenos de ácaros em cães com diagnóstico clínico de DAC.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), e aprovada sob o número 23001/2023 – Versão 1.

Animais do estudo

Os cães incluídos eram de pessoas responsáveis e triados a partir do atendimento da Clínica Veterinária Escola – CVE - PUCPR (Curitiba - Paraná) e da Clínica Veterinária Dimevet (Cascavel - Paraná), sendo divididos em dois grupos: o grupo 1 foi composto por 43 cães hígidos, de diferentes idades, sexo e raças, sem histórico prévio de prurido, lesões cutâneas, otite externa e ou média, doenças sistêmicas imunodepressoras, e uso de medicações imunossupressoras e/ou imunomoduladoras; e o grupo 2 foi composto por 33 cães com diagnóstico presuntivo de DAC.

O diagnóstico presuntivo de DAC foi estabelecido em cães que apresentaram prurido crônico, perene, intenso a grave, em regiões interdigitais e superfícies ventrais, otite crônica intermitente ou persistente, cujo sintomas persistiam após exclusão de outras dermatopatias pruriginosas de origem infecto- parasitárias e de dermatite alérgica à saliva de pulgas, e que mantinham sintomas persistente após dieta restritiva com proteínas e carboidratos originais por oito semanas, além de apresentarem ao menos cinco ou seis dos oito critérios clínicos estabelecidos por Favrot et al. (2010).

Todos os animais que obedeceram aos critérios do projeto, mas que apresentaram infecções bacterianas ou fúngicas secundárias, foram submetidos à citologia cutânea e, quando positivos para bactérias *coccus* ou leveduras, foram adequadamente tratados com terapia antisséptica tópica com banhos de shampoo a

base de clorexidine a 3% (Hexadene Spherulites®, Virbac) e, caso necessário, antibióticos orais de primeira escolha antes de sua inclusão (Loeffler et al., 2025). Todos apresentavam rigoroso controle de endoparasitas através do uso de isoxazolinias orais ou tópicas de acordo com as recomendações do fabricante.

Para a inclusão no estudo, os cães do grupo 2 deveriam estar sem uso ao menos duas semanas de anti-histamínicos e glicocorticoides tópicos; três semanas com glicocorticoides orais de curta duração e ao menos quatro semanas para glicocorticoides injetáveis de longa duração (Hensel et al., 2015). Em adição, a utilização de maleato de oclacitinib na dose recomendada por bula era interrompida no mínimo 24 horas anterior ao teste, devido ao fato do medicamento poder interferir nas reações observadas no teste percutâneo (Baretta et al., 2023). Critérios de exclusão incluíram animais que utilizaram medicamentos dentro do período recomendado de descontinuação, animais com sinais de infecção de pele no local do teste percutâneo e animais agressivos/extremamente agitados.

Teste de puntura

Em animais de ambos os grupos, foi realizada tricotomia na região lateral torácica e marcações com cerca de 2cm de distância foram feitas com caneta dermatográfica nos locais de execução da puntura (Possebom et al., 2022). Os cães eram mantidos sob contenção física e em decúbito lateral durante todo o procedimento.

Em ambos os grupos foram utilizados controles positivos e negativos com solução de histamina (10mg/mL) e salina glicerinadas (Carnett e Plant, 2018; Possebom et al., 2022), respectivamente, e cinco diferentes concentrações de extratos glicerinados e fenolados para ácaros de poeira doméstica: 1, 5, 10, 20 e 40mg/mL para *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*; e quatro diferentes concentrações para ácaros de estoque: 0.5, 1, 2, 5mg/mL para *Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae* (ALC/Salute Vita®, São Paulo, Brasil) A escolha das concentrações foi baseada na avaliação de concentrações maiores que usualmente são utilizadas em pessoas. O fabricante orientou utilizar

1385 concentrações menores para ácaros de estocagem em relação aos ácaros de poeira
1386 doméstica.

1387 Para a realização do teste foi utilizado puntor plástico de ponta múltipla
1388 (UniTest® PC, Lincoln Diagnostics; Decatur, IL, EUA) (figura 7a) mantidos embebidos
1389 individualmente em ependorffs contendo os extratos nas várias concentrações testes,
1390 acondicionados em bandeja específica (DuoBrasil®, Curitiba, PR, Brasil) (figura 7b),
1391 as quais permaneciam sempre sob refrigeração adequada conforme as indicações do
1392 fabricante.

1393 Cada puntura foi realizada pelo mesmo pesquisador ao lado de cada ponto
1394 demarcado na pele, de forma perpendicular, através da pressão firme do puntor contra
1395 a pele, por cerca de cinco segundos, obtendo-se uma marcação padronizada da ponta
1396 do puntor na pele (figura 7c e 7d). Após as punturas, cada puntor era descartado e foi
1397 aguardado um tempo de 15 minutos para a observação e mensuração das reações
1398 formadas. As pápulas ou placas resultantes foram demarcadas com auxílio de caneta
1399 dermatográfica de ponta fina (figura 7e) e, com auxílio de paquímetro digital, os
1400 diâmetros ortogonais maior e menor de cada pápula foi mensurado em milímetros e a
1401 média estabelecida.

1402 Pápulas dos extratos testados foram consideradas positivas quando a média
1403 de seus diâmetros ortogonais eram iguais ou superiores a 3mm comparado a média
1404 do controle negativo, conforme literatura pregressa (Bousquet et al., 2012; van der
1405 Valk et al., 2016; Possebom et al., 2022).

1406 Nos animais saudáveis, a concentração limiar irritativa (CLI) para cada
1407 alérgeno foi determinada sendo a maior concentração que não foi capaz de induzir
1408 reações positivas em mais de 10% dos cães (Hensel et al., 2004; Bauer et al., 2010).

1409



Figura 7- (a) Puntor plástico utilizado no teste; (b) bandeja com extratos em diferentes concentrações de ácaros domésticos; (c) Teste percutâneo seguindo a ordem da esquerda para a direita com a menor e maior concentração, respectivamente, sendo a primeira linha para *B. tropicalis*, a segunda linha para *D. farinae*, a terceira linha para *D. pteronyssinus*, e quarta e quinta linhas para *A. siro* e *T. putrescentiae*, respectivamente. (d) Destaque para a marcação da puntura na pele após a puntura com o puntor plástico de ponta múltipla (UniTest® PC, Lincoln Diagnostics; Decatur, IL, EUA); (e) Reações em placa formadas após 15 minutos do teste de puntura com os extratos testes em múltiplas concentrações em cães do Grupo 2 com DAC.

Análise estatística

Dados demográficos, percentual de reações positivas em animais hígidos e o percentual de positividade dos cães com DAC frente a cada alérgeno, a partir da concentração de limiar irritante, foram demonstradas de forma descritiva.

Com objetivo de observar a normalidade dos dados utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk, o qual veio a determinar os testes não paramétricos a serem utilizados: 1- para avaliar se houve diferença na proporção de animais saudáveis que apresentaram formação de pápula acima igual ou maior 3 mm – mediante aumento

das concentrações de alérgenos –, por meio do teste de Kruskal-Wallis e 2- para avaliar se houve diferença no tamanho de pápulas observadas entre cães saudáveis *versus* tamanho das pápulas mensuradas em cães com DAC pelo teste de Mann Whitney.

O teste *post hoc* de Nemenyi foi então aplicado para comparar o tamanho papular entre as diferentes concentrações em cães hígidos, a fim de observar efeito dose-resposta.

Inicialmente, os dados foram organizados e filtrados por grupo (atópico vs. não atópico, alérgeno e concentração). A variável dependente foi o tamanho da pápula (em milímetros), e a variável preditora principal foi a concentração do extrato alergênico. O animal foi incluído como efeito aleatório, controlando a variabilidade individual. Diferenças entre os níveis de concentração foram avaliadas por comparações múltiplas com ajuste de Tukey, empregando o pacote emmeans. Nível de significância foi considerado como $p < 0.05$.

RESULTADOS

Epidemiologia

Não houve animais excluídos durante o estudo. O grupo 1 foi composto por 43 cães hígidos, sendo 25 (58.1%) fêmeas e 18 (41.9%) machos e 40 castrados (93%). Em relação as raças, foram quatro Lhasas Apsos (9.3%), quatro Pinschers (9.3%), três Shih-Tzus (7%), um Blue Heeler (2.3%), um Pug (2.3%), um Bulldog Francês (2.3%), um Chihuahua (2.3%), um Jack Russell (2.3%), um Maltês (2.3%), um Golden Retriever (2.3%), e 25 cães sem raça definida (58.1%).

Dos 33 cães incluídos no grupo 2, 20 (60.6%) eram fêmeas e 13 (39.4%) eram machos, sendo, 32 (97%) castrados. Em relação às raças, o grupo foi composto por oito Shih-Tzus (24.2%), cinco Lhasas Apsos (15.2%), quatro Bulldogues Franceses (12.1%), quatro Malteses (12.1%), dois Pugs (6%), dois Chihuahuas (6%), um Pinscher (3%), um Boxer (3%), um Golden Retriever (3%) e cinco cães sem raça definida (15.2%). Os dados demográficos estão demonstrados na tabela.

1460

Grupo 1 (n=43)		Grupo 2 (n=33)	
Sexo	n amostral	Sexo	n amostral
Fêmea	25	Fêmea	20
Macho	18	Macho	13
Raça	n amostral	Raça	n amostral
SRD	25	Shih-Tzu	8
Lhasa Apso	4	SRD	5
Pinscher	4	Lhasa Apso	5
Shih-Tzu	3	Bulldog Francês	4
Blue Heeler	1	Maltês	4
Golden Retriever	1	Pug	2
Maltês	1	Chihuahua	2
Pug	1	Pinscher	1
Bulldog Francês	1	Boxer	1
Chihuahua	1	Golden Retriever	1
Jack Russell	1		

1461 Tabela 5 - Dados demográficos dos cães do Grupo 1 (cães hígidos) e 2 (cães com DAC) incluídos no
 1462 presente estudo.

1463

1464 Teste de puntura

1465

1466 O teste demonstrou-se fácil de performar e de baixo desconforto aos cães.
 1467 Alguns cães sentiram desconforto durante a contenção. Já alguns cães apresentaram
 1468 desconforto especialmente quando a puntura era realizada em determinados locais,
 1469 como próxima ao término do arco costal. Este desconforto geralmente apresentou-se
 1470 com gemidos e tentativas de desvencilhar-se da contenção. Em geral, estes sinais de
 1471 desconforto estavam presentes em cães agitados. Nenhum evento adverso foi
 1472 evidenciado.

1473

1474 Controles positivo e negativo

1475

1476 No Grupo 1, os valores das pápulas do controle positivo variaram de 5 a 14.5
 1477 mm, com mediana de 9.5 mm. Nenhuma pápula foi formada com o controle negativo.
 1478 No Grupo 2, os valores do controle positivo também variaram de 5 a 14.5 mm, com

mediana de 9 mm. Neste grupo, nove cães (27.3%) formaram pápulas ao controle negativo, que variaram de 1 a 5 mm, com mediana de 2 mm.

Determinação da concentração de limiar irritante em cães hígidos (Grupo 1)

As pápulas formadas em geral eram de formato circular ou oval e raramente produziram pseudopodia. Elas eram palpáveis e eventualmente eritematosas. Em geral, maiores concentrações produziram tamanhos maiores de pápulas, além de cães com DAC apresentarem maiores pápulas quando comparado a cães hígidos (figuras 8 e 9).

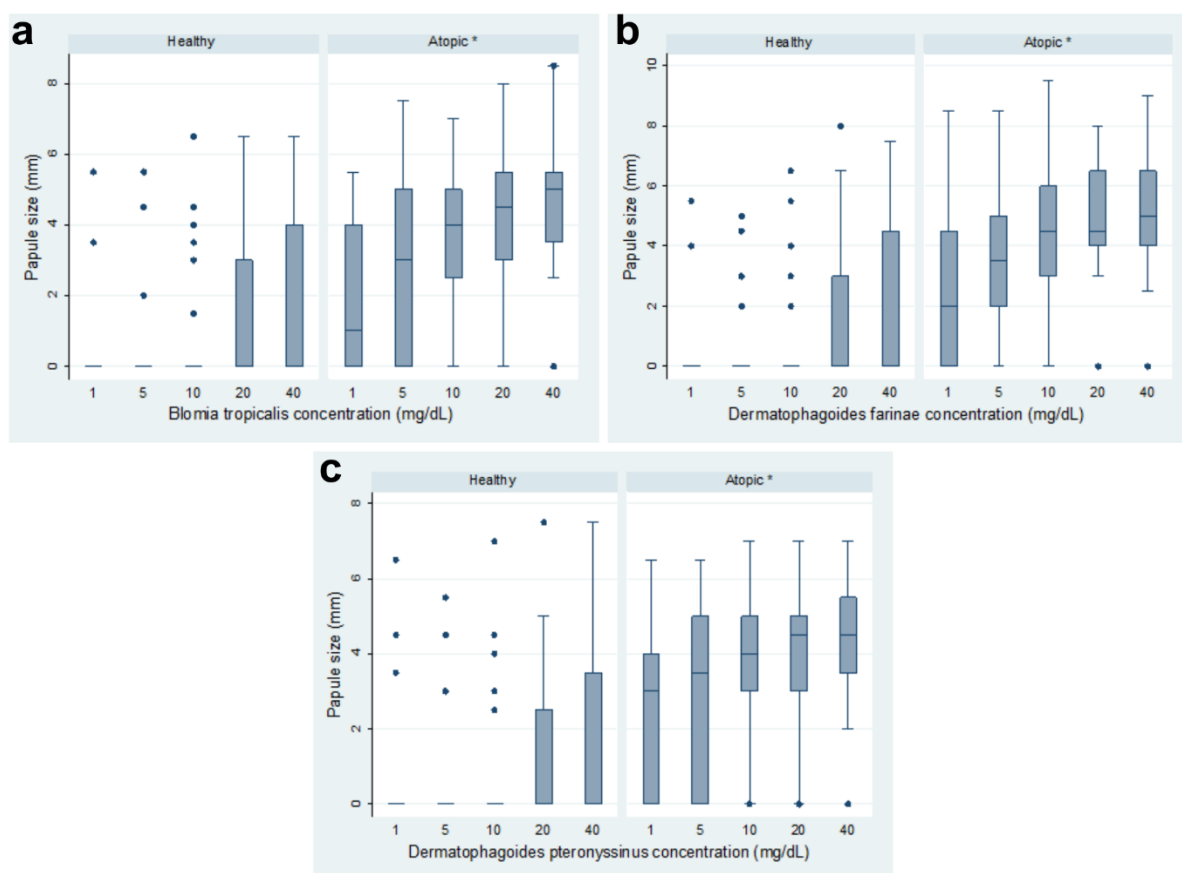


Figura 8 - Distribuição do tamanho das pápulas nas concentrações testadas para as três diferentes espécies de ácaros de poeira doméstica: (a) *Blomia tropicalis*, (b) *Dermatophagoides farinae* e (c) *Dermatophagoides pteronyssinus*. Cães com DAC produziram pápulas maiores que cães não atópicos, em todas as concentrações testadas. Houve diferença estatística significativa (*) para o tamanho de pápulas observados entre os grupos de animais saudáveis e atópicos, incluindo diferença significativa entre as concentrações estudadas (Mann Whitney, $p < 0,001$).

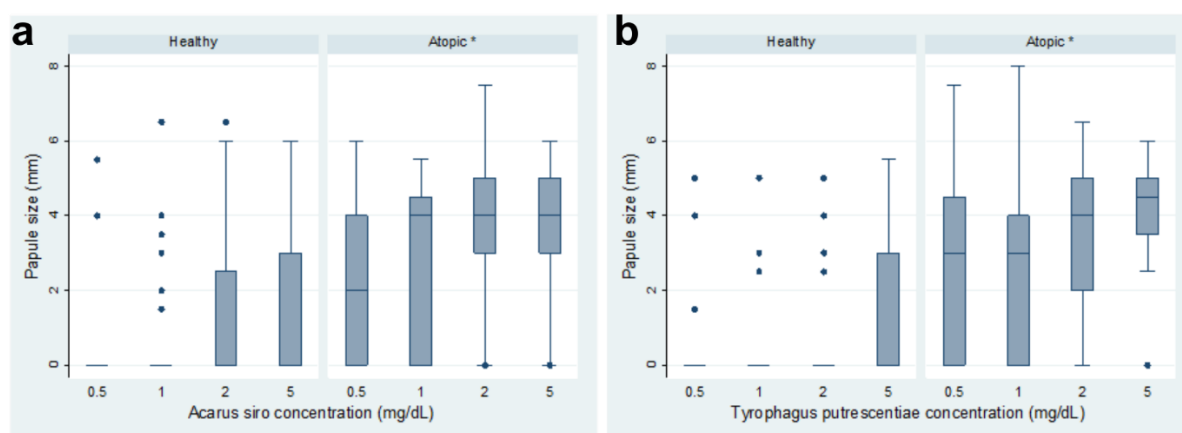


Figura 9 - Distribuição do tamanho das pápulas nas concentrações testadas para as duas diferentes espécies de ácaros de estoque: (a) *Acarus siro* e (b) *Tyrophagus putrescentiae*. Cães com DAC produziram pápulas maiores que cães não atópicos, em todas as concentrações testadas. Houve diferença estatística significativa (*) para o tamanho de pápulas observados entre os grupos de animais saudáveis e atópicos, incluindo diferença significativa entre as concentrações estudadas (Mann Whitney, $p < 0,001$).

Em relação aos ácaros de poeira doméstica, a maior concentração testada que resultou em menos de 10% de positivos em animais hígidos foi de 5mg/mL para *Blomia tropicalis* (dois de 43 cães) e 10mg/mL para *Dermatophagoides farinae* e *Dermatophagoides pteronyssinus* (quatro de 43 cães para ambos). A *Blomia tropicalis* quando em concentração de 10mg/mL causou pápulas positivas em cinco cães (11.6%), ao passo que 20mg/mL de *Dermatophagoides farinae* e *pteronyssinus* causaram pápulas positivas em 11 e nove cães (25.6% e 20.9%), respectivamente (figura 10).

No caso do *Acarus siro*, quando testado em concentrações de 2 e 5mg/mL resultou em pápulas positivas em nove e 12 cães (20.9% e 27.9%), respectivamente. Já em relação ao *Tyrophagus putrescentiae*, sete e treze (16.2% e 30.2%) cães apresentaram pápulas positivas nas concentrações de 2 e 5mg/mL, respectivamente. As concentrações consideradas ideais para ambos *Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae* foram de 1mg/mL (figura 11).

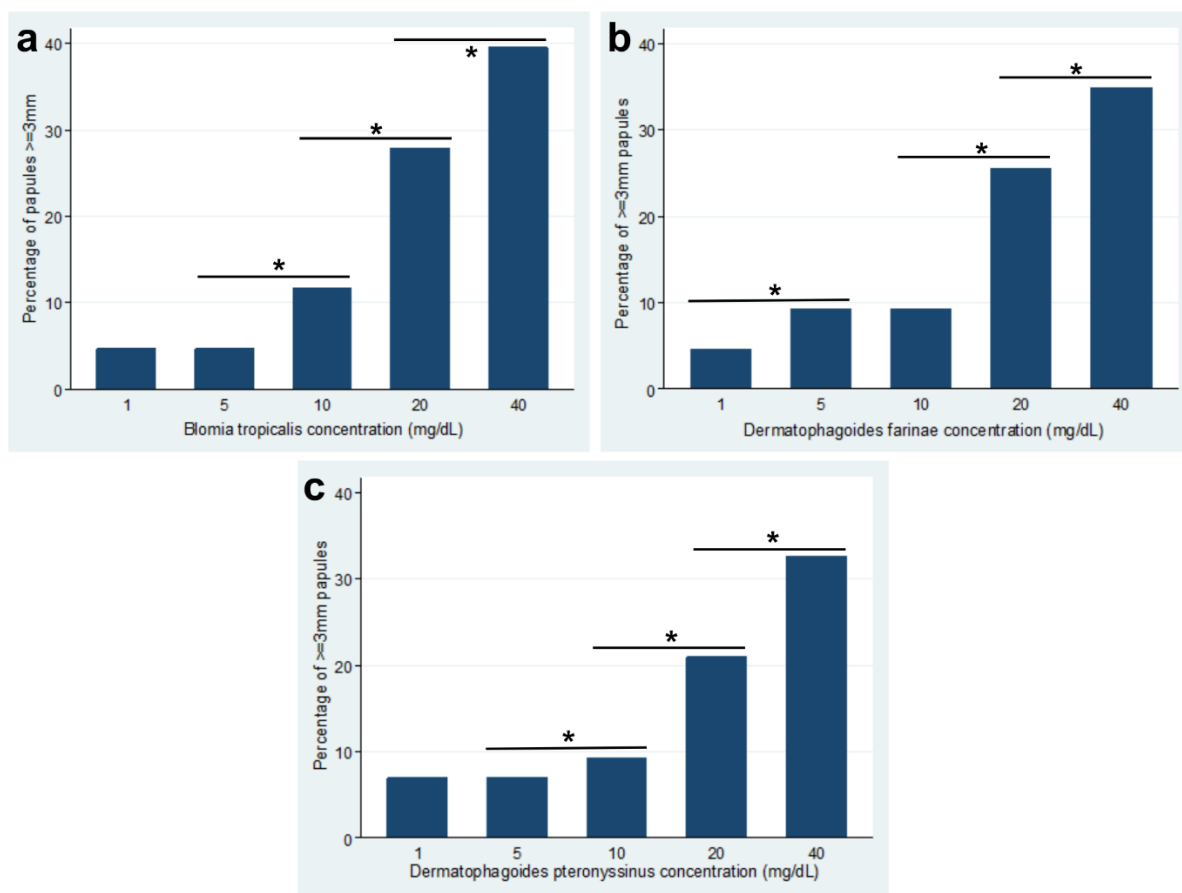


Figura 10 - Resultado do teste de concentração de limiar irritante para os três ácaros de poeira doméstica testados em cães não atópicos (n=43). As barras demonstram a porcentagem de animais que formaram pápulas iguais ou superiores a 3mm em cada concentração para (a) *Blomia tropicalis*, (b) *Dermatophagoides farinae* e (c) *Dermatophagoides pteronyssinus*. Considerando o teste de *Kruskal wallis* houve diferença estatística significativa entre concentrações dentro de cada alérgeno testado ($p < 0,01$). Após aplicação do teste post hoc de *Nemenyi* observou-se diferença estatística (*) entre todas as concentrações ($p < 0,01$), observando-se forte efeito dose-reposta, exceto entre concentração 1 vs 5 para *Blomia tropicalis* e *Dermatophagoides pteronyssinus*, e concentração 5 vs 10 para *Dermatophagoides farinae* ($p = 1$)

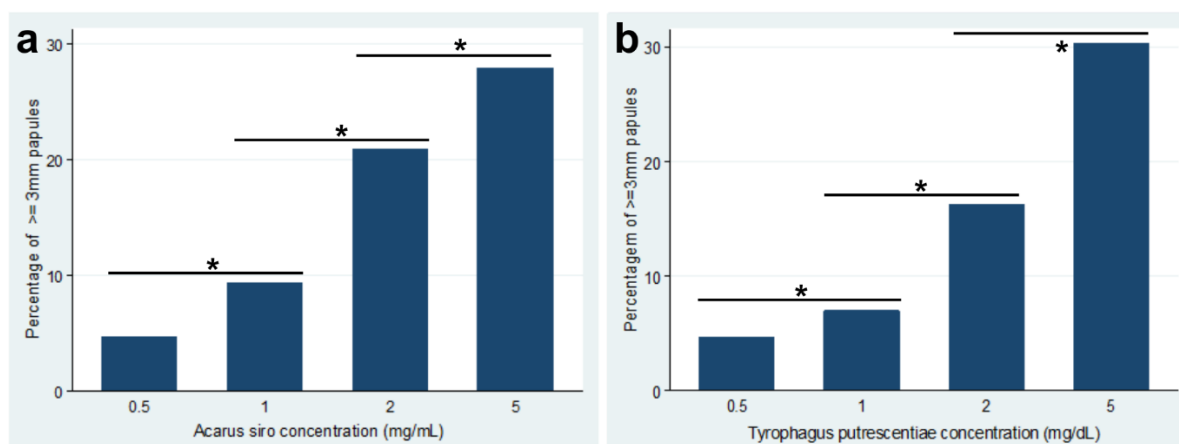


Figura 11 - Resultado do teste de concentração de limiar irritante para os dois ácaros de estoque testados em cães não atópicos (n=43). As barras demonstram a porcentagem de animais que formaram pápulas iguais ou superiores a 3mm em cada concentração para (a) *Acarus siro* e (b) *Tyrophagus putrescentiae*). Considerando o teste de Kruskal wallis houve diferença estatística significativa entre concentrações dentro de cada alérgeno testado ($p < 0,01$). Após aplicação do teste post hoc de *Nemenyi* observou-se diferença estatística (*) entre todas as concentrações ($p < 0,01$), observando-se forte efeito dose-reposta.

Avaliação das concentrações em cães com DAC (Grupo 2)

Ao observar apenas as concentrações que não causaram positividade em até 10% dos cães hígidos (1 e 5 mg/mL para *B. tropicalis*; 1, 5 e 10 mg/mL para *D. farinae* e *D. pteronyssinus*; 0.5 e 1 mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*) foi realizado os testes em cães com dermatite atópica, sendo demonstrado que para os cinco alérgenos testados, a maior concentração foi associada à maior média das pápulas e melhor facilidade de mensuração, avaliação e interpretação, exceto para o *Tyrophagus putrescentiae* (figuras 12-16).

Para cada alérgeno, as médias dos tamanhos das pápulas para cada concentração estão descritas na tabela 6.

Alérgeno		Concentração			E. padrão
		1 mg /mL	5 mg/mL	10 mg/mL	
APD	Bt	1.95	2.73		0.396
	Df	2.61	3.64	4.42	0.404
	Dp	2.48	3.00	3.80	0.383
		0.5 mg/mL	1 mg/mL		
AE	As	2.20	2.74		0.362
	Tp	2.64	2.65		0.370

Tabela 6 - Média predita do tamanho papular nas diferentes concentrações que não causaram reações positivas em mais de 10% de cães saudáveis. Intervalo de confiança de 95%. APD = ácaros de poeira doméstica; AE = ácaros de estocagem; Bt = *Blomia tropicalis*; Df = *Dermatophagoides farinae*; Dp = *Dermatophagoides pteronyssinus*; As = *Acarus siro*; Tp = *Tyrophagus putrescentiae*; E, padrão = erro padrão de média predita.

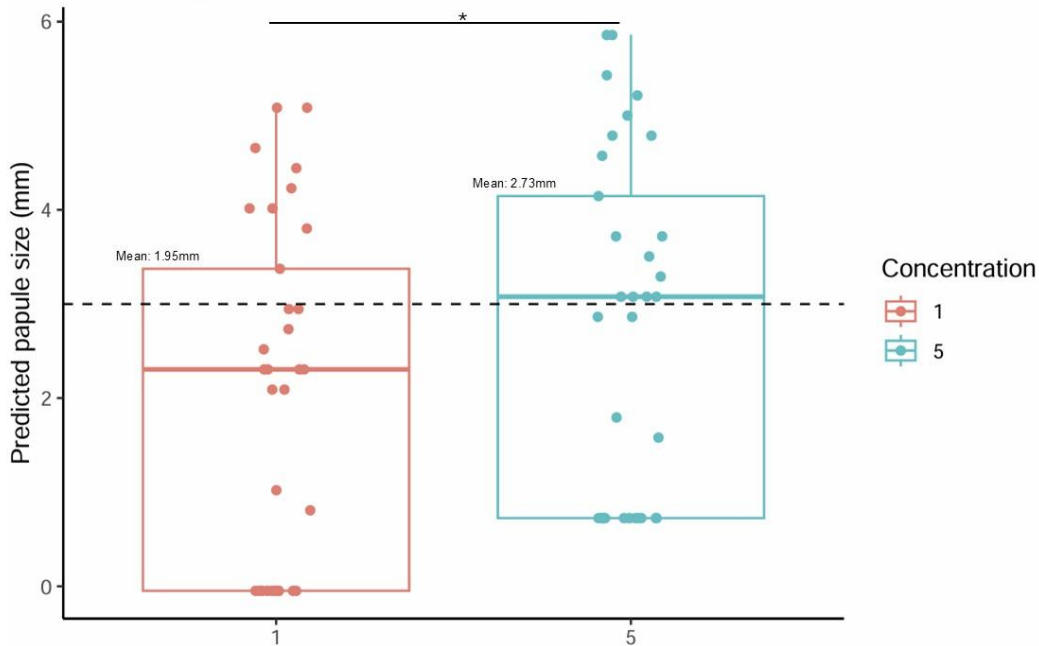


Figura 12 - *Blomia tropicalis*. Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Houve diferença significativa entre a média dos tamanhos papulares entre as concentrações ($p = 0.009$). * diferença significativa.

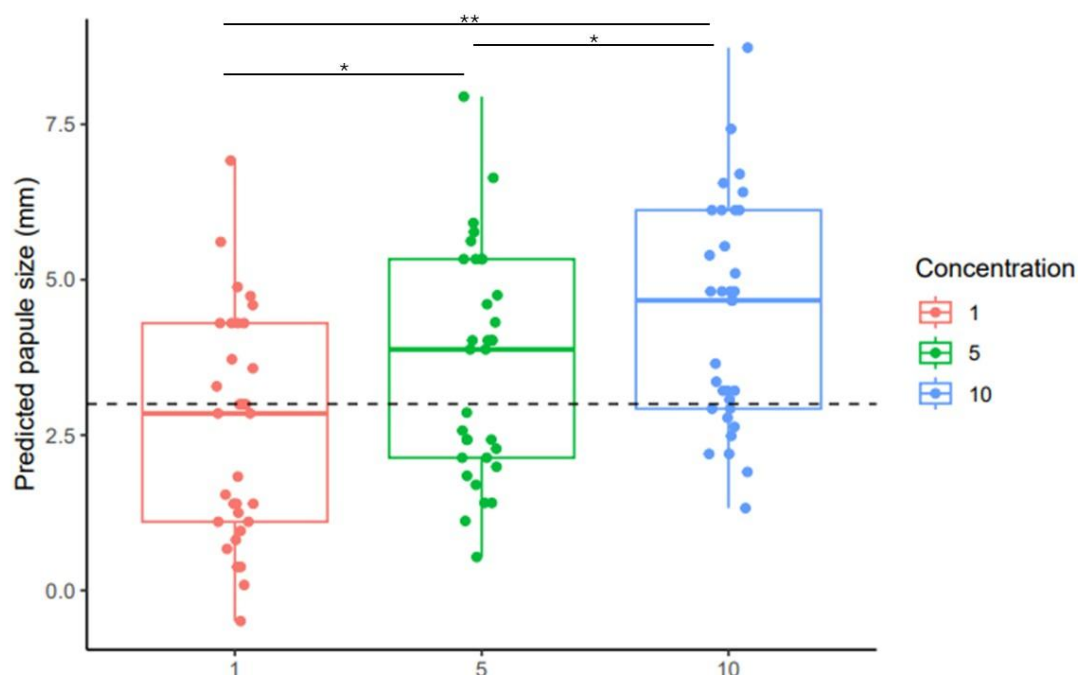


Figura 13 - *Dermatophagoides farinae*. Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. * Significa diferença significativa entre as médias das concentrações 1 e 5 mg/mL ($p = 0.0050$) e entre 5 e 10 mg/mL ($p = 0.039$). ** Significa diferença altamente significativa entre as médias de 1 e 10 mg/mL ($p < 0.0001$). Teste de Turkey.

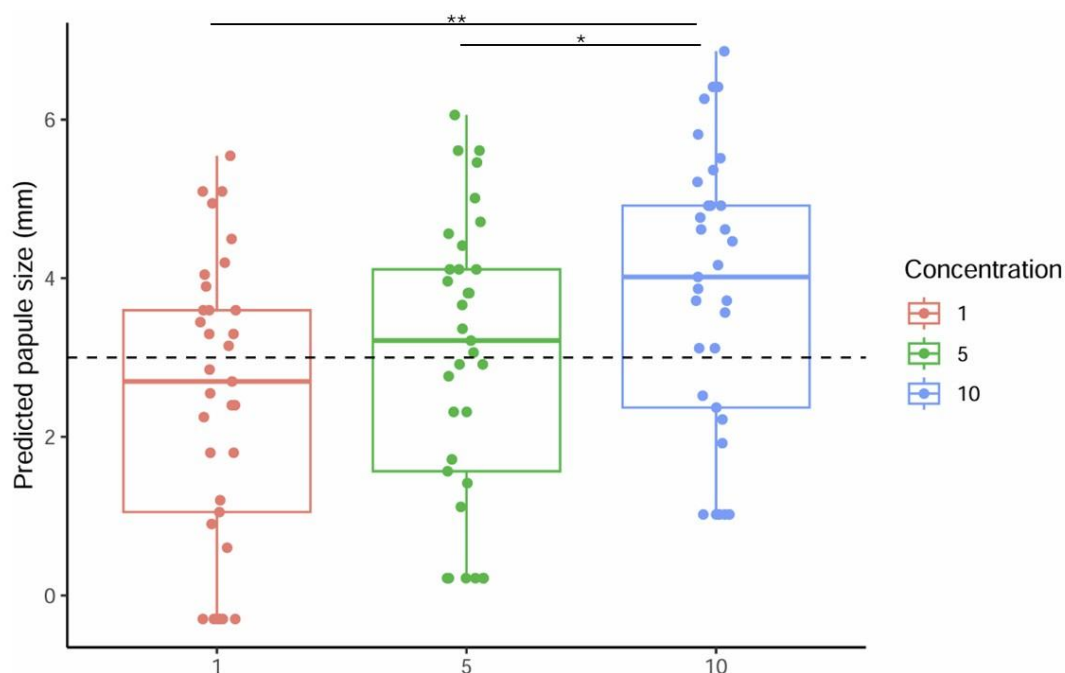


Figura 14 - *Dermatophagoides pteronyssinus*. Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 1 e 5 mg/mL ($p = 0.150$). * Significa diferença significativa entre as concentrações 5 e 10 mg/mL ($p = 0.012$). ** Significa diferença altamente significativa entre as concentrações 1 e 10 mg/mL ($p < 0.0001$). Teste de Turkey.

1591
1592
1593
1594
1595
1596

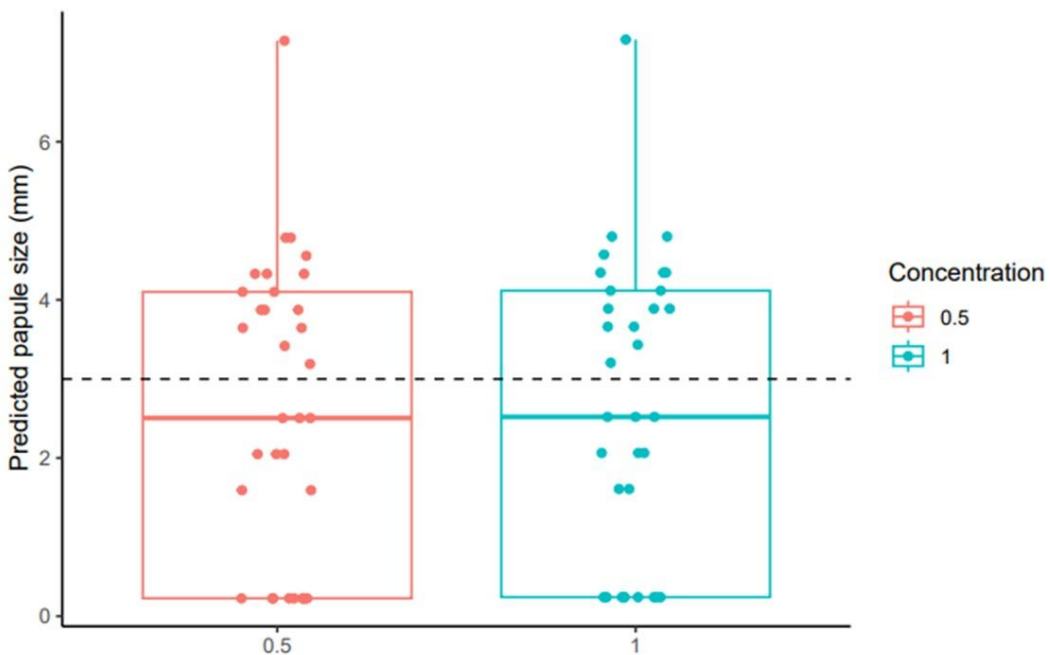


Figura 15 - *Acarus siro*. Tamanhos preditos de pápulas em cães at picos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 0.5 e 1 mg/mL, apesar de tendência   significância ($p = 0.057$). Teste de *Turkey*.

Figura 16 - *Tyrophagus putrescentiae*. Tamanhos preditos de pápulas em cães atópicos, utilizando concentrações que não formaram pápulas positivas em até 10% de animais saudáveis. Não houve diferença significativa da média papular entre as concentrações 0.5 e 1 mg/mL ($p = 0.9430$). Teste de Turkey.

Nos cinco alérgenos testados, quanto maior a concentração, maior a quantidade de cães com DAC considerados positivos. Contudo, a proporção de animais positivos entre as concentrações não demonstrou diferença significativa, exceto para *D. farinae* (tabela 3).

Positividade aos alérgenos em cães com dermatite atópica

Quando considerada apenas a concentração ideal baseada no limiar irritativo, dos 33 cães com DAC, 28 (84.8%) foram positivos para *Dermatophagoides farinae*, 26 (78.8%) para *Dermatophagoides pteronyssinus*, 20 (60.6%) para *Acarus siro*, 19 (57.6%) para *Tyrophagus putrescentiae* e 17 (51.5%) para *Blomia tropicalis* (figura 17).

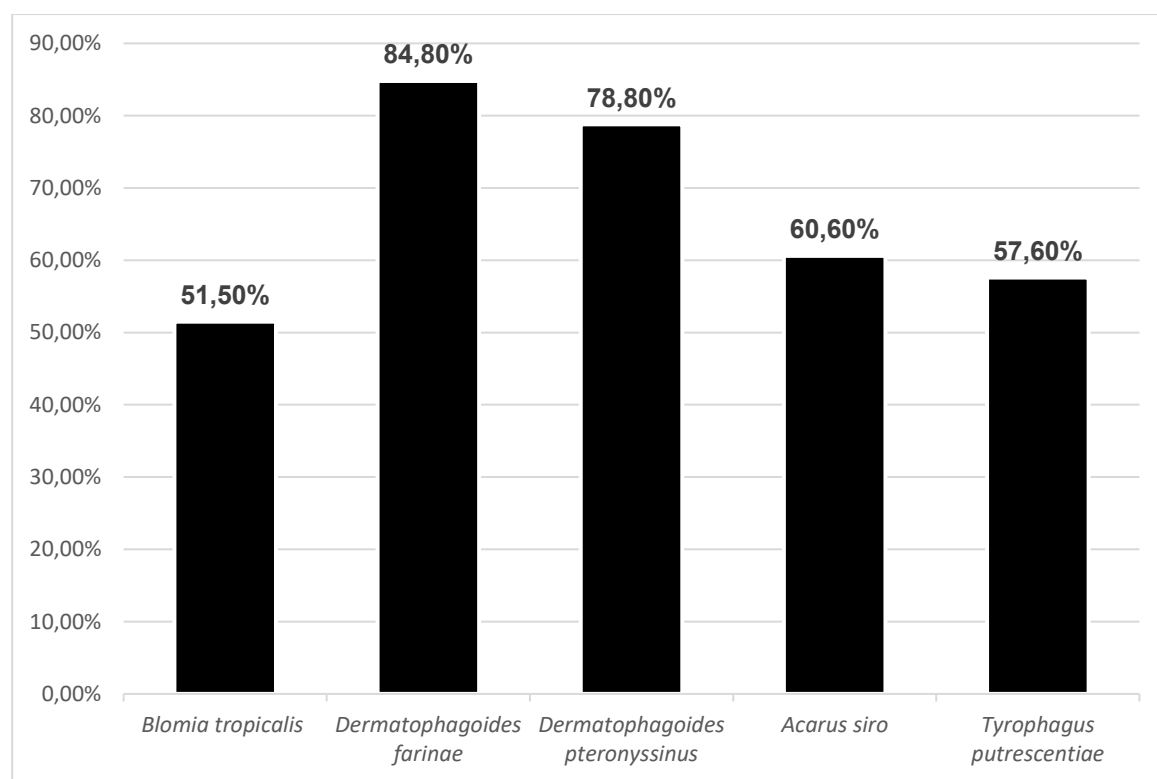


Figura 17 - Resultado de positividade aos cinco diferentes ácaros testados em cães com dermatite atópica, baseando-se na concentração ideal definida após teste de concentração de limiar irritante.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que, para o teste de puntura, extratos alérgicos de diferentes espécies de ácaros apresentam concentrações de limiar irritante diferentes, e que maiores concentrações que não produzem reações positivas em até 10% de animais hígidos devem ser utilizadas em cães com DAC.

Este estudo tem diversas limitações, todas elas relacionados com a falta de padronização da técnica em cães. A escolha do tipo do puntor, o local anatômico de realização do teste, as concentrações escolhidas dos extratos, o critério de mensuração de pápulas e definição de ponto de corte, a unidade de medida dos extratos (mg/mL) bem como o impacto do movimento corpóreo de alguns cães durante a aplicação do puntor são fatores não validados e decididos baseados em decisão empírica ou derivados da medicina.

Nenhum efeito adverso relacionado à hipersensibilidade do tipo I foi encontrado neste estudo, mesmo utilizando concentrações elevadas, similar a estudo prévio (Carnett e Plant, 2018; Fleischman e Morris, 2022). Alguns cães apresentaram desconforto devido à contenção ou quando a puntura era realizada em determinados locais, em especial próximos aos últimos arcos costais. Este desconforto, em nossa experiência, é bem menos evidente do que quando realizado teste intradérmico, que geralmente necessita sedação para minimizar estes sinais. Cães que se mostram desconfortáveis durante o teste são de difícil previsão, visto que alguns cães de comportamento dócil e tranquilo durante avaliação clínica se tornavam agitados durante a contenção. É incerto o efeito de um movimento corporal do cão durante a puntura, visto que essa contração ou espasmo pode alterar a força aplicada do puntor em direção à pele. Portanto, nestes casos, é prudente acreditar que algumas reações podem ter tido seu resultado significativo devido a uma maior força aplicada. Estudos avaliando diferentes forças de aplicação do puntor são necessários em cães. Em casos necessários, recomendamos a sedação destes pacientes para uma melhor realização do teste. Como estudos clínicos avaliando eventuais efeitos de medicações anestésicas na formação de pápulas em cães estão em falta na literatura, recomendamos seguir as orientações de cuidados descritas para o teste intradérmico (Hensel et al., 2015).

O teste de puntura nos cães de ambos os grupos de estudos apresentaram pápulas relacionadas à histamina (controle positivo), na concentração de 10 mg/mL, de tamanho mediano similares, como descrito em estudos prévios (Carnett e Plant, 2018; Carmon-Gil et al., 2019). A concentração utilizada é bem superior às concentrações usadas no teste intradérmico, neste comumente utilizando-se concentrações entre 0.01 a 0.1 mg/mL (Hensel et al., 2025). Esta capacidade da histamina em induzir inflamação demonstra que ela não deve ser utilizada para diferenciar cães saudáveis de alérgicos. Alguns autores (Badulescu et al., 2023) utilizam do diâmetro da histamina associada ao diâmetro do controle negativo para identificação do ponto de corte. Assim, é razoável acreditar que diferentes concentrações de extratos de histamina podem produzir diferentes tamanhos de pápulas e afetar a interpretação do teste de puntura, o que leva à necessidade de novos estudos avaliando diferentes concentrações de extratos desta substância. Nos cães com DAC incluídos no estudo, quase 30% produziram pápulas ao controle negativo, o que não foi observado em cães saudáveis. Um outro estudo também demonstrou que alguns cães produziram pápulas ao controle negativo no teste de puntura (Badulescu et al., 2023). Isso demonstra que estes cães apresentam pele hiperssensível, podendo reagir ao extrato de salina fenolada ou até mesmo à puntura. Este achado reforça a importância do tamanho papular do controle negativo na consideração de resultados positivos aos extratos de alérgenos ambientais no teste de puntura, e atualmente, considera-se um alérgeno positivo ao apresentar diâmetro papular de 3mm igual ou superior ao diâmetro do controle negativo. Ainda, vale ressaltar que neste estudo utilizamos extratos glicerizados nos controles positivo e negativo. Não há estudo de teste de puntura avaliando o possível potencial da glicerina em induzir inflamação em cães. Contudo, recentemente, um estudo demonstrou que a solução salina glicerizada a 50%, quando aplicada pela via intradérmica em cães, pode causar inflamação e formação papular, levando a um resultado falso positivo, fato este não observado em solução salina fenolada (Banovic et al., 2023). Estudos futuros avaliando diferentes diluições de extratos em glicerina são necessários no teste de puntura, a fim de identificar a concentração ideal de glicerina a ser utilizada.

Também realizamos a medição das pápulas após 15 minutos, conforme descrito em literatura (Carmona-Gil, 2019; Badulescu et al., 2022). Estudos avaliando

mensurações papulares em diferentes tempos após a puntura são ausentes em cães. Embora um estudo mensurou as pápulas a cada cinco minutos por até 25 minutos após a puntura, os autores não analisaram diferenças entre os tempos. Contudo, os resultados mostram alguns animais apresentando reações consideradas significantes apenas após 20 ou 25 minutos para extratos de *D. farinae* e *D. pteronyssinus* na concentração de 1:200 peso/volume (Carnett e Plant, 2018). Em crianças, um estudo demonstrou não haver diferenças nas avaliações após 10 ou 15 minutos da puntura para alérgenos ambientais. Contudo, as pápulas resultantes da histamina foram significamente maiores em 10 minutos quando comparadas a 15 minutos (Lie et al., 2022).

Os presentes resultados ressaltam que diferentes movimentos e força aplicada pode interferir no resultado do controle negativo, atrapalhando a repetibilidade e reprodutibilidade do teste de puntura em cães, reduzindo sua sensibilidade e reforçando que este tipo de teste deve ser performed por médico veterinário experiente e capacitado. Contudo, como demonstrado na medicina, mesmo quando os resultados são avaliados por médicos alergistas experientes, há diferenças na interpretação e graduação das pápulas formadas (McCann e Ownby, 2002). Um estudo avaliando a repetibilidade e a reprodutibilidade do teste intradérmico e comparando com sorologia IgE-específica foi publicado há poucos anos em cães (Aleksandrova et al., 2022). Os autores reportaram que o teste intradérmico apresentou repetibilidade entre observadores variando de ruim a boa, dependendo do número de vezes que o alérgeno foi injetado, ao passo que a sorologia IgE-específica apresentou repetibilidade alta. Por outro lado, a reprodutibilidade variou de moderada a substancial. Estudos futuros avaliando a repetibilidade e reprodutibilidade do teste de puntura são necessários.

Em relação as concentrações de limiar irritante para os cinco diferentes extratos de alérgenos de ácaros testados em animais hígidos, 5mg/mL foi identificada para *B. tropicalis*, 10mg/mL para *D. farinae* e *D. pteronyssinus*, e 1mg/mL para *A. siro* e *T. putrescentiae*.

Há poucos relatos na medicina veterinária que avaliaram a CLI utilizando extratos de ácaros para testes de puntura em cães. Em estudo pregresso, 11 cães hígidos não apresentaram nenhuma pápula no teste de puntura com extratos de *D.*

1717 *farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. siro* e *T. putrescentiae*, nas concentrações de 0.01, 0.1,
1718 1 e 10 mg/mL (Lorente e Ruiz-Tápia, 2015). Posteriormente, os mesmos autores
1719 testaram 20 cães saudáveis para extratos de *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *A. siro* e *T.*
1720 *putrescentiae* nas concentrações de 0.01, 0.1, 1, 10, 20 e 50 mg/mL, com resultados
1721 de CLI de 10mg/mL para *D. farinae* e *A. siro* e 20 mg/mL para *D. pteronyssinus* e *T.*
1722 *putrescentiae* (Lorente e Ruiz-Tápia, 2016).

1723 Quando comparamos com os resultados do presente estudo, apenas *D. farinae*
1724 apresentou concentração similar e, estas diferenças no tempo de reação, na
1725 interpretação dos resultados, na origem e concentrações de extratos produzidos pelos
1726 diferentes fabricantes podem justificar as diferenças entre resultados. Cada fabricante
1727 pode produzir um extrato de diferentes imunogenicidades e homogeneidades.
1728 Idealmente, cada fabricante deveria promover um estudo avaliando concentrações de
1729 limiar irritante. Não há estudos avaliando a homogeneidade de extratos para teste de
1730 puntura ao redor do mundo. Recentemente, um estudo, apresentado na forma de
1731 “short communication” em congresso, avaliou diferentes extratos de *D. farinae* com
1732 potencial uso para teste sorológico e intradérmico. Os resultados demonstraram uma
1733 grande heterogeneidade entre os extratos avaliados, com grande variação no
1734 conteúdo proteico e de alérgenos como Der f 1 e Der f 2 (Welters et al., 2025).

1735 Em adição, há diferentes tipos de puntores disponíveis para realização do teste
1736 de puntura, cada um necessitando de uma técnica e força de aplicação diferentes. Isto
1737 pode promover discrepâncias nos tamanhos das pápulas e interpretações dos
1738 resultados (Nelson et al., 1998; Chiaranairungroj et al., 2023). Em estudo recente na
1739 medicina, os autores avaliaram quatro diferentes puntores em três diferentes forças
1740 aplicadas (30, 45 e 60g), demonstrando que o tipo de puntor, formato e força aplicada
1741 (em especial 60g) são importantes fatores que influenciam na performance do teste
1742 de puntura (Chiaranairungroj et al., 2023). O puntor plástico com seis pontas e um
1743 bastão central limitador de profundidade (UniTest PC®) foi utilizado no presente
1744 estudo. Nos cães que participaram do estudo, este puntor promoveu um teste rápido
1745 e fácil de performar, com baixo incômodo nos pacientes. Em humanos, de acordo com
1746 o fabricante (Lincoln Diagnostics, Decatur, IL, Estados Unidos da América), este tipo
1747 de puntor também promove menos dor e favorece a sensibilidade e especificidade das
1748 reações, além de produzir melhor repetibilidade e reprodutibilidade do exame. Assim,

a diferença entre os puntiores utilizados entre os estudos, pode também justificar as diferenças dos achados. Novos estudos comparando diferentes puntiores e técnicas, incluindo força aplicada, são necessários em cães.

No presente estudo, extratos de ácaros de estocagem, mesmo em menores concentrações quando comparadas aos ácaros de poeira doméstica, foram capazes de produzir reações cutâneas em indivíduos normais e em cães com DAC. Em adição, a concentração ideal de *B. tropicalis* foi de 5 mg/mL, que é inferior ao das espécies de *Dermatophagoides* (10 mg/mL) e, embora classicamente considerado um ácaro de estocagem, em países tropicais como o Brasil, este ácaro é frequentemente encontrado na poeira doméstica (Cunha et al., 2012).

A natureza e origem biológica de alérgenos de ácaros de estocagem e da *Blomia tropicalis* em cães ainda são pouco elucidadas. Estes ácaros são comumente encontrados em construções de fazendas, como estábulos e celeiros, bem como encontrados em matéria orgânica como solo, onde decompõe restos de plantas e ninhos de vertebrados (Hubert et al., 2018).

O *Acarus siro*, também conhecido como ácaro da farinha, é comumente encontrado em alimentos armazenados e, em ambientes urbanos, faz parte da composição da poeira doméstica (Webster et al., 2004).

Em ratos, a exposição ao *T. putrescentiae* foi capaz de induzir maior inflamação pulmonar quando comparado aos ácaros de poeira (Kim et al., 2024), o que sugere que os alérgenos destas espécies podem ter maior antigenicidade do que os de ácaros de poeira doméstica. Já em cães com DAC, a presença de IgE sérica foi determinada a dezenas de proteínas de diferentes pesos moleculares de alérgenos de *A. siro* e *T. putrescentiae* (Arlian et al., 2003), o que demonstra a importância destes na sensibilização alérgica a estes.

A maioria dos cães com DAC no Brasil alimentam-se de ração comercial industrializada, que podem ser contaminadas pelos ácaros de estocagem, em especial o *T. putrescentiae*, o que pode levar à sensibilização e consequente indução de sinais clínicos nestes animais (Olivry e Mueller, 2019). O *T. putrescentiae* tem capacidade de infestar e se proliferar em sacos de rações para cães, tendo preferência por rações ricas em proteínas e gorduras (Olivry e Mueller, 2019)

Em adição, no Brasil é comum a prática de aquisição de ração seca a granel em estabelecimentos comerciais, o que agrava o risco de contaminação por estes ácaros, especialmente em locais que não realizam adequada armazenagem e higienização dos reservatórios, o que justifica as sensibilidades aos alérgenos de ácaros achadas do presente estudo. Diversos estudos demonstram a importância da sensibilização a estes ácaros de estocagem em cães com DAC (Farmaki et al., 2012; Bjelland et al., 2014; Drouet et al., 2024)

O tamanho da pápula é uma das principais limitações do teste de puntura em cães. Quando foi comparado os cães saudáveis e com DAC, foi observado que cães atópicos produziram pápulas maiores, provavelmente devido ao fato de apresentarem uma polarização da resposta imune para resposta inflamatória do tipo 2, o que leva a produção de anticorpos de IgE e reação aos antígenos aos quais estão sensibilizados (Nuttall et al., 2019). Quando analisamos as diferentes concentrações testadas até a identificação da CLI para cada alérgeno, observou-se, em todos os alérgenos testados, que concentrações maiores produziram pápulas maiores e de mais fácil interpretação em cães com DAC. Embora diferenças significativas entre os tamanhos papulares foram observadas apenas em ácaros de poeira doméstica, sugere-se que, para as cinco espécies testadas, a maior concentração avaliada que induziu menos de 10% de reações em cães normais deve ser utilizada no teste de puntura nestes animais.

Em adição, o teste de puntura utilizando a CLI mostrou resultados positivos frente aos ácaros domésticos variando entre 51.5 a 84.4%, a depender do alérgeno, em cães com DAC. A maioria dos cães com DAC no Brasil são intradomiciliados, o que aumenta a exposição aos ácaros de poeira doméstica, principalmente encontrados em mobília têxtil, como sofás, colchões e tapetes (Colloff, 2009) e justifica a alta sensibilização observada e, a grande similaridade das sensibilizações aos ácaros domésticos observadas entre o teste de puntura no presente estudo e os testes intradérmicos em estudos pregressos (Carlotti e Costargent, 1994; Foster et al., 2003; Popiel e Cekiera, 2015), credencia a utilização do teste de puntura em cães com DAC nas concentrações determinadas. Entretanto, a melhor maneira de corroborar um resultado positivo em um teste de puntura seria a demonstração de melhora dos sinais clínicos após a utilização de imunoterapia com alérgeno fundamentado em seus

1812 resultados e estudos utilizando este tipo de terapia baseada na escolha dos alérgenos
1813 após teste de punção são necessários em cães com dermatite atópica.

1814

1815 Como conclusão, o presente estudo demonstrou que, dentre as concentrações
1816 testadas, as concentrações de 10mg/mL para *Dermatophagoides farinae* e
1817 *pteronyssinus*, 5 mg/mL para *Blomia tropicalis* e 1 mg/mL para *Acarus siro* e
1818 *Tyrophagus putrescentiae* são as mais adequadas para utilização em testes de
1819 punção em cães com DAC e que estes ácaros são importantes na sensibilização
1820 alérgica dos cães no Brasil. A identificação destas concentrações pode melhorar o
1821 teste de punção em cães com dermatite atópica, facilitando sua interpretação e
1822 reduzindo resultados falsos positivos e negativos.

1823

1824

1825

1826

1827

1828

1829

1830

1831

1832

1833

1834

1835

1836

REFERÊNCIAS

- Alcalá COR, Possebom J, Ludwig LA, Cerdeiro AP. Evaluation of skin prick test, exclusion diet and dietary challenge in the diagnosis of food allergy in dogs with chronic pruritus. *Pesq Vet Bras*. 2023;43:e07196. doi:10.1590/1678-5150-PVB-7196
- Aleksandrova S, Sofou EI, Badulescu E, Chatzis M, Saridomichelakis MN. Repeatability and reproducibility of the interpretation of intradermal test results in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2022 Dec;33(6):527-533. doi: 10.1111/vde.13107. PMID: 36336575.
- Arlian LG, Schumann RJ, Morgan MS, Glass RL. Serum immunoglobulin E against storage mite allergens in dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res*. 2003 Jan;64(1):32-6. doi: 10.2460/ajvr.2003.64.32. PMID: 12518875.
- Badulescu E, Sofou EI, Aleksandrova S, Chatzis M, Saridomichelakis MN. Investigation of the diagnostic performance of prick test with two environmental allergens in dogs with atopic dermatitis: A study using intradermal test as the gold standard. *Vet Dermatol*. 2023 Feb;34(1):46-52. doi: 10.1111/vde.13130. Epub 2022 Oct 13. PMID: 36229985.
- Ballauf B. Vergleich von Intrakutan- und Pricktest in der Allergiediagnostik beim Hund [Comparison of the intradermal and prick tests for diagnosis of allergy in the dog]. *Tierarztl Prax*. 1991 Aug;19(4):428-30. German. PMID: 1948991.
- Banovic F, Vargo C, Denley T. Effect of glycerin on immediate cutaneous reactions of histamine (positive) and phosphate-buffered saline (negative) controls in intradermal skin testing of healthy dogs: A randomised, blinded study. *Vet Dermatol*. 2023 Aug;34(4):348-354. doi: 10.1111/vde.13158. Epub 2023 Mar 20. PMID: 36938838.
- Baretta LT, do Espírito Santo Cunha V, Figueiredo CD, Gerardi DG. A randomised, double-blinded trial to assess the effect of oclacitinib and prednisolone on intradermal allergen and prick tests in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2024 Feb;35(1):71-80. doi: 10.1111/vde.13209. Epub 2023 Sep 28. PMID: 37770410.
- Bauer CL, Hensel P, Austel M, Keys D. Determination of irritant threshold concentrations to weeds, trees and grasses through serial dilutions in intradermal testing on healthy clinically nonallergic dogs. *Vet Dermatol*. 2010 Apr;21(2):192-7. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00797.x. PMID: 20230589.
- Bjelland AA, Dolva FL, Nødtvedt A, Sævik BK. Prevalence of and risk factors for increased serum levels of allergen-specific IgE in a population of Norwegian dogs. *Acta Vet Scand*. 2014 Dec 5;56(1):81. doi: 10.1186/s13028-014-0081-z. PMID: 25475748; PMCID: PMC4264244.
- Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, Canonica GW, Carlsen KH, Cox L, Haahtela T, Lodrup Carlsen KC, Price D, Samolinski B, Simons FE, Wickman M, Annesi-Maesano I, Baena-Cagnani CE, Bergmann KC, Bindselev-Jensen C, Casale TB, Chiriac A, Cruz AA, Dubakiene R, Durham SR,

1877 Fokkens WJ, Gerth-van-Wijk R, Kalayci O, Kowalski ML, Mari A, Mullol J, Nazamova-
1878 Baranova L, O'Hehir RE, Ohta K, Panzner P, Passalacqua G, Ring J, Rogala B,
1879 Romano A, Ryan D, Schmid-Grendelmeier P, Todo-Bom A, Valenta R, Woehrl S, Yusuf
1880 OM, Zuberbier T, Demoly P; Global Allergy and Asthma European Network; Allergic
1881 Rhinitis and its Impact on Asthma. Practical guide to skin prick tests in allergy to
1882 aeroallergens. *Allergy*. 2012 Jan;67(1):18-24. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x.
1883 Epub 2011 Nov 4. PMID: 22050279.

1884 Carlotti DN, Costargent F. Analysis of positive skin tests in 449 dogs with allergic
1885 dermatitis. *Eur J Comp Anim Pract* 1994;4:42–59.

1886 Carmona-Gil AM, Sánchez J, Maldonado-Estrada J. Evaluation of Skin Prick-Test
1887 Reactions for Allergic Sensitization in Dogs With Clinical Symptoms Compatible With
1888 Atopic Dermatitis. A Pilot Study. *Front Vet Sci*. 2019 Dec 17;6:448. doi:
1889 10.3389/fvets.2019.00448. PMID: 31921909; PMCID: PMC6927991.

1890 Carnett MJH, Plant JD. Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for
1891 eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Vet Dermatol*. 2018
1892 Apr;29(2):117-e47. doi: 10.1111/vde.12514. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29315920.

1893 Cerdeiro APS, Farias MR, Cunha VES, Secchi GV, Pacheco BD, Alcalá COR, Ganho
1894 RGR. Grass pollen sensitization in dogs in Paraná, Brazil: comparison between
1895 percutaneous and intradermal testing. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2021;73(4):821–826.

1896 Chiaranairungroj M, Chatchatee P, Srituravanich W. The effect of applied force and
1897 device design on skin prick test performance. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2023
1898 Mar;130(3):312-316. doi: 10.1016/j.anai.2022.11.014. Epub 2022 Nov 25. PMID:
1899 36436784.

1900 Colloff MJ. *Dust Mites*. Dordrecht: Springer Netherlands; 2009. doi:10.1007/978-90-
1901 481-2224-0

1902 Cunha V, Souza C, Contreras E, Nunes T, Rocha R, Bernardes F. P-18 Evaluation of
1903 skin prick test to identify sensitization to house dust mite allergens in dogs. *Vet*
1904 *Dermatol*. 2020 31(Suppl.1):6-109 (abstract).

1905 Drouet L, Bonati S, Cozar A, Petit N, Prélaud P. Prevalence of immunoglobulin E
1906 sensitisation to mites and pollens in 25,451 French dogs from 2016 to 2022. *Vet*
1907 *Dermatol*. 2025 Feb;36(1):52-63. doi: 10.1111/vde.13309. Epub 2024 Oct 29. PMID:
1908 39469743.

1909 Eisenschenk MC, Hensel P, Saridomichelakis MN, Tamamoto-Mochizuki C, Pucheu-
1910 Haston CM, Santoro D. Introduction to the ICADA 2023 canine atopic dermatitis
1911 pathogenesis review articles and updated definition. *Vet Dermatol*. 2024 Feb;35(1):3-
1912 4. doi: 10.1111/vde.13183. Epub 2023 Dec 14. PMID: 38095285.

1913 Farmaki R, Saridomichelakis MN, Leontides L, Papazahariadou MG, Gioulekas D,
1914 Koutinas AF. Dust mite species in the households of mite-sensitive dogs with atopic
1915 dermatitis. *Vet Dermatol*. 2012 Jun;23(3):222-e45. doi: 10.1111/j.1365-
1916 3164.2012.01052.x. PMID: 22575020.

- 1917 Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of
1918 chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol.* 2010 Feb;21(1):23-
1919 31. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00758.x. PMID: 20187911.
- 1920 Ferreira RR. Avaliação de diferentes concentrações de histamina e extratos
1921 alergênicos em cães sadios submetidos a teste intradérmico (tese de doutorado).
1922 Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013. Não publicado.
- 1923 Fleischman DA, Morris DO. Pilot study to determine the concordance between skin
1924 prick and intradermal test (IDT) reactivity to environmental allergens in atopic dogs
1925 using IDT as the gold standard. *Vet Dermatol.* 2023 Dec;34(6):505-513. doi:
1926 10.1111/vde.13187. Epub 2023 Jun 29. PMID: 37382082.
- 1927 Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JL, Rogers K, Shaw SE. Comparison of
1928 intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fcepsilon RIalpha-
1929 based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003 May 30;93(1-
1930 2):51-60. doi: 10.1016/s0165-2427(03)00052-7. PMID: 12753775.
- 1931 Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, Durham S,
1932 Fokkens W, Gjomarkaj M, Haahtela T, Bom AT, Wöhrl S, Maibach H, Lockey R. The
1933 skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy.* 2013 Feb 1;3(1):3. doi:
1934 10.1186/2045-7022-3-3. PMID: 23369181; PMCID: PMC3565910.
- 1935 Hensel P, Austel M, Medleau L, Zhao Y, Vidyashankar A. Determination of threshold
1936 concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in
1937 canine intradermal testing. *Vet Dermatol.* 2004 Oct;15(5):304-8. doi: 10.1111/j.1365-
1938 3164.2004.00400.x. PMID: 15500482.
- 1939 Hensel P, Saridomichelakis M, Eisenschenk M, Tamamoto-Mochizuki C, Pucheu-
1940 Haston C, Santoro D; International Committee on Allergic Diseases of Animals
1941 (ICADA). Update on the role of genetic factors, environmental factors and allergens in
1942 canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2024 Feb;35(1):15-24. doi: 10.1111/vde.13210.
1943 Epub 2023 Oct 15. PMID: 37840229.
- 1944 Hubert J, Nesvorna M, Sopko B, Smrz J, Klimov P, Erban T. Two Populations of Mites
1945 (*Tyrophagus putrescentiae*) Differ in Response to Feeding on Feces-Containing Diets.
1946 *Front Microbiol.* 2018 Oct 30;9:2590. doi: 10.3389/fmicb.2018.02590. PMID:
1947 30425700; PMCID: PMC6218854.
- 1948 Gentry CM, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to
1949 histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Vet Dermatol.* 2016
1950 Oct;27(5):370-e92. doi: 10.1111/vde.12343. Epub 2016 Jun 20. PMID: 27324418.
- 1951 Hensel P, Austel M, Medleau L, Zhao Y, Vidyashankar A. Determination of threshold
1952 concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in
1953 canine intradermal testing. *Vet Dermatol.* 2004 Oct;15(5):304-8. doi: 10.1111/j.1365-
1954 3164.2004.00400.x. PMID: 15500482.
- 1955 Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed
1956 guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015 Aug 11;11:196.
1957 doi: 10.1186/s12917-015-0515-5. PMID: 26260508; PMCID: PMC4531508.

- 1958 Kanceljak-Macan B, Macan J, Plavec D, Klepac T, Milković-Kraus S. The 3 mm skin
1959 prick test (SPT) threshold criterion is not reliable for *Tyrophagus putrescentiae*: the re-
1960 evaluation of SPT criterion to dust mites. *Allergy*. 2002 Dec;57(12):1187-90. doi:
1961 10.1034/j.1398-9995.2002.23730.x. PMID: 12464048.
- 1962 Kim EM, Kim JY, Kwak YS, Yi MH, Yong TS. The storage mite *Tyrophagus*
1963 *putrescentiae* induces greater lung inflammation than house dust mites in mice.
1964 *Parasites Hosts Dis*. 2024 Aug;62(3):365-377. doi: 10.3347/PHD.24032. Epub 2024
1965 Aug 26. PMID: 39218635; PMCID: PMC11366546.
- 1966 Lie A, Wärnberg Gerdin S, Skrindo I, Rehbinder EM, Jonassen CM, LeBlanc M, Staff
1967 AC, Söderhäll C, Vettukattil R, Ådalen S, Aaneland H, Lødrup Carlsen KC, Skjerven
1968 HO, Nordlund B. Evaluation of Skin Prick Test Reading Time at 10 versus 15 min in
1969 Young Infants. *Int Arch Allergy Immunol*. 2022;183(8):824-834. doi:
1970 10.1159/000522526. Epub 2022 Mar 29. PMID: 35350034; PMCID: PMC9533466.
- 1971 Lorente C, Ruiz P. Preliminary assessment of percutaneous (prick) test in dogs. *Vet*
1972 *Dermatol*. 2015;26:298 (Abstract).
- 1973 Lorente C, Ruiz-Tapia P. Determination of the optimal threshold concentrations of eight
1974 allergens for skin percutaneous (prick) test in dogs. *Vet Dermatol* 2016; 27(Suppl. 1):
1975 71. (Abstract).
- 1976 Loeffler A, Cain CL, Ferrer L, Nishifuji K, Varjonen K, Papich MG, Guardabassi L,
1977 Frosini SM, Barker EN, Weese JS. Antimicrobial use guidelines for canine pyoderma
1978 by the International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID). *Vet*
1979 *Dermatol*. 2025 Jun;36(3):234-282. doi: 10.1111/vde.13342. PMID: 40338805; PMCID:
1980 PMC12058580.
- 1981 Ludwig L, Tsukui T, Kageyama M, Farias M. Evaluation of sensitization to the crude
1982 extract of *Dermatophagoides farinae* and its derived allergens, Der f 2 and Zen 1, in
1983 dogs with atopic dermatitis in Southern Brazil. *Vet Immunol Immunopathol*. 2021
1984 Apr;234:110199. doi: 10.1016/j.vetimm.2021.110199. Epub 2021 Feb 10. PMID:
1985 33662650.
- 1986 McCann WA, Ownby DR. The reproducibility of the allergy skin test scoring and
1987 interpretation by board-certified/board-eligible allergists. *Ann Allergy Asthma Immunol*.
1988 2002 Oct;89(4):368-71. doi: 10.1016/S1081-1206(10)62037-6. PMID: 12392380.
- 1989 Nelson HS, Lahr J, Buchmeier A, McCormick D. Evaluation of devices for skin prick
1990 testing. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 Feb;101(2 Pt 1):153-6. doi: 10.1016/S0091-
1991 6749(98)70409-9. PMID: 9500746.
- 1992 Nødtvedt A, Bergvall K, Emanuelson U, Egenvall A. Canine atopic dermatitis: validation
1993 of recorded diagnosis against practice records in 335 insured Swedish dogs. *Acta Vet*
1994 *Scand*. 2006 Jun 15;48(1):8. doi: 10.1186/1751-0147-48-8. PMID: 16987404; PMCID:
1995 PMC1553461.
- 1996 Nuttall TJ, Marsella R, Rosenbaum MR, Gonzales AJ, Fadok VA. Update on
1997 pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med*

1998 Assoc. 2019 Jun 1;254(11):1291-1300. doi: 10.2460/javma.254.11.1291. PMID:
1999 31067173.

2000 Olivry T, Mueller RS. Critically Appraised Topic on Adverse Food Reactions of
2001 Companion Animals (8): Storage Mites in Commercial Pet foods. BMC Vet Res. 2019
2002 Oct 31;15(1):385. doi: 10.1186/s12917-019-2102-7. PMID: 31672139; PMCID:
2003 PMC6822402.

2004 Patel G, Saltoun C. Skin testing in allergy. Allergy Asthma Proc. 2019 Nov 1;40(6):366-
2005 368. doi: 10.2500/aap.2019.40.4248. PMID: 31690371.

2006 Popiel J, Cekiera A. Comparison of IgE test results with intradermal skin tests for dust
2007 mites and storage mites in atopic dogs. Pol J Vet Sci. 2015;18(2):351-6. doi:
2008 10.1515/pjvs-2015-0045. PMID: 26172185.

2009 Possebom J, Cruz A, Gmyterco VC, de Farias MR. Combined prick and patch tests for
2010 diagnosis of food hypersensitivity in dogs with chronic pruritus. Vet Dermatol. 2022
2011 Apr;33(2):124-e36. doi: 10.1111/vde.13055. Epub 2022 Jan 11. PMID: 35014738.

2012 Solarz, K., Pająk, C. Risk of exposure of a selected rural population in South Poland
2013 to allergenic mites. Part II: acarofauna of farm buildings. *Exp Appl Acarol* **77**, 387–399
2014 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00355-7>

2015 van der Valk JP, Gerth van Wijk R, Hoorn E, Groenendijk L, Groenendijk IM, de Jong
2016 NW. Measurement and interpretation of skin prick test results. Clin Transl Allergy. 2016
2017 Feb 23;6:8. doi: 10.1186/s13601-016-0092-0. PMID: 26909142; PMCID:
2018 PMC4763448.

2019 Webster LM, Thomas RH, McCormack GP. Molecular systematics of *Acarus siro* s. lat.,
2020 a complex of stored food pests. Mol Phylogenet Evol. 2004 Sep;32(3):817-22. doi:
2021 10.1016/j.ympev.2004.04.005. PMID: 15288058.

2022

2023

2024

2025

2026

2027

2028

2029

2030

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento dos alérgenos ambientais associados a sensibilização de cães com dermatite atópica é fundamental para entender a fisiopatogenia da doença e aprimorar a condução terapêutica. Os ácaros de poeira doméstica e de estocagem são os principais alérgenos ambientais envolvidos com a doença. Testes alérgicos ajudam a identificar quais espécies estão envolvidas na sensibilização de cada cão com dermatite atópica e pode ajudar a reduzir a estabelecer medidas de manejo ambiental e na formulação de imunoterapia alérgeno-específica.

Na medicina veterinária, há vasta literatura utilizando o teste intradérmico e a sorologia por IgE-específica, apesar de ainda carecer de completa padronização. A literatura carece de estudos utilizando teste de puntura como ferramenta complementar no diagnóstico da dermatite atópica em cães. Assim, os resultados aqui demonstrados podem contribuir o avanço do uso da técnica nesta espécie. Em humanos, este método é preferido frente ao intradérmico para diagnóstico *in vivo*. Contudo, em cães, há diversos fatores que podem dificultar a realização do teste. Diferentemente de humanos, os cães podem se movimentar mais durante as punções, o que pode interferir na força de aplicação e consequente formação de pápulas. A sedação pode amenizar estas possíveis interferências. Contudo, ainda carecem estudos que demonstrem quais substâncias utilizadas como sedativos e/ou anestésicos podem ser utilizadas sem interferência medicamentosa em cães.

Infelizmente, no Brasil, médicos veterinários têm acesso apenas a extratos de fabricantes destinados ao uso em humanos, com concentrações geralmente menores do que estas identificadas no presente estudo. Assim, concentrações ideais capazes de promover pápulas mais visíveis, melhoram a realização e interpretação do teste de puntura em cães, tornando-a mais acessível ao uso clínico e consequentemente auxiliando no diagnóstico e controle da dermatite atópica. Novos estudos devem ser realizados a fim de identificar concentrações de outros tipos de alérgenos, como pólenes e alimentos.

2062 À medida que a técnica se torna mais popular entre os médicos veterinários e
2063 suas vantagens em relação ao teste intradérmico se tornam mais evidentes, novos
2064 estudos tendem a ser publicados. Uma das maiores limitações do teste de puntura é
2065 a existência de diferentes puntores e técnicas de performance e leitura dos resultados,
2066 o que atrapalha a repetibilidade e reprodutibilidade do mesmo.

2067 Por fim, a padronização do teste de puntura é essencial e urgente em cães com
2068 dermatite atópica, a fim de popularizar a técnica entre médicos veterinários ao redor
2069 do mundo, facilitando a identificação de alérgenos ambientais a fim de controle
2070 ambiental e realização de imunoterapia alérgeno-específica.