



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**RESULTADOS DE IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA SUBLINGUAL EM
CANÍDEOS ATÓPICOS, NO CONCELHO DE OEIRAS: ESTUDO PILOTO.**

MARISA ALEXANDRA NUNES VICENTE

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Ana Mafalda Gonçalves
Xavier Félix Lourenço

Doutora Solange Judite Roque
Coelho Alves Gil

Dr. Rui José Correia de Oliveira
Ferreira de Almeida

ORIENTADOR

Dr. Rui José Correia de Oliveira Ferreira de
Almeida

CO-ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**RESULTADOS DE IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA SUBLINGUAL EM
CANÍDEOS ATÓPICOS, NO CONCELHO DE OEIRAS: ESTUDO PILOTO.**

MARISA ALEXANDRA NUNES VICENTE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Ana Mafalda Gonçalves
Xavier Félix Lourenço

Doutora Solange Judite Roque
Coelho Alves Gil

Dr. Rui José Correia de Oliveira
Ferreira de Almeida

ORIENTADOR

Dr. Rui José Correia de Oliveira Ferreira de
Almeida

CO-ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

2015

LISBOA

À minha mãe.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr. Rui Ferreira de Almeida, por todos os conhecimentos, oportunidades e exemplos de excelência que me proporcionou ao longo do meu estágio, bem como pela ajuda e total disponibilidade para a concretização deste trabalho.

Ao meu coorientador, Professor Doutor José Henrique Duarte Correia, pela infinita paciência, palavras de incentivo e inestimável ajuda na realização deste trabalho.

Ao Professor Telmo Nunes pelo tempo, paciência e ajuda preciosas disponibilizadas na execução da parte estatística desta dissertação.

À Doutora Pilar Brazis, do laboratório Univet, por toda a ajuda, simpatia e disponibilidade que manifestou desde o início deste trabalho.

A toda a equipa do Hospital Veterinário VetOeiras: Dr. Luís Chambel – obrigado por todos os excelentes ensinamentos, pela exigência e por todas as palavras de incentivo e força que sempre me deu; Dras. Carina, Cláudia, Cristina, Sara, Sílvia, Telma; enfermeiros Ana Lúcia e Filipe; auxiliares Jeni e Paula e Dona Lurdes - obrigado a cada um de vós por terem tornado o meu estágio curricular tão rico em todas as vertentes e por me fazerem sentir tão em casa e tão parte da grande família VetOeiras.

Aos meus colegas de estágio por todo o incentivo, interajuda e amizade que se mantêm até hoje.

À Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço, por ter despertado em mim o interesse e gosto pela área da dermatologia, por me ter recebido de braços abertos no seu departamento no Hospital Escolar da FMV e pela partilha de tantos e tão bons ensinamentos.

À Professora Doutora Teresa Villa de Brito e ao Dr. João Villa de Brito, por me terem recebido tão bem na sua clínica, pelos ensinamentos e experiência transmitidas e todo o incentivo e motivação que me deram.

Aos amigos que me acompanham desde sempre e aos amigos que fiz nesta casa, pela força e motivação que me transmitiram nos momentos mais complicados bem como pelos momentos de diversão e amizade.

Ao Marc, por acreditar tanto em mim e ser o meu companheiro e melhor amigo em todas as horas.

À Pancakes, ser vivo que mais me acompanhou nas longas horas de estudo e trabalho, ao longo do meu percurso académico.

Por último - e como os últimos são sempre os primeiros – à minha família: mãe, avós e tia. Sem vós, sem o vosso apoio e suporte nada disto seria possível. Obrigado do fundo do coração por me proporcionarem a realização deste sonho.

Resultados de imunoterapia alérgico-específica sublingual em canídeos atópicos, no concelho de Oeiras: estudo piloto.

Resumo

A dermatite atópica canina (DAc) é uma doença de incidência elevada e crescente na população canina. A par da evicção alérgica, frequentemente inviável, a imunoterapia alérgico-específica (ITAE) é o único tratamento passível de modificar o curso natural da doença a longo prazo, mesmo após a sua suspensão. A via de administração tradicional de ITAE é a injeção subcutânea; no entanto, a via sublingual (SLIT) tem vindo a ganhar cada vez mais adeptos na comunidade médica devido à sua proclamada maior segurança, praticabilidade e conforto na aplicação. O principal objetivo deste estudo retrospectivo centrou-se na avaliação da eficácia de um protocolo inicial de 7 meses de SLIT em 22 canídeos atópicos.

Numa primeira fase procedeu-se a análise epidemiológica dos painéis alérgicos de 72 canídeos diagnosticados clinicamente com DAc e submetidos a provas alergológicas serológicas. Destes, 16,7% resultaram num painel alérgico negativo a todos os aeroalérgenos testados. Na amostra analisada não houve predomínio de género e a raça indeterminada e o Retriever do Labrador foram as mais prevalentes. O grupo de alérgenos mais frequentemente envolvido no processo alérgico foi o dos ácaros, nomeadamente as espécies *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae*. Na segunda fase, analisou-se a resposta à terapêutica em 22 canídeos atópicos submetidos a um protocolo de 7 meses de SLIT, face a um grupo de controlo de 22 canídeos atópicos tratados exclusivamente com medicação antialérgica sintomática. Esta análise foi feita através de um questionário aplicado aos donos dos animais e através do grau de redução da necessidade de medicação antialérgica concomitante para controlo dos sinais clínicos de DAc. Obteve-se uma redução estatisticamente significativa dos níveis de prurido no grupo de estudo face ao grupo de controlo. Ainda, 31,8% dos animais conseguiram controlar os sinais clínicos de DAc com recurso apenas à SLIT ou, em alguns casos, combinada com champô hipoalérgico. De forma geral, 86,4% dos animais responderam positivamente ao tratamento com SLIT. No entanto, o período de 7 meses de tratamento foi insuficiente para prevenir recidivas após a suspensão, pelo que o mesmo deve ser alargado.

Este estudo, apesar das suas limitações, contribui assim para o crescente volume de bibliografia que atesta a eficácia e segurança da SLIT, constituindo uma alternativa válida para o tratamento da DAc.

Palavras – chave: dermatite atópica; cão; imunoterapia alérgico-específica; sublingual; SLIT.

Results of a sublingual allergenic-specific immunotherapy protocol in atopic dogs in Oeiras, Portugal: a pilot study.

Abstract

Canine atopic dermatitis (cAD) is a disease with a high and increasing incidence in the canine population. Only allergenic avoidance, which is frequently not viable, and allergen-specific immunotherapy (ASIT) can affect the natural course of allergic diseases, even after treatment interruption. Subcutaneous injections are the traditional route of ASIT administration; however the medical community's interest in sublingual administration (SLIT) is growing due to its high safety profile, practicability and more comfortable administration. The main purpose of this retrospective study was to evaluate the response to a 7-month SLIT protocol executed upon 22 atopic dogs.

Initially (stage 1), we conducted an epidemiological analysis on the allergenic results of 72 dogs diagnosed with cAD, both clinically and through serological testing. From these, 16,7% had negative results to all allergens tested. In our sample, no sex predisposition was found, plus crossbreed dogs and Labrador retrievers were the most frequently affected out of the sample. Mites constituted the group of allergens mostly involved in the allergic pathway, specifically *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro* and *Tyrophagus putrescentiae*.

In a second stage, we analyzed the treatment response of 22 atopic dogs that endured a 7-month SLIT protocol in comparison to a control group of 22 atopic dogs submitted only to an anti-allergic symptomatic drug treatment. This analysis was conducted using questionnaires presented to the dog's owners and through the medical records, which allowed us to evaluate the need for anti-allergic medication in order to control the pruritus. We observed a significant statistical reduction in the level of pruritus in the study group, compared to the control group. Furthermore, in 31,8% of the dogs it was possible to control the clinical signs merely using SLIT or, in some cases, SLIT combined with a hypoallergenic shampoo. Overall, 86,4% of the dogs positively responded to SLIT. However, we concluded that the 7-month treatment period is not enough to prevent relapses after SLIT's discontinuation and, therefore, the period of treatment should be longer.

Despite the limitations, this study contributes to the growing body of evidence that supports the efficacy and safety of SLIT and considers it a viable alternative treatment in AD patients.

Key-words: atopic dermatitis; dogs; allergen-specific immunotherapy; sublingual; SLIT.

Índice geral

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract	iv
Índice geral	v
Índice de figuras	vii
Índice de tabelas.....	viii
Índice de gráficos.....	ix
Lista de abreviaturas.....	x
I. Introdução.....	1
II. Breve descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio.....	2
1. Hospital Veterinário VetOeiras – Hospital Veterinário Central da Linha de Cascais	2
a) Medicina interna	2
b) Internamento	2
c) Imagiologia	3
d) Cirurgia.....	3
e) IFRA - Instituto de Fisioterapia e Reabilitação Animal.....	3
2. Queen Mother Hospital for Animals - Royal Veterinary College.....	4
3. Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa ...	4
a) Serviço de Dermatologia.....	4
III. Revisão bibliográfica	6
2.1. Conceito de dermatite atópica	6
2.2. Prevalência e incidência da dermatite atópica.....	7
2.3. Fisiopatologia da dermatite atópica	7
2.3.1. O papel das alterações do sistema imunitário.....	8
2.3.2. O papel dos fatores ambientais.....	16
2.3.3. O papel da genética.....	20
2.4. Diagnóstico da dermatite atópica canina	21

2.4.1. Diagnóstico clínico	21
2.4.2. Diagnóstico laboratorial.....	26
2.5. Tratamento.....	31
2.5.1. Imunoterapia alérgico-específica	31
2.5.2. Imunoterapia específica sublingual	40
IV. Resultados de imunoterapia alérgico-específica sublingual em cães atópicos, no concelho de Oeiras: estudo retrospectivo.	56
3.1. Objetivos	56
3.2. Material e métodos.....	56
Fase I	56
Fase II	57
Resultados	64
Fase I	64
Fase II	68
Discussão.....	74
Fase I	74
Fase II	76
Conclusão	84
V. Bibliografia.....	85
VI. Anexos.....	107
ANEXO I	107
ANEXO II	108

Índice de figuras

Figura 1 Exemplos de diferentes regiões anatómicas afetadas: A - alopecia periocular; B - Eritema no pavilhão auricular; C - Eritema interdigital. (Fotografias originais).....	24
Figura 2 Adaptado de Moingeon & Mascarell, 2012, com permissão dos autores. Esquema representativo do percurso do alérgénio após administração sublingual. Minutos após a administração há ligação entre quantidades substanciais de alérgénio e as células epiteliais e 15 a 30 minutos depois, dá-se a penetração na camada mucosa. Subsequentemente o alérgénio é capturado pelas CLo presentes na mucosa e pelas CDM na lâmina própria, sendo de seguida processado em pequenos péptidos e apresentado em associação com moléculas MHC I ou II na superfície celular; este complexo atinge, de seguida, os linfonodos regionais em 12 a 24h, onde interage com células T naïve (T_{H0}) estimulando a sua diferenciação em T_{H1} e T_{REG} dentro de 2 a 5 dias. Estas células posteriormente migram para a corrente sanguínea, levando assim a tolerância imunológica face ao alérgénio em questão com inibição da resposta T_{H2} pré-existente.	43
Figura 3 Frascos que constituem o protocolo inicial de SLIT.	58
Figura 4 Exemplificação da administração sublingual da ITAE.	59

Índice de tabelas

Tabela 1 Lista de critérios para o diagnóstico de DAc de Favrot <i>et al.</i> (2010).....	25
Tabela 2 Efeitos da ITAE nas células T. Adaptada de Loewenstein & Mueller, 2009.....	34
Tabela 3 Protocolo inicial de SLIT.....	60
Tabela 4 Graus de intervenção medicamentosa em que os animais se inserem de acordo com a medicação antialérgica sintomática que estão a tomar 7 meses após o início do tratamento escolhido, SLIT (grupo de estudo) ou medicação antialérgica sintomática (grupo controlo).....	63
Tabela 6 Classificação de resposta final à terapêutica instituída, de acordo com o grau de prurido atribuído pelos tutores e grau de intervenção medicamentosa, 7 meses após o início do tratamento escolhido, SLIT (grupo de estudo) ou medicação antialérgica sintomática (grupo controlo).	63
Tabela 7 - Frequências das respostas positivas obtidas nas provas alergológicas, por aeroalergénios individuais (n=72).	66
Tabela 8 Comparação entre classificações de resposta à terapêutica com SLIT dadas pelos tutores e através de critérios clínicos como a diminuição do nível de prurido e da necessidade de medicação antialérgica sintomática concomitante.....	72
Tabela 9 Resposta final obtida à terapêutica, de acordo com a estação do ano em que iniciaram a SLIT.....	74

Índice de gráficos

Gráfico 1 Distribuição da amostra por raças.	65
Gráfico 2 Distribuição das sensibilizações obtidas nas provas alergológicas, por grupo de aeroalergénios.	66
Gráfico 3 Distribuição da amostra por raça.	68
Gráfico 4 Variação do valor de prurido ao longo do tempo, nos dois grupos.	69
Gráfico 5 Valores médios de intensidade das máculas e pápulas, antes do início (T0) e após o final (T1) do tratamento com SLIT.	69
Gráfico 6 Valores médios de intensidade do eritema, antes do início (T0) e após o final (T1) do tratamento com SLIT.	70
Gráfico 7 Grau de intervenção medicamentosa em que os animais se inserem, 7 meses após o início do tratamento, segundo o grupo de estudo e de controlo.	71
Gráfico 8 Médias dos valores de grau de intervenção medicamentosa aos 7 e 12 meses após início do tratamento com SLIT, no grupo de estudo.	71
Gráfico 9 Frequências absolutas da classificação da resposta à terapêutica, SLIT ou sintomática, consoante o grupo, ao final de 7 meses de tratamento.	72
Gráfico 10 Resposta final à terapêutica de acordo com a idade em que surgiram os sinais clínicos de DAC.	73
Gráfico 11 Resposta final à terapêutica de acordo com a idade com que os animais iniciaram a SLIT.	73
Gráfico 12 Resposta final à terapêutica de acordo com o tempo durante o qual os animais manifestaram sinais clínicos de DAC antes de iniciarem a SLIT.	74

Lista de abreviaturas

- B_{REG} – Células B Reguladoras
- CADESI - *Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index*
- CD – Células Dendríticas
- CDEI - Células Dendríticas Epidérmicas Inflamatórias
- CL – Células de Langerhans
- CLEL - Camada Lipídica Extracelular Lamelar
- CL_O – Células de Langerhans Orais
- CL_P – Células de Langerhans da Pele
- DA – Dermatite Atópica
- DAC – Dermatite Atópica canina
- DAh – Dermatite Atópica humana
- DAPP – Dermatite Alérgica à Picada da Pulga
- Df – *Dermatophagoides farinae*
- EC – Estrato Córneo
- ELISA – *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
- E.U.A. – Estados Unidos da América
- Fcε - Receptor FC épsilon
- FMV-UTL - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa
- GC – Glucocorticóides
- HEP/ml – *Histamine Equivalent Potency / ml*
- HVCLC – Hospital Veterinário Central da Linha de Cascais
- IC – Intervalo de Confiança
- IFN-γ - *Interferon- γ*
- Ig – Imunoglobulina
- IL - Interleucina
- ITAE – Imunoterapia Alergénio-Específica

ITFCAD – *International Task Force on Canine Atopic Dermatitis*

MH – Medicina Humana

MHC II - *Major Histocompatibility Complex class II*

MV – Medicina Veterinária

Ng/ml – Nanogramas / ml

O.M.S. – Organização Mundial de Saúde

PAM – Péptidos Antimicrobianos

PAMP - *Pathogen-Associated Molecular Pattern*

PNU/ml - *Protein Nitrogen Units / ml*

PRR - *Pattern Recognition Receptors*

PTEA – Perda Transepidérmica de Água

RAST - *Radioallergosorbent Assay*

RCAOA – Reações Cutâneas Adversas de Origem Alimentar

SCIT – *Subcutaneous Immunotherapy*

SIA – Sistema Imunitário Adquirido

SII – Sistema Imunitário Inato

SLIT – *Sublingual Immunotherapy*

TGF- β - *Transformation Growth Factor- β*

T_H – Linfócitos T *helper*

TID – Testes Intradérmicos

TLR – *Toll Like Receptors*

TNF- α - *Tumor Necrosis Factor- α*

T_R1 – Células T Reguladoras tipo 1

T_{REG} – Células T Reguladoras

WHWT - West Highland White Terrier

I. Introdução

A dermatite atópica canina (DAc) é uma doença inflamatória e pruriginosa da pele, resultante da interação entre fatores genéticos, imunitários e ambientais (Day, 2014), com uma incidência elevada e crescente na população canina (Marsella & Girolomoni, 2009). Frequentemente, a medicação antialérgica sintomática, como glucocorticoides (GC) e o imunomodulador ciclosporina, acarreta efeitos secundários adversos incomportáveis (Olivry *et al.*, 2010a) pelo que o tratamento etiológico deve, sempre que possível, ser prioritário. O tratamento etiológico da DAc pode ser feito através de evicção alérgica, frequentemente difícil de levar a cabo, e/ou imunoterapia alérgico-específica (ITAE). Esta pode ser administrada por diversas vias, sendo as mais comuns a subcutânea (SCIT), que constitui o *gold standard*, e a sublingual (SLIT). Recentemente, a SLIT tem vindo a ganhar maior destaque em MH (medicina humana) devido à facilidade de aplicação, uma vez que não é invasiva; maior segurança; e comodidade, pelo facto de não exigir deslocações frequentes ao centro médico; sendo mais frequentemente usada no tratamento de quadros de rinite alérgica e asma, em crianças (Canonica *et al.*, 2014). O mecanismo de ação da SLIT é complexo e não se encontra ainda totalmente elucidado. No entanto, sabe-se que se centra no facto de a cavidade oral constituir um local de tolerância imunitária inata, uma vez que, apesar da exposição constante a antigénios ambientais e alimentares, a mucosa oral mantém-se sem inflamação e com uma quantidade relativamente reduzida de células efectoras, comparativamente a outras mucosas do organismo (Allam *et al.*, 2003; Incorvaia, Frati, Sensi, Riario-Sforza & Marcucci, 2007; Allam *et al.*, 2008a).

Em medicina veterinária (MV), esta via de administração é ainda pouco estudada e utilizada; no entanto, a bibliografia existente indica que a SLIT é eficaz e segura pelo que constitui uma alternativa viável para o tratamento da DAc (DeBoer, Verbrugge & Morris, 2010; DeBoer & Morris, 2012; Marsella & Ahrens, 2013).

O objetivo primordial da presente dissertação centrou-se na avaliação da resposta à SLIT numa amostra de vinte e dois cães atópicos tratados no Hospital Veterinário VetOeiras, onde decorreu o estágio curricular.

II. Breve descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio

1. Hospital Veterinário VetOeiras – Hospital Veterinário Central da Linha de Cascais

O estágio curricular decorreu no Hospital Veterinário VetOeiras – Hospital Veterinário Central da Linha de Cascais (HVCLC), entre 1 de Setembro e 1 de Março de 2014, sob a orientação do Dr. Rui Ferreira de Almeida. Este estágio compreendeu uma carga horária de 1360 horas, divididas equitativamente pelos diferentes serviços abaixo descritos. Foi ainda possibilitada a participação em consultas de especialidade como: medicina felina, dermatologia, animais exóticos, reprodução, oftalmologia, cardiologia, oncologia, comportamento animal, neurologia e ortopedia.

a) Medicina interna

Nas consultas de medicina interna a estagiária teve oportunidade de observar e participar das diversas fases da mesmas, começando com a receção do cliente, recolha de anamnese e realização do exame físico. Sempre que possível foram discutidos, com o médico veterinário, os diagnósticos diferenciais possíveis e quais os exames complementares e tratamentos mais adequados. Durante a consulta, a estagiária ficava ainda encarregada da realização de meios de diagnóstico como hemograma, análises bioquímicas, microhematócrito, testes rápidos de diagnóstico, esfregaços sanguíneos, citologias, urina tipo I, densidade urinária e sedimento urinário. A estagiária realizou ainda inúmeros procedimentos como medição da pressão arterial, colheita de sangue, cateterização venosa e preparação e administração de vacinas e de medicamentos.

b) Internamento

Neste serviço, a estagiária adquiriu prática em procedimentos médicos básicos como execução de um exame físico minucioso; preparação e administração de fármacos; cateterização venosa; colheita de sangue; medição da pressão arterial e glicémia; colheita de urina por algáliação e controlo do seu volume; limpeza e desinfeção de feridas e execução de pensos; realização de hemograma e bioquímicas sanguíneas bem como determinação do microhematócrito.

Sempre que necessário, a estagiária auxiliou ainda os enfermeiros e auxiliares na monitorização e prestação de cuidados de saúde básicos como a alimentação, higiene e fisioterapia dos animais internados.

c) Imagiologia

O serviço de imagiologia encontra-se subdividido nos serviços de radiologia, ecografia e endoscopia; nos quais os estagiários participam no posicionamento e contenção dos animais bem como dos procedimentos pré-anestésicos, sempre que necessários, e consequente monitorização anestésica.

No serviço de radiologia a estagiária adquiriu maior autonomia, sendo dada a oportunidade de realizar ela mesma o exame radiológico.

A estagiária assistiu e auxiliou na execução de inúmeros exames ecográficos e ecocardiográficos bem como procedimentos como ecoguiados como cistocentese, punções aspirativas por agulha fina e biópsias ecoguiadas.

Após a realização dos diferentes tipos de exame procedia-se à discussão dos respetivos achados e sua importância clínica com o clínico assistente.

d) Cirurgia

A atividade da estagiária neste serviço começava com participação na receção e preparação cirúrgica do animal, nomeadamente: cateterização venosa; cálculo, preparação e administração de medicação pré-anestésica e indutor anestésico; tricotomia da área a abordar cirurgicamente; entubação endotraqueal e preparação do campo cirúrgico.

A estagiária observou e participou de cirurgias de tecidos moles, ortopédicas e oftálmicas. Nestas, a sua participação rodava pelos papéis de anestesista, ajudante de cirurgião ou circulante. Foi ainda dada a oportunidade de realização de procedimentos cirúrgicos como suturas de pele e castração de felídeos e canídeos.

Após o procedimento cirúrgico a estagiária era encarregada do acompanhamento do animal até ao internamento, monitorização pós-cirúrgica e contacto telefónico com o dono, no sentido de o informar de como correu a cirurgia e estado geral do paciente.

Nas consultas de seguimento pós-cirúrgicas, era ainda dada à estagiária a possibilidade de praticar procedimentos como desinfeção de suturas, mudança de pensos cirúrgicos e remoção de pontos.

e) IFRA - Instituto de Fisioterapia e Reabilitação Animal

Agregado ao VetOeiras – HVCLC existe o Instituto de Fisioterapia e Reabilitação Animal (IFRA) onde se completa o acompanhamento de animais que padeçam de dor ou desconforto físico em virtude de lesão física, após cirurgia ortopédica ou deterioração física característica do avançar da idade. Neste serviço, sob a orientação da Dra. Carina Ferreira, a estagiária teve oportunidade de auxiliar e participar da realização do exame ortopédico; avaliação cinesiológica de todos os ligamentos e musculatura corporal; hidroterapia em

passadeira aquática; terapia com ultrassons; electroestimulação; massagem terapêutica e exercícios articulares.

2. Queen Mother Hospital for Animals - Royal Veterinary College

Em Abril de 2014 foi realizado um estágio extracurricular no serviço de emergências e cuidados intensivos do Queen Mother Hospital for Animals - Royal Veterinary College, em Hawkshead, Londres, com a duração de 2 semanas, comportando 120 horas de estágio, sob a orientação do Drs. Dan Chan e Dominic Barfield. Este estágio extracurricular foi realizado com o propósito de adquirir competências adicionais e contatar com uma realidade diferente no âmbito da medicina de emergência num centro hospitalar de referência, num país distinto. Neste estágio, a estagiária teve oportunidade de fazer a triagem, recolher anamnese e efetuar o exame de estado geral a todos pacientes referenciados para este serviço. Após esta abordagem inicial, a estagiária discutia com o clínico assistente o caso em si e os seus achados no exame físico, diagnósticos diferenciais possíveis e exames de diagnóstico complementar mais adequados.

Em virtude do serviço de emergências e cuidados intensivos se tratar de um serviço multidisciplinar, a estagiária acompanhou e ganhou competências em diferentes especialidades como cardiologia, neurologia e imagiologia.

No decorrer do estágio foi dada oportunidade à estagiária de participar de procedimentos como monitorização de animais em estado crítico; preparação e administração de fluidoterapia e medicamentos variados; cateterização venosa e central; colheita de sangue; abdominocentese, bem como observar e auxiliar nos procedimentos de ressuscitação cardíaca.

3. Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

a) Serviço de Dermatologia

Em virtude do seu especial interesse pela área de Dermatologia, a estagiária teve oportunidade de assistir, durante o mês de Julho de 2014, às consultas de especialidade realizadas pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço, num total de 120 horas neste serviço.

Durante estas consultas de especialidade, a estagiária foi encarregue da recolha da anamnese detalhada, levantamento dos diferentes diagnósticos diferenciais possíveis e escolha, execução e interpretação dos exames diagnósticos mais apropriados. Após esta primeira abordagem, o caso clínico e resultados dos diferentes exames efetuados eram

expostos e debatidos com a médica veterinária responsável, passando a condução da consulta, a partir deste ponto, para as mãos da mesma.

Os exames diagnósticos mais frequentemente observados e realizados pela estagiária incluem citologias cutâneas e auriculares; raspagens cutâneas; tricogramas; provas alergológicas cutâneas; video-otoscopias; biópsias de pele e punções aspirativas com agulha fina de nódulos cutâneos.

No final da consulta, a estagiária participava ainda na elaboração do relatório de consulta com o plano de tratamento a seguir pelos proprietários e esclarecimento de dúvidas adicionais destes.

III. Revisão bibliográfica

2.1. Conceito de dermatite atópica

A DAC é uma doença alérgica da pele, determinada geneticamente, de cariz inflamatório e pruriginoso, com manifestações clínicas características. Está associada a imunoglobulinas E (IgE), mais comumente contra alérgenos ambientais (Halliwell 2006). Trata-se de uma doença dermatológica muito comum, quer no Homem quer em animais de companhia, especialmente na população canina onde constitui a segunda doença alérgica mais comum (Reedy, Miller & Willems, 1997; Olivry *et al.*, 2001a; Marsella & Olivry, 2003), apenas precedida pela dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP). Existem ainda outras doenças de cariz atópico no cão, menos frequentemente diagnosticadas, como a conjuntivite e rinite alérgicas (Olivry *et al.*, 2001a; Griffin & DeBoer, 2001; Dokmeci & Harrick, 2008; Marsella & Girolomoni, 2009; Jackson & Mueller, 2012). O conceito de dermatite atópica canina nem sempre foi linear, tendo sofrido diversas modificações ao longo do tempo. A presunção em MV de que os cães padeceriam de uma doença cutânea de etiologia alérgica, igual ou semelhante à denominada eczema, de MH, surgiu em 1930 através do trabalho de Schnelle (citado por DeBoer, 2014a). Em MH, o conceito de eczema divide-se em eczema atópico e eczema não atópico (Johansson *et al.*, 2004) ou dermatite atópica extrínseca e intrínseca consoante está associada ou não, respetivamente, a um aumento dos níveis séricos de IgE demonstrado por provas alergológicas. As formas intrínseca e extrínseca partilham a mesma sintomatologia cutânea e aparecimento predominante na infância (Novak & Bieber, 2003) sendo a forma extrínseca a mais prevalente (Folster-Holst, Pape, Buss, Christophers & Weichenthal, 2006; Kulthanan, Boochangkool, Tuchinda & Chularojanamontri, 2011; Marsella, 2014). No entanto, admite-se que a forma intrínseca de dermatite atópica humana (DAh) com o decorrer do tempo possa passar a extrínseca, sendo apenas uma fase inicial da doença onde ainda não é possível a deteção de IgE (Jin, He, Oyoshi & Geha, 2009). Em MV, o conceito utilizado equivalente a dermatite atópica intrínseca é o de dermatite de tipo atópico que define-se como uma doença inflamatória e pruriginosa da pele cujas manifestações clínicas são em tudo idênticas às observadas na DAC, conteúdo sem evidência de uma resposta mediada por IgE contra qualquer tipo de alérgenos, ambientais ou outros, como se observa na DAC (Halliwell, 2006). A etiologia por trás desta variante não é ainda conhecida (Jackson & Mueller, 2012) e alguns autores referem uma predisposição da raça *bouledogue* Francês para a dermatite de tipo atópico (Pol & Brazis, 2013).

2.2. Prevalência e incidência da dermatite atópica

Em MH estima-se que a prevalência de DAh se centre em 10 a 20% em crianças (Leung, Boguniewicz, Howell, Nomura & Hamid, 2004; Folster-Holst *et al.*, 2006; Shaw, Currie, Koudelka & Simpson, 2011) e 1 a 3% em adultos (Leung *et al.*, 2004) sendo que 70% das crianças entram em remissão espontânea antes da adolescência (Ricklin, Roosje & Summerfield, 2010). A prevalência tem vindo a aumentar nas últimas décadas em países industrializados, ao passo que permanece baixa em países e áreas predominantemente rurais como a China, Europa do Leste e partes rurais de África (Leung & Bieber, 2003; Leung *et al.*, 2004; Asher *et al.*, 2006; Shaw *et al.*, 2011).

A prevalência e incidência reais da DAC não estão ainda definidas, devido à falta de estudos epidemiológicos em populações de tamanho considerável (Reedy *et al.*, 1997; Hillier & Griffin, 2001; Scott, Miller & Griffin, 2001; Lund, 2011). No entanto, estima-se que se centre entre os 3 e 15%, aumentando para 30% em centros de referência (Scott & Paradis, 1990; Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001). Calcula-se, contudo, que estes valores se encontrem subestimados uma vez que muitos cães com DAC, principalmente quando apresentam sintomatologia ligeira, não são vistos por um veterinário (Scott *et al.*, 2001).

A par com o que se observa em MH, também a incidência da DAC tem vindo aumentar (Hillier & Griffin, 2001; Marsella & Girolomoni, 2009) devido a diversos fatores ambientais (Strachan, 1989). No entanto, os avanços das últimas décadas nos conhecimentos clínicos e diagnóstico veterinários são certamente responsáveis, em parte, por esta tendência (Hillier & Griffin, 2001; Lourenço Martins *et al.*, 2010).

2.3. Fisiopatologia da dermatite atópica

“Uma doença alérgica só se expressa clinicamente em indivíduos que possuam tanto uma predisposição subjacente como fatores potenciadores ativos” (Day, 2014, tradução livre). Desta forma, a DAC tem uma etiologia multifatorial (Nuttall, 2008) que resulta da relação complexa entre três tipos de fatores: ambientais, genéticos e imunológicos (Marsella & Olivry, 2003; Bieber & Novak, 2009; Day, 2014).

Apesar de aceitar-se que a DAC constitui essencialmente uma reação de hipersensibilidade tipo I, ou seja imediata, sabe-se hoje que 4 a 24h após esta reação inicial ocorre uma resposta de fase tardia (Day, 2014), sendo a DAC, na realidade, composta por uma resposta bifásica. Esta é formada por uma reação imediata que se caracteriza pela formação de pápulas eritematosas (Olivry, Dunston, Murphy & Moore, 2001b; Hill, Hillier & Olivry, 2001) e reação de fase tardia caracterizada por infiltração de eosinófilos, macrófagos, linfócitos T_H2 CD4⁺ (Day, 2014) neutrófilos e células dendríticas (CD) na derme (Olivry *et al.*, 2001b). Estudos recorrendo a injeções intradérmicas de alergénios demonstram que esta reação de fase

tardia é histologicamente mais semelhante à forma espontânea da DAc do que a reação imediata (Olivry *et al.*, 2001b; Hill *et al.*, 2001), com a ressalva de que nem sempre a reação imediata é precedida por uma reação tardia (Hill *et al.*, 2001). Hill *et al.* (2001) justificam esta falta de semelhanças entre a reação imediata observada nos testes intradérmicos e o aspeto micro e macroscópico das lesões espontâneas de DAc, com diferenças na via de exposição e concentração alergénica envolvida, ou envolvimento de outras células que não os mastócitos na progressão lesional da doença.

2.3.1. O papel das alterações do sistema imunitário

Pacientes com dermatite atópica (DA) apresentam alterações nas respostas imunitárias inatas e adquiridas e têm predisposição a montar respostas de tipo T_H2 face a exposição a diferentes antigénios com produção predominante de IL-4 e IL-13 (Dokmeci & Harrick, 2008; De Benedetto, Agnihothri, McGirt, Bankova & Beck, 2009; Wollenberg, Rawer & Schaubert, 2011). O sistema imunitário divide-se em sistema imunitário inato (SII) e sistema imunitário adquirido (SIA).

2.3.1.1. Sistema imunitário inato

O SII consiste na primeira linha de defesa, não específica, que se traduz numa resposta imediata e padronizada contra diferentes antigénios e em mecanismos que nascem com o individuo, pelo que, tal como indica o nome, não existe uma aprendizagem dos mesmos. São divididos em componente anatómica, que inclui a barreira cutânea do estrato córneo (EC) e as *tight junctions*, os elementos secretores como os péptidos antimicrobianos (PAM), citoquinas e quimiocinas e, por último, o componente celular residente nomeadamente queratinócitos, CD, células *natural killer*, mastócitos, macrófagos, monócitos e polimorfonucleares neutrófilos (Wollenberg & Klein, 2007; Dokmeci & Harrick, 2008; De Benedetto *et al.*, 2009). O SII reconhece antigénios através de padrões simples – *pattern recognition receptors* (PRR) – que reconhecem padrões moleculares associados a antigénios, desencadeando de seguida uma resposta de ataque com produção de diversas citoquinas, quimiocinas, PAM e recrutamento de células efetoras (Wollenberg & Klein, 2007; De Benedetto *et al.*, 2009; Wollenberg *et al.*, 2011). Um tipo importante de PRR são os *Toll-like receptors* (TLR) (De Benedetto *et al.*, 2009), discutidos adiante em maior pormenor.

2.3.1.1.1. Barreira cutânea

A barreira cutânea é considerada o componente principal do SII e a sua função é assegurada por três componentes essenciais: o EC, as *tight junctions* e a rede de células de Langerhans (CL) (Kubo, Nagao & Amagai, 2012). Uma barreira cutânea intacta é indispensável na prevenção da perda transepidérmica de água (PTEA) e na penetração de

substâncias exógenas (Wollenberg *et al.*, 2011). A barreira cutânea localiza-se no EC, a camada mais superficial da epiderme, e é composta por corneócitos, células resultantes da diferenciação dos queratinócitos e que estão envoltas por um envelope cornificado, cujas proteínas como a filagrina e queratina fornecem estrutura mecânica e proteção contra a entrada de corpos estranhos; e camada lipídica extracelular lamelar (CLEL), que se encontra nos espaços entre os corneócitos e que, por sua vez, é constituída maioritariamente por ceramidas, cuja função passa pela prevenção da PTEA. Alterações a este nível levam a aumento da PTEA e penetração epicutânea acrescida de alérgenos, (Jin *et al.*, 2009; Olivry, 2011; Nishifuji, 2014), desencadeando um processo inflamatório que, por sua vez, exacerba ainda mais as lesões cutâneas já existentes, gerando-se um ciclo vicioso (Kubo *et al.*, 2012).

A PTEA define-se como o “volume de água que passa do interior para o exterior do corpo através da epiderme” (Shimada, Yoon, Yoshihara, Iwasaki & Nishifuji, 2009) e a sua mensuração é utilizada em MH de forma a aferir a existência de alterações na integridade da barreira cutânea. Estudos em MH demonstram que a PTEA, ao contrário do que sucede na DAh, permanece inalterada noutras afeções alérgicas que compõem a marcha atópica e que está diretamente relacionada com a gravidade da doença (Gupta *et al.*, 2008). Em cães, no entanto, a utilidade destas medições para avaliação da permeabilidade cutânea é ainda controversa (Shimada *et al.*, 2008; Nishifuji, 2014). Shimada *et al.* (2008) realizaram medições da PTEA recorrendo a um analisador de câmara fechada, após remoção do EC com fita adesiva, de onde concluíram que a PTEA aumenta nos locais de lesão e remoção do EC. Outro estudo do mesmo autor vai mais longe, demonstrando valores elevados de PTEA tanto na pele lesionada como não lesionada de cães atópicos, em comparação com o grupo de controlo de cães saudáveis. No entanto, relativamente aos níveis de hidratação cutânea, não se verificaram diferenças significativas entre a pele não lesionada de cães atópicos e a pele normal do grupo de controlo, o que sugere que na primeira a permeabilidade se encontra aumentada, mas sem diminuição concomitante da capacitância da água (Shimada *et al.*, 2009), por dissimulação da perda de água devida, por exemplo, à grande densidade de folículos pilosos e às secreções das glândulas anexas da pele (Nishifuji, 2014). Hightower, Marsella & Flynn-Lurie (2009) mediram a PTEA antes e depois da exposição alérgica, num grupo de cães atópicos e outro de cães não atópicos, verificando que, mesmo antes da exposição alérgica, os níveis de PTEA do grupo atópico estavam já alterados em relação ao grupo não atópico, nas zonas corporais que normalmente constituem o padrão lesional característico da DAC. Este aumento foi mais significativo nos animais mais jovens e agravou-se com a exposição alérgica no grupo atópico, sendo que no grupo não atópico esta não teve qualquer efeito nos níveis de PTEA.

Este estudo concluiu assim que a exposição alérgica por si só não aumenta a PTEA nem danifica a barreira cutânea, sendo necessário um processo inflamatório prévio para este efeito. Não obstante a legitimidade destes resultados, os mesmos devem ser analisados com prudência, uma vez que os valores de PTEA são afetados igualmente por outros fatores, como a presença de edema e escoriações na pele inflamada (Nishifuji, 2014) e está demonstrada grande variabilidade de valores entre dias, regiões anatômicas e animais diferentes (Lau-Gillard, Hill, Chesney, Budleigh & Immonen, 2009). Desta forma, a validade das medições de PTEA na avaliação da integridade funcional da barreira cutânea permanece controversa e a sua utilidade na prática clínica comprometida pelas grandes variações biológicas (Lau-Gillard *et al.*, 2009; Olivry, 2011). É, ainda, igualmente controverso se os defeitos observados na barreira cutânea na DA são secundários ao processo inflamatório subjacente - mecanismo “de dentro para fora”- ou se, pelo contrário, constituem fatores primários no desenvolvimento do processo inflamatório característico da DA – mecanismo “de fora para dentro” – sendo este último o que, atualmente, reúne maior consenso em MH (Gupta *et al.*, 2008; Elias & Schmuth, 2009).

Atualmente, em MH as alterações genéticas (De Benedetto *et al.*, 2009) ou não (Howell *et al.*, 2007) na expressão da proteína estrutural filagrina são consideradas as mais importantes na etiopatogenia da DAh. A ausência ou redução desta proteína altera a permeabilidade cutânea levando ao aumento da PTEA (Elias & Schmuth, 2009). Estudos recentes em MV sugerem o mesmo envolvimento desta proteína estrutural na fisiopatologia da DAc (Santoro, Marsella, Ahrens, Graves & Bunick, 2013).

2.3.1.1.2. Células dendríticas

As CD são uma família de células bem caracterizada morfológica e funcionalmente que constituem as células apresentadoras de antígenos mais eficientes. Localizam-se nas interfaces orgânicas como as mucosas e a pele e são essenciais para o desenvolvimento de uma resposta imunitária adquirida primária e secundária (Novak & Bieber, 2005; Wollenberg & Klein, 2007; Dokmeci & Harrick, 2008; Wollenberg *et al.*, 2011). Há dois tipos principais de CD presentes na epiderme e derme: CL e células dendríticas intersticiais, respetivamente (Jin *et al.*, 2009). Outros autores salientam ainda a existência de células dendríticas epidérmicas inflamatórias (CDEI) na epiderme com importância na DAh, já que, tal como as CL, expressam recetores de alta afinidade, FcεRI, para a IgE (Wollenberg & Klein, 2007; Dokmeci & Harrick, 2008; Wollenberg *et al.*, 2011). As CDEI localizam-se apenas em locais de inflamação e produzem grandes quantidades de citocinas e quimiocinas, atuando como amplificadoras da resposta inflamatória, uma vez que possuem uma capacidade estimuladora das células T acrescida (Novak & Bieber, 2005). Estes dois tipos de CD distinguem-se pela presença, nas CL, de um marcador denominado grânulos de Birbeck em

forma de raquete (Novak & Bieber, 2005). De forma muito sucinta, as CL formam uma rede na epiderme onde capturam os alérgenos que atravessam a barreira cutânea, processando-os e apresentando-os de seguida aos linfócitos T (Dokmeci & Harrick, 2008; Jin *et al.*, 2009; Marsella, 2014). O reconhecimento dos alérgenos pelas CD dá-se de forma específica se o alérgeno possuir à sua superfície PAMP (*pathogen-associated molecular pattern*) que interage com os recetores presentes na superfície das CD - PRR ou TLR (Day, 2014). Após o contacto inicial, as CL capturam o antígeno e migram da epiderme para o linfonodo regional, através dos vasos linfáticos, onde ocorre posteriormente a diferenciação dos linfócitos T em T *helper* (T_H) (Leung & Bieber, 2003; Dokmeci & Harrick, 2008; Kubo *et al.*, 2012; Day, 2014). Mais especificamente, as CL dirigem-se ao paracórtex do linfonodo regional, onde fazem a apresentação do péptido alérgico no contexto de moléculas MHC II, isto é: concomitantemente à migração, as CL realizam o processamento dos antígenos na câmara lisossomal existente no seu citoplasma, degradando enzimaticamente o alérgeno em fragmentos peptídicos de pequeno tamanho, incorporando de seguida estes péptidos na região de ligação a antígenos de uma molécula MHCII. Posteriormente, os recetores das células T_{H0} reconhecem o conjunto constituído pelo péptido antigénico e MHC e as CL estimulam o desvio e ativação das células T_{H2}, que seguidamente estimulam a produção de células B alérgeno-específicas, as quais, após ativação, se diferenciam em plasmócitos que por sua vez produzirão anticorpos IgG ou IgE alérgeno-específicos. Estes entram em circulação e vão ligar-se aos recetores Fcε dos basófilos circulantes e, mais importante, dos mastócitos presentes nos tecidos (Day, 2014). Outro cenário é a apresentação dos antígenos localmente às células T transientes, pelas CL, que desencadeiam uma resposta imunitária celular secundária (Novak & Bieber, 2005). Antígenos que atingem o espaço intersticial são capturados pelas CD intersticiais presentes na derme. Quando se dá o contacto inicial entre o linfócito e o antígeno ou quando há lesão mecânica associada à libertação de mediadores como IL-1 ou fator de necrose tumoral-α (TNF-α) (Jin *et al.*, 2009), há quimiotaxia das CD imaturas para a epiderme, onde adquirem o fenótipo de células apresentadoras de antígenos funcionais, estimulando e mantendo o processo inflamatório (Jin *et al.*, 2009; Marsella, 2014).

As CD medeiam ainda a diferenciação dos linfócitos T nos diferentes tipos de linfócitos T_H (Wollenberg & Klein, 2007; Dokmeci & Harrick, 2008; Jin *et al.*, 2009). A interação entre as CD ligadas ao antígeno e as células T leva a proliferação e diferenciação destas em linfócitos T_{H1} que secretam interferão gama (IFN-γ), predominantemente envolvidos em respostas imunitárias de tipo celular; T_{H2} secretores de IL-4, IL-5 e IL-13, predominantes em respostas imunitárias de tipo humoral; ou T_{H17} secretores de IL-17 e IL-22 (Dokmeci & Harrick, 2008; Jin *et al.*, 2009).

Está ainda descrito um terceiro tipo de CD: as CD plasmocitóides cuja função consiste na proteção contra infecções virais pela produção de IFN- α e IFN- β . No entanto, comparativamente às IDEC, estas estão presentes em quantidade pouco significativa nas lesões de DAh (Novak & Bieber, 2005; Dokmeci & Harrick, 2008). Novak & Bieber (2005) demonstraram também que as CD plasmocitóides expressam, igualmente, recetores Fc como o Fc ϵ RI.

Além do seu papel fulcral na produção e amplificação de uma resposta imunitária eficaz, as CD têm ainda a função de manter uma tolerância periférica a antígenos inócuos, estando esta sua função associada à origem das células T reguladoras (T_{REG}) (Akdis, Blaser & Akdis, 2005; Palomares *et al.*, 2010).

2.3.1.2. Sistema imunitário adquirido

O SIA consiste numa resposta retardada, específica contra determinado antígeno e de reação amplificada após exposições repetidas. As respostas adquiridas podem ser de tipo mediado por células, através de recetores nas células T específicos para o antígeno em causa, ou de tipo humoral através do recrutamento de imunoglobulinas (De Benedetto *et al.*, 2009). Este tipo de mecanismo, ao contrário do que ocorre no SII, é capaz de reconhecer antígenos através de proteínas específicas e não apenas padrões simples (Wollenberg & Klein, 2007; De Benedetto *et al.*, 2009; Wollenberg *et al.*, 2011). Estes dois tipos de resposta imunitária, apesar de distintos, estão ligados entre si por diversos processos imunobiológicos (Wollenberg & Klein, 2007; Wollenberg *et al.*, 2011) sendo que o SII modula a magnitude da resposta do SIA (De Benedetto *et al.*, 2009).

2.3.1.2.1. O papel da imunoglobulina E

Anticorpos do isotipo IgE constituem reguladores essenciais da defesa do hospedeiro contra infecções parasitárias, tendo nas últimas três décadas ganho distinção como mediadores centrais nas reações alérgicas (Tizard, 2000; Novak & Bieber, 2003; Altin, Shen & Liston, 2010; Platzer, Rüter, Mee & Fiebiger, 2011). A IgE canina foi identificada pela primeira vez, isolada e caracterizada, em 1970. O cão foi a primeira espécie na qual se demonstrou a associação direta entre esta imunoglobulina e os mastócitos presentes na pele (Halliwell, 2009). Acreditava-se na altura que alterações no sistema imunitário conduziam a uma produção aberrante de IgE alérgico-específica e de IgE ligada aos mastócitos da pele e que, ao estabelecer-se nova exposição alérgica, estes responderiam libertando mediadores vasoativos como a histamina, culminando assim na sintomatologia clínica da doença (DeBoer, 2004). Atualmente, a fisiopatologia da DA é percebida como um complexo processo multifatorial e a importância e o papel efetivo da IgE têm sido alvo de controvérsia, devido a evidências de que a quantificação de IgE total e IgE alérgico-específica no soro

não se relaciona diretamente com a expressão clínica da doença, como acontece com a forma intrínseca ou dermatite de tipo atópico, já descritas anteriormente (Halliwell & DeBoer, 2001; Novak & Bieber, 2003; Marsella & Olivry, 2003; DeBoer, 2004). Os critérios ideais para a IgE se estabelecer definitivamente como o pivô principal da etiopatogenia da DAC passariam pela evidência de IgE alérgeno-específica demonstrada por testes serológicos ou intradérmicos positivos em todos os casos de DA, ausência desta evidência em cães não atópicos, diminuição ou mesmo ausência de IgE alérgeno-específica em cães hipossensibilizados e indução da doença através da exposição alérgica (Halliwell & DeBoer, 2001). Até à data estes critérios continuam por observar e é atualmente aceite que a mera presença de IgE alérgeno-específica não é suficiente para produzir sinais clínicos de DAC. As hipóteses que justificam este facto prendem-se com uma heterogeneidade funcional da molécula de IgE e/ou do recetor de alta afinidade (Halliwell, Gilbert & Lian, 1998) ou diferenças de predisposição entre cães atópicos e cães saudáveis na libertação de mediadores inflamatórios (Halliwell & DeBoer, 2001; Hammerberg, 2014).

O argumento mais forte a favor do papel crucial da IgE na patogénese de doenças alérgicas surge no sucesso do tratamento da asma e rinite alérgicas em MH com o anticorpo bloqueador monoclonal, especificamente dirigido à IgE, e aprovado em 2003 pela *Federal Drug Agency* (E.U.A): Omalizumab (de nome comercial Xolair® da Novartis). Esta substância ativa diminui os níveis circulantes de IgE, independentemente da especificidade alérgica, ao ligar-se à região constante da molécula de IgE circulante, o que evita a interação entre a IgE livre e os recetores de alta e baixa afinidade para a IgE (FcεRI e FcεRII) presentes em várias células do sistema imunitário como mastócitos, basófilos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos B entre outras (Kopp, 2011). Kopp conclui que devido ao mecanismo de ação do omalizumab, este revela-se igualmente bastante promissor no controlo de outras doenças alérgicas como por exemplo a DAh.

2.3.1.2.1.1. Interação da IgE com os constituintes do sistema imunitário e células inflamatórias.

O anticorpo IgE é composto por 2 cadeias pesadas e 2 cadeias leves, idênticas entre si. Estas cadeias formam o domínio variável de ligação e o domínio constante Fc, através do qual a molécula de IgE se liga aos recetores celulares (Tizard, 2000; Bieber & Novak, 2003). Subsequente ao contacto com a maioria dos antigénios produz-se, na maioria dos casos, uma resposta imunitária humoral com produção de imunoglobulina G (IgG) em vez de IgE. A classe de linfócitos T *helper* predominante está associada à libertação de diferentes citocinas e conseqüentemente determina o tipo de anticorpos produzidos (DeBoer, 2004). A IgE atua através da interação com diferentes recetores celulares de células inflamatórias e

constituintes do sistema imunitário, sendo os seus efeitos, benignos e malignos, o resultado destas interações. As células, após ligação dos seus recetores à IgE, respondem libertando mediadores inflamatórios e citocinas com diferentes ações (Gould & Sutton, 2008). Os recetores responsáveis pela interação entre a IgE e as células efetoras podem ser solúveis ou membranares. Os principais são o recetor de alta afinidade Fc ϵ RI, o recetor de baixa afinidade CD23 ou Fc ϵ RII e ainda galectin-3 (Platzer *et al.*, 2011). A ligação entre a IgE e o recetor Fc ϵ RI é essencial na libertação de citocinas e mediadores inflamatórios pelos mastócitos e basófilos e ainda na função das CD, uma vez que a presença do complexo formado entre a IgE e CL está relacionado com a presença das lesões cutâneas na DAh (Novak & Bieber, 2005; Ricklin *et al.*, 2010). Quer no Homem, quer em cães atópicos, é possível encontrar IgE à superfície das CL e suspeita-se que esta tenha um papel fulcral na captura de alérgenos e posterior apresentação (Olivry, Moore & Affolter, 1996; Halliwell & DeBoer, 2001; Wollenberg & Klein, 2007), induzindo e perpetuando uma resposta imunitária exacerbada.

Estes recetores constituem parte dos mecanismos de regulação da produção de IgE, pelo que representam potenciais moduladores *in vivo* das reações alérgicas (Platzer *et al.*, 2011). De possível importância clínica é a recente descoberta em MH da forma solúvel do Fc ϵ RI (sFc ϵ RI), que pode ser encontrada no soro humano tanto na forma livre como ligada à IgE e cuja ativação celular induzida pela IgE leva à libertação *in vitro* de sFc ϵ RI que, por sua vez, tem o poder de inibir a ligação entre a IgE e o recetor Fc ϵ RI na superfície celular (Dehlink *et al.*, 2011). Desta forma, o sFc ϵ RI pode reduzir a sensibilidade de testes comerciais que quantifiquem os níveis de IgE utilizando metodologias baseadas na deteção de Fc ϵ RI ou anticorpos dirigidos especificamente contra os epitopos Fc ϵ RI (Hammerberg, 2014).

2.3.1.2.2. Células T

As células T são as principais células efetoras envolvidas na resposta imunitária adquirida e assumem um papel preponderante na etiopatogenia das doenças alérgicas e, logo, da DA (Dokmeci & Harrick, 2008).

Em resposta à ativação antigénica, as células T_{H1} e T_{H2} produzem grandes quantidades de citocinas. As células T CD8⁺ têm como função o reconhecimento de antígenos membranares e destruição por apoptose de células invadidas por vírus e células cancerígenas. As células T CD4⁺ têm um papel ativo, quer na resposta celular, quer na resposta humoral, uma vez que se ligam aos epitopos antigénicos presentes na superfície das células MHCII. Em MH, pacientes com DAh têm um rácio maior de células T CD4⁺ para T CD8⁺ na epiderme do que indivíduos não atópicos (Halliwell & DeBoer, 2001).

Se há ativação dos linfócitos T_{H1}, a resposta mais comum, há libertação de INF- γ e IL-2 que promovem a produção de IgG e conduzem a uma resposta imunitária celular contra

antígenos intracelulares (Olivry, Dean, Tompkins, Dow & Moore, 1999; Jutel *et al.*, 2003; DeBoer, 2004). O INF- γ inibe a síntese de IgE, a proliferação de células T_{H2} e a expressão do receptor da IL-4 nas células T (Leung & Bieber, 2003). Por outro lado, se há ativação dos linfócitos T_{H2} ocorre libertação de IL-4, IL-5, IL-13 e outras citocinas perpetuantes da reação alérgica, as quais, por sua vez recrutam eosinófilos levando à produção de IgE em vez de IgG, culminando assim numa resposta de tipo humoral. Mais especificamente, a IL-5 induz a formação, ativação e quimiotaxia de eosinófilos enquanto que IL-4 e IL-13 têm o potencial de induzir o *switch* de classe de Ig, de IgG para IgE (Leung & Bieber, 2003; Jutel *et al.*, 2003; Dokmeci & Harrick, 2008). A resposta de tipo T_{H2} ocorre principalmente na fase aguda da inflamação cutânea, potenciando uma resposta imunitária de tipo humoral com produção de anticorpos, caracterizada por infiltração de células T CD4+ e eosinófilos na derme, com deposição dos produtos eosinofílicos e expressão das citocinas típicas T_{H2}, enquanto que a resposta T_{H1} predomina na fase crónica da doença, com interferência de IFN- γ e remodelação tecidual com deposição de colagénio e hipertrofia da derme (Reedy *et al.*, 1997; Marsella & Olivry, 2003; Dokmeci & Harrick, 2008; Jin *et al.*, 2009). Os fatores que determinam a ativação de resposta de tipo T_{H1} ou T_{H2} podem ser genéticos ou ambientais (DeBoer, 2004; Leung *et al.*, 2004).

2.3.1.2.2.1. Células T reguladoras

As células T reguladoras assumem a função fulcral de induzir e manter tolerância imunológica contra alérgenos, auto-antígenos ou aloantígenos, como foi já demonstrado em modelos murinos, tendo sido utilizadas na cura de várias doenças mediadas por células T, como doenças de cariz alérgico, doenças autoimunes e rejeição de aloenxertos (Akdis & Akdis, 2009).

As células T_{REG} espontâneas caracterizam-se pela produção de IL-10 e expressam o fator de transcrição Foxp3. Existem diferentes subtipos destas células; no entanto, os linfócitos T_{REG} CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ são os únicos de origem espontânea no organismo. Os outros subtipos, como por exemplo os linfócitos T_{R1}, só ocorrem se a sua produção for estimulada (Akdis, Blaser & Akdis, 2005; Akdis & Akdis, 2009). Num indivíduo saudável, as T_{REG} controlam ativações inapropriadas das células T alérgeno-específicas, uma vez que a sua função consiste na prevenção de reações alérgicas e autoimunes aberrantes (Day, 2014). O aumento nas concentrações de IL-10 e TGF- β , produzidos pelas T_{REG}, tem como consequência a supressão da produção de IgE bem como o desvio para a produção de anticorpos não inflamatórios como IgG4 e IgA (Jutel *et al.*, 2003; Akdis *et al.*, 2005; Palomares *et al.*, 2010).

Tanto indivíduos alérgicos como saudáveis produzem células T alérgeno-específicas de subtipo T_{H1}, T_{H2} ou T_{R1}; é o rácio entre células T_{R1} e células T_{H2} que determina o

desenvolvimento de uma resposta imunitária saudável (predomínio T_{R1}) ou alérgica (predomínio T_{H2}) (Akdis *et al.*, 2005; Palomares *et al.*, 2010).

Desta forma, as células T_{REG} têm sido alvo de grande interesse no desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visam induzir tolerância alérgica (Akdis & Akdis, 2009), daí a sua grande importância na ITAE. No entanto, as T_{REG} podem também ter efeitos deletérios no organismo, dado que está demonstrada a sua capacidade de induzir tolerância antigénica face a processos tumorais e infecciosos, levando à sua cronicidade (Akdis *et al.*, 2005; Akdis & Akdis, 2009; Palomares *et al.*, 2010).

2.3.2. O papel dos fatores ambientais

Em MH constatam-se grandes variações relativas à prevalência da DA em países com grupos populacionais geneticamente semelhantes, o que reforça o papel fundamental dos fatores ambientais na fisiopatologia da doença (Leung *et al.*, 2004; Asher *et al.*, 2006). Os fatores implicados variam entre diferentes locais e faixas etárias e relacionam-se com aspetos dietéticos, estatuto económico, variações climáticas, consciencialização da doença, exposição microbiana, ambiente interior ou exterior, entre outros (Asher *et al.*, 2006).

2.3.2.1. O papel dos alérgenos ambientais

A DAc define-se como uma dermatite pruriginosa causada por uma reação alérgica a alérgenos ambientais - aeroalérgenos. Estes alérgenos incluem ácaros do pó e de armazenamento; pólenes de ervas daninhas, gramíneas e árvores; esporos de fungos; epitélio e insetos como baratas (Hill & DeBoer, 2001; Prélaud, 2014). Os alérgenos mais importantes clinicamente no diagnóstico e tratamento da DAc variam geograficamente, mas é consensual a predominância dos ácaros do pó e, mais especificamente, do *Dermatophagoides farinae* (Df) (Pol & Brazis, 2007; Chanthick, Anaman & Buathet, 2008; Kim, Kang & Park, 2011; Lourenço-Martins, 2011).

Os ácaros alimentam-se de substratos ricos em proteínas, como produtos de descamação celular e fungos. A maioria destes parasitas apresenta atividade enzimática e/ou tem a capacidade de interferir com a resposta imunitária inata através dos TLR (*toll like receptors*). O género *Dermatophagoides* é o mais representativo deste grupo e encontra-se em locais onde abundam produtos queratinizados como epitélio celular, pelos, unhas ou penas, nomeadamente colchões, tapetes, almofadas, sofás e camas (Pol & Brazis, 2007; Prélaud, 2014). Dois dias de descamação celular de um ser humano ou cão conseguem alimentar milhares de ácaros durante três meses (Prélaud, 2014).

Os ácaros de armazenamento mais comumente implicados em processos alérgicos em pessoas e animais são *Acarus siro*, *Glycyphagus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae* e *Lepidoglyphus destructor*; encontram-se mais frequentemente em locais de armazenamento

de feno, cereais, legumes ou lotes de ração seca e a sua fonte nutricional principal são os fungos (Pol & Brazis, 2007; Prélaud, 2014). Cães atópicos têm mais frequentemente hipersensibilidade face a ácaros de armazenamento do que as pessoas, mas sensibilização apenas a este tipo de ácaros é rara (Prélaud, 2014), uma vez que estão descritas reações cruzadas entre *D. farinae*, *A. Siro* e *T. putrescentiae* e entre *D. pteronyssinus* e *L. destructor* (Saridomichelakis *et al.*, 2008).

Relativamente aos pólenes, existe uma discrepância entre os que sensitizam cães e o Homem. Isto pode dever-se ao facto dos cães viverem mais perto do solo, onde estes alergénios abundam (Prélaud, 2014). As plantas mais comumente envolvidas são as que originam pólenes de pequeno tamanho, transportados pelo vento (Mueller, Bettenay & Tideman, 2000; Pol & Brazis, 2007). Os pólenes distribuem-se por três famílias, com épocas de polinização diferentes, nomeadamente árvores, gramíneas e ervas. Os pólenes mais frequentemente envolvidos no processo alérgico, na maioria dos países, são os pólenes de gramíneas, sendo os que permanecem mais tempo no ambiente (Pol & Brazis, 2007). Tal como acontece com os ácaros, estão também descritas reações cruzadas entre as diferentes espécies polínicas (Buckley, Schmidt, McEwan & Nuttal, 2013).

O papel dos esporos dos fungos como iniciadores do processo alérgico na DAC é ainda controverso, devido ao grande número de falsas reações positivas que se tem verificado quer *in vivo* quer *in vitro* (Prélaud, 2014). Está descrita também uma falta de eficácia da imunoterapia quando esta inclui alergénios de fungos na sua formulação, possivelmente devido a deterioração dos extratos de outras famílias (Mueller *et al.*, 2000). Existem inúmeros estudos que pretendem aferir quais os alergénios decisivos na fisiopatologia da DAC; no entanto, muitos, senão a maioria, estão comprometidos por uma falta de homogeneidade e padronização das técnicas e extratos alergénicos utilizados, bem como pela presença de reações de falso positivo e falso negativo nos testes alérgicos (Hill & DeBoer, 2001). Alergénios maiores são aqueles reconhecidos por mais de 50% de doentes atópicos, enquanto que alergénios menores são reconhecidos por menos de 50% (Berrens, 1994). Até ao momento existem apenas três alergénios maiores definidos no cão, derivados do Df- Der f 15 e Der f 18 - e do pólen das árvores ciprestes Japonesas –Zen 1. (Nuttal *et al.*, 2006). Os alergénios maiores dos ácaros são proteínas de alto peso molecular (Pol & Brazis, 2007; Prélaud, 2014) e encontram-se no corpo e fezes dos ácaros (Pol & Brazis, 2007). Existem grandes variações relativas a estes alergénios entre cães e pessoas sendo que, ao contrário dos cães, no Homem os alergénios maiores são de baixo peso molecular. O principal alergénio maior no Homem, o Der f 1, praticamente nunca é reconhecido pelos cães sensibilizados para Df (McCall *et al.*, 2001; Nuttal *et al.*, 2006).

2.3.2.1.1. Via de estimulação alérgica

Sabe-se hoje que a principal via de sensibilização para a maioria dos aeroalergénios na DA é, muito provavelmente, a epicutânea (Marsella, Sousa, Gonzales & Fadok, 2012; Kubo *et al.*, 2012); isto é, os alergénios ambientais são transferidos diretamente através do EC e contactam com as CD na epiderme, iniciando deste modo o processo inflamatório cutâneo (Olivry & Hill, 2001). De facto, as áreas corporais mais afetadas na DAc – face, extremidades dos membros, regiões flexoras e extensoras - constituem locais de maior contacto com os alergénios ambientais (Reedy *et al.*, 1997), o que suporta a importância da via de contacto epicutânea. No entanto, durante décadas acreditou-se que a principal via de estimulação alérgica seria a inalatória, de onde surge a denominação de dermatite alérgica inalatória, previamente atribuída à DAc. Acreditava-se assim que os alergénios seriam inalados, penetrando o trato respiratório e migrando, de seguida, através da circulação, até à pele onde estimulavam os mastócitos da derme. Esta teoria perdeu força ao tornar-se evidente que cães com a forma espontânea de DAc muito raramente manifestam sintomas do foro respiratório (Olivry & Hill, 2001), como seria de esperar se esta fosse de facto a via de estimulação alérgica predominante. No entanto, até à data, não pode excluir-se a implicação de outras vias de contacto alérgico como a oral, inalatória e contacto direto (Chanthick *et al.*, 2008).

2.3.2.2. O papel dos agentes infecciosos

2.3.2.2.1. Agentes bacterianos

O crescente reconhecimento do papel fulcral dos fatores ambientais na etiopatogénese da DAh, bem como a evidência do aumento da sua prevalência em países industrializados, levou à associação entre a DAh e a diminuição da exposição aos microrganismos e seus produtos o que, pensa-se, levaria a um desequilíbrio da relação $T_H1:T_H2$ (Lloyd, 2014). Esta é a base da “hipótese da higiene” formulada por Strachan em 1989 (Flohr, Pascoe & Williams, 2005). Esta hipótese postula o carácter protetor das infeções bacterianas e virais na infância contra o desenvolvimento de doenças alérgicas. Os microrganismos seriam transmitidos através do contacto com irmãos mais velhos e re-infeções consecutivas dos irmãos mais novos consistiriam fator adicional de proteção (Strachan, 1989). Strachan atribuiu assim o aumento na prevalência da DAh à progressiva redução no número dos agregados familiares, maior cuidado e preocupação com a higiene, quer individual quer da casa, o que levou à diminuição das infeções cruzadas no ambiente familiar. Estudos mais recentes atestam o postulado de Strachan de que quanto maior o número de irmãos, maior a proteção contra a DA (Flohr *et al.*, 2005; Meury *et al.*, 2011). No entanto, não evidenciam que a causa para este fenómeno resida nas infeções cruzadas entre irmãos. Pelo contrário,

algumas infeções na infância podem atuar como fatores potenciadores da DAh e não conferem qualquer tipo de proteção contra esta (Flohr *et al.*, 2005). Em MV, estudos suportam, em parte, a teoria da higiene, confirmando uma relação inversa entre a exposição a endotoxinas e a DAc, sugerindo que cargas elevadas de endotoxinas bacterianas dentro de casa assumem um carácter protetor face ao desenvolvimento de DAc (van Beeck, Hoekstra, Brunekreef & Willemse, 2010). De facto, as reações alérgicas caracterizam-se por uma resposta imunitária T_H2 , enquanto que as infeções induzem respostas T_H1 , que antagonizam as primeiras. Indivíduos que sofram um número reduzido de infeções ou não tenham sido expostos a sinais polarizadores de resposta T_H1 , como por exemplo endotoxinas, durante a infância, podem ser tendencialmente mais predispostos a respostas T_H2 características das reações alérgicas (Romagnani, 2000; Leung & Bieber, 2003; Kabashima, 2013). Posteriormente, surgiu uma nova teoria: o “mecanismo dos velhos amigos”. Os “velhos amigos” constituem microrganismos inócuos – lactobacilos, micobactérias saprófitas e alguns helmintes - que acompanharam a nossa história evolutiva e são, por isso, reconhecidos pelo sistema imunitário inato, não despoletando reações imunitárias de ataque mas sim de imunorregulação, mediadas parcialmente pela libertação de IL-10 e TGF- β . A desregulação imunitária que ocorre quando um individuo tem falta de um ou mais ‘velhos amigos’ está também relacionada com aspetos genéticos e imunitários do próprio (Rook & Brunet, 2005).

Pacientes atópicos, tanto humanos como canídeos, frequentemente exibem piodermites concomitantes por *Staphylococcus spp.*, bem como otites externas (Hillier, 2002b; Favrot, Steffan, Seewald & Picco, 2010). Num paciente atópico, as bactérias têm a capacidade de tirar partido das alterações na barreira cutânea, de forma a persistirem e proliferarem na pele, gerando assim um ciclo vicioso no qual a atividade bacteriana agrava a já degradada barreira cutânea, o que por sua vez promove a invasão, adesão e proliferação bacteriana, culminando mais frequentemente em piodermites superficiais, mas por vezes também, em profundas. As bactérias mais frequentemente associadas a este processo são *Staphylococcus aureus* no Homem e *S. pseudointermedius* no cão (DeBoer & Marsella, 2001; Wollenberg & Klein, 2007; Wollenberg *et al.*, 2011; Lloyd, 2014). As piodermites atuam como um fator perpetuante da doença, agravando significativamente o prurido associado a esta (Hillier, 2002b). O tratamento antibiótico destes agentes num doente atópico leva a muitas vezes a uma redução drástica dos sinais de DA, o que leva à convicção partilhada por diversos clínicos de que a DAc pode manifestar-se exclusivamente pela ocorrência de piodermites recorrentes e cuja antibioterapia leva ao controlo do prurido e lesões cutâneas (Scott *et al.*, 2001). Nestes casos, por vezes há uma diminuição da recorrência das

piodermites quando se recorre a tratamento com imunoterapia alérgico-específica (DeBoer & Marsella, 2001).

2.3.2.2. Agentes fúngicos

Tal como acontece com os agentes bacterianos, também pessoas e canídeos atópicos são frequentemente afetados por infeções concomitantes por *Malassezia spp.*, que contribuem para o agravamento dos sinais clínicos da doença (DeBoer & Marsella, 2001; Hillier, 2002b; Favrot *et al.*, 2010; Lund, 2011). Ao contrário do que ocorre no Homem, a *Malassezia spp.* faz parte da microbiota cutânea normal do cão, nomeadamente a espécie *Malassezia pachydermatis* (Bond, 2014). Estudos demonstram que cães atópicos têm maiores populações cutâneas de *M. pachydermatis* do que cães saudáveis, principalmente nos espaços interdigitais e pavilhões auriculares (Nardoni, Dini, Taccini & Mancianti, 2007). A colonização cutânea por *Malassezia spp.* em doentes atópicos pode exacerbar a sintomatologia da doença, através do agravamento do processo inflamatório em curso, por mecanismos não específicos como alterações na libertação de mediadores inflamatórios ou recções de hipersensibilidade alérgico-específicas (DeBoer & Marsella, 2001).

2.3.3. O papel da genética

Aceita-se atualmente que, além dos fatores imunológicos e ambientais associados, a heritabilidade genética da DAC é um fator preponderante. De facto, um estudo realizado, utilizando cães guia predominantemente das raças Labrador e Golden Retriever, estimou a heritabilidade genética para a DAC em 0.47 (+/- 0.17), contribuindo com cerca de 50% para o risco de desenvolver a doença (Shaw, Wood, Freeman, Littlewood & Hannant, 2004). A predisposição rásica que se verifica em algumas raças, como por exemplo o WHWT (Jaeger *et al.*, 2010), é também um forte argumento a favor do papel fulcral da heritabilidade genética, estando identificado um possível *locus* para a DAC no genoma desta raça (Roque *et al.*, 2012). Apesar do grande corpo de evidência dedicado a este tema nas últimas décadas, principalmente em MH, os mecanismos genéticos envolvidos na fisiopatologia da DA não estão ainda totalmente elucidados. Sabe-se, no entanto, que a predisposição genética para o desenvolvimento de DAC e a sua interação com o ambiente varia entre raças e *pools* genéticos geográficos (Nuttal, 2014).

Diversos trabalhos experimentais põem em evidência a existência de vários genes implicados na fisiopatologia da DAC, interagindo entre si de forma complexa (Wood *et al.*, 2009; Nuttal, 2014).

As alterações genéticas mais amplamente estudadas até ao momento centram-se nos defeitos subjacentes da barreira cutânea na DAh (Gupta *et al.*, 2008; O'Regan, Sandilands, McLean & Irvine, 2008; DeBenedetto *et al.*, 2009), estando identificadas duas mutações

deletérias de função no gene que codifica as filagrinas epidérmicas (Piekutowska, Pin, Rème, Gatto & Haftek, 2008; Wollenberg *et al.*, 2011). No entanto, nem todos os pacientes com DAh possuem as mutações no gene codificador da filagrina e nem todas as pessoas portadoras destas mutações desenvolvem DAh (Kubo *et al.*, 2012), pelo que alterações noutros genes associados à formação do EC podem estar envolvidas (Sasaki *et al.*, 2013). Estudos recentes em MV sugerem também o envolvimento da filagrina na fisiopatologia da DAc (Santoro *et al.*, 2013).

O possível papel da componente genética na regulação e função da IgE é também defendido por alguns autores (Roque *et al.*, 2011; Lauber *et al.*, 2012), estando identificado um *locus* envolvido na resposta da IgE a determinados ácaros, nomeadamente *A. Siru* e *T. putrescentiae*, em cães de raça Retriever do Labrador (Owczarek-Lipska *et al.*, 2012).

2.4. Diagnóstico da dermatite atópica canina

2.4.1. Diagnóstico clínico

2.4.1.1. Anamnese

Uma anamnese correta e exaustiva é a parte mais importante do processo diagnóstico da DA (Nesbitt & Ackerman, 1998), sendo, em conjunto com a sintomatologia clínica e exclusão de diagnósticos diferenciais, considerada o verdadeiro *gold standard* no seu diagnóstico (Rosser, 2004; Olivry *et al.*, 2010b). Assim, na primeira consulta, deve ser feito um questionário ao proprietário do animal (Hillier, 2002b) onde se aferem informações importantes sobre o animal em si, raça, idade, género; sobre o historial da doença – início, duração e evolução dos sinais clínicos, se estes são ou não sazonais; se já fez algum tratamento e, se sim, qual e qual a resposta do animal; e o ambiente do animal – se vive dentro ou fora de casa, em ambiente urbano ou rural, se contacta com outros animais, tipo de dieta, local onde dorme, entre outros.

Os primeiros sinais de DAc podem surgir entre os 4 meses e os 7 anos de idade, sendo que a grande maioria dos cães manifestam-nos pela primeira vez entre os 6 meses e os 3 anos (Griffin & DeBoer, 2001; Zur, Ihrke, White & Kass, 2002; Olivry *et al.*, 2010a; Favrot *et al.*, 2010).

Para avaliar a predisposição rácica face a determinada doença é imperativo ter em conta a população canina da área, bem como a proporção de cada raça na mesma (Reedy *et al.*, 1997; Sousa & Marsella, 2001; Picco *et al.*, 2008; Jaeger *et al.*, 2010), para que os resultados não sejam falseados devido à popularidade de algumas raças em diferentes espaços temporais e geográficos. A DAc pode manifestar-se em qualquer raça (Reedy *et al.*, 1997), mas verifica-se uma predisposição de certos grupos: Retriever do Labrador, Pastor

Alemão, Golden retriever e Cocker spaniel (Zur *et al.*, 2002; Jaeger *et al.*, 2010). Também uma raça autóctone portuguesa está identificada como predisposta para a DAC: o cão da Serra da Estrela (Lourenço-Martins, 2011).

Diferentes autores dividem-se entre a existência de uma predisposição do género feminino para o desenvolvimento de DAC (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001; Lund, 2011; Lourenço-Martins, 2011) enquanto outros não reconhecem a existência de qualquer predisposição de género (Masuda *et al.*, 2000; Zur *et al.*, 2002; Nodtvedt *et al.*, 2007; Favrot *et al.*, 2010; Olivry *et al.*, 2010b).

Cães atópicos que apresentam um agravamento dos sinais clínicos durante períodos definidos do ano consideram-se portadores de sintomatologia sazonal de DAC (Reedy *et al.*, 1997; Nesbitt & Ackerman, 1998). Dados mais recentes apontam para valores de 62% e 38% relativos a animais com sintomatologia sazonal face àqueles com sintomatologia independente da estação, respetivamente (Zur *et al.*, 2002); concluindo também que os animais com sintomatologia não sazonal apresentam sinais clínicos mais graves e maior predisposição ao desenvolvimento de infeções cutâneas e auriculares, relação também por suportada por outros autores (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001).

O habitat e ambiente que rodeia o animal constituem também um fator predisponente e perpetuante da doença. De facto, estudos demonstram que certos padrões ambientais, como o estilo de vida primordialmente de interior (Favrot *et al.*, 2010), habitar num meio urbano e dormir na cama dos donos (Lourenço-Martins, 2011), aumentam a propensão para o desenvolvimento de DAC.

2.4.1.2. Sinais clínicos

Os sinais clínicos da DA variam bastante entre indivíduos e, apesar de alguns serem muito sugestivos, não existem sinais patognomónicos que permitam o diagnóstico final da doença. O prurido é o sinal mais consistente da doença (Griffin & DeBoer, 2001; Hillier, 2002b). No entanto, inicialmente este pode passar despercebido ao proprietário, pois frequentemente não se faz acompanhar de lesões cutâneas – prurido *sine materia* (Favrot *et al.*, 2010; Favrot, 2014; Griffin, 2014). Otites externas representam também, muitas vezes, o primeiro sinal de DAC (Griffin & DeBoer, 2001; Favrot *et al.*, 2010).

É ainda controversa a existência ou não de lesões primárias associadas à DAC (Hillier, 2002b; Griffin, 2014), mas alguns autores defendem que estas consistem em máculas eritematosas, manchas e pápulas de pequeno tamanho (Olivry *et al.*, 2010b); é no entanto consensual que a maioria das lesões cutâneas são secundárias a auto-traumatismo, como escoriações, alopecia auto-induzida, eritema, liquenificação e hiperpigmentação e a infeções bacterianas que geram pápulas, pústulas, crostas, erosões e colaretas epidérmicos (Reedy

et al., 1997; Griffin & DeBoer, 2001; Hillier, 2002b; Olivry *et al.*, 2010b; Favrot, 2014; Griffin, 2014).

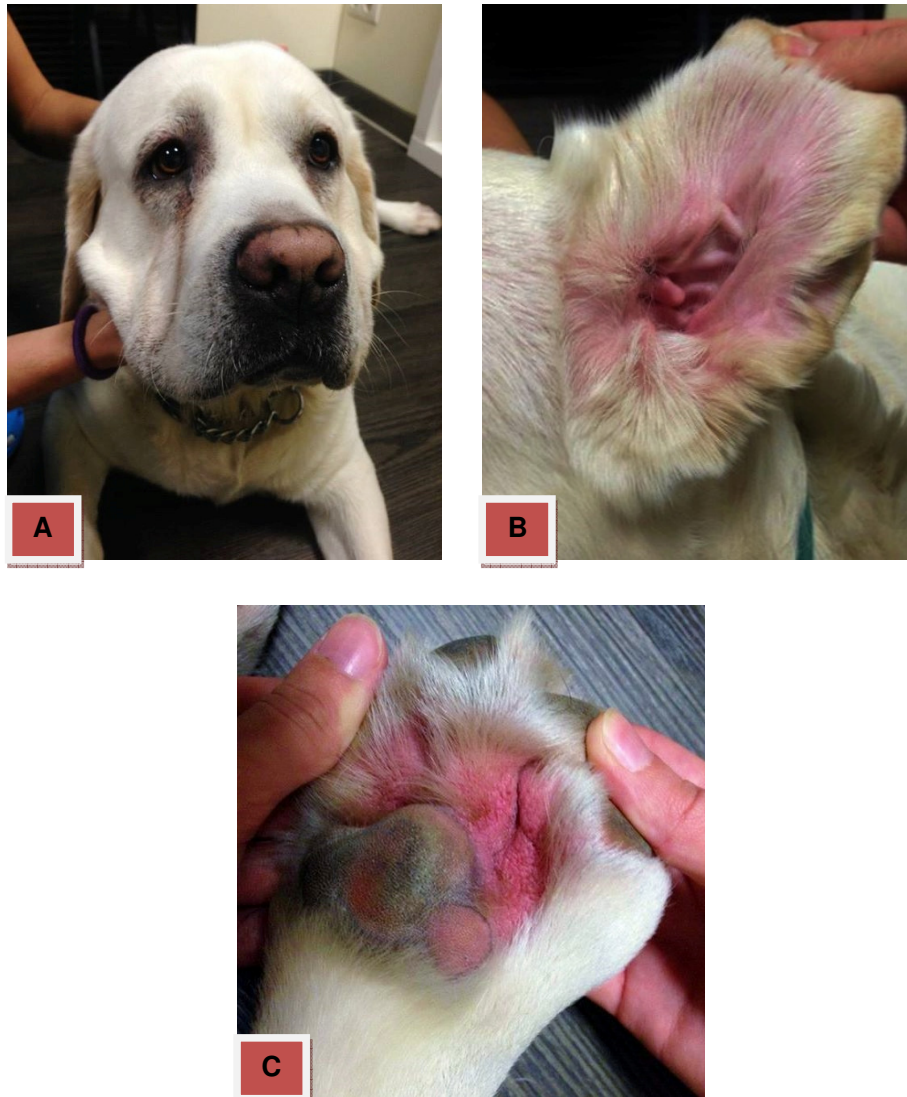
Existem outros sinais não dermatológicos associados ocasionalmente à DAc, como conjuntivite, espirros, espirros reversos (Reedy *et al.*, 1997; Favrot, 2014) e sinais asmátiformes (Reedy *et al.*, 1997). De facto, Lourenço-Martins *et al.* (2011) averiguaram a presença de sinais clínicos de conjuntivite alérgica em 60 cães atópicos e concluíram a sua presença em 60% destes, bem como uma correlação significativa entre a gravidade dos sinais oculares e o prurido ocular. Desta forma, o exame clínico de um paciente com suspeita de DAc deve incluir igualmente um exame oftálmico cuidadoso.

De forma a uniformizar as manifestações clínicas e para avaliação da gravidade da doença, a *International Task Force for Canine Atopic Dermatitis* (ITFCAD) validou e recomenda a *Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index* (CADESI) – 03, utilizada em ensaios clínicos para avaliar a eficácia das intervenções nesta doença (Olivry, Marsella, Iwasaki, Mueller & members of ITFCAD, 2007a).

2.4.1.2.1. Padrão Lesional

Admite-se que a distribuição lesional na DAc varie com a cronicidade da doença e os alérgenos envolvidos (Olivry *et al.*, 2010a), sendo as áreas mais afetadas: os membros, especialmente a região interdigital ventral; a base côncava do pavilhão auricular; a superfície flexora do metacarpo ou metatarso, a região do codilho; região axilar; região abdominal/inguinal; a face e planos ventrais do pescoço e cauda (Griffin & DeBoer, 2001; Olivry *et al.*, 2010b; Griffin, 2014). No estudo de Favrot *et al.* (2010), as áreas corporais mais frequentemente afetadas nos cães atópicos avaliados foram as extremidades distais dos membros anteriores (79%) e posteriores (75%), o abdómen (66%), a região axilar (62%), o pavilhão auricular (58%), a região perineal (43%) e a região perioral (42%). Geralmente o animal atópico apresenta algumas mas não todas as regiões afetadas descritas, exceto em casos crónicos (Favrot, 2014). Está demonstrado ainda que o fenótipo clínico da doença varia entre diferentes raças e está dependente de fatores como heritabilidade genética, modo de vida interior ou exterior, ambiente onde habitam – área geográfica, humidade, presença de alérgenos, exposição a raios ultravioleta –, a natureza dos alérgenos envolvidos e presença de fatores perpetuantes (Wilhem, Kovalik & Favrot, 2011).

Figura 1 Exemplos de diferentes regiões anatómicas afetadas: A - alopecia periocular; B - Eritema no pavilhão auricular; C - Eritema interdigital. (Fotografias originais).



2.4.1.2.2. Critérios clínicos para o diagnóstico de DAc

Em suma, o diagnóstico inicial é feito com base na recolha de uma série de sinais que preenchem, ainda que parcialmente, uma lista de critérios clínicos fortemente associados à DAc. Quer em MH como MV existem listas de critérios clínicos para o diagnóstico da DA que incluem os sinais clínicos mais frequentes da doença e constituem uma ferramenta em forma de *checklist* para auxiliar os clínicos no estabelecimento do diagnóstico inicial da doença (DeBoer & Hillier, 2001b). Em MV, Favrot *et al.* (2010) estabeleceram duas listas de critérios baseadas na análise das características mais frequentes associadas à DAc (tabela 1). A presença de 5 critérios da primeira lista está associada a uma sensibilidade de 85,4%

e especificidade de 79,1% na diferenciação entre cães atópicos e saudáveis. Na segunda lista, a presença de 6 dos 7 critérios acarreta uma sensibilidade de 42% e especificidade de 93,7% (Olivry, 2010; Griffin, 2014).

Tabela 1 Lista de critérios para o diagnóstico de DAc de Favrot *et al.* (2010).

Lista 1	Lista 2
1. Início dos sinais clínicos antes dos 3 anos de idade.	1. Início dos sinais clínicos antes dos 3 anos de idade.
2. Cão vive maioritariamente dentro de casa.	2. Cão vive maioritariamente dentro de casa.
3. Prurido responsivo a GC.	3. Início dos sinais com prurido sem lesões visíveis.
4. Infecções fúngicas crónicas ou recorrentes.	4. Membros anteriores afetados.
5. Membros anteriores afetados.	5. Pavilhões auriculares afetados.
6. Pavilhões auriculares afetados.	6. Margens auriculares não afetadas.
7. Margens dos pavilhões auriculares não afetadas.	7. Zona dorso-lombar não afetada.
8. Zona dorso-lombar não afetada.	

Estes critérios são atualmente recomendados pela ITFCAD e utilizados com frequência tanto na prática clínica como em estudos que envolvem a DAc (Olivry, 2010).

É importante realçar que, por maiores que sejam os valores de sensibilidade e especificidade, estas listas não são infalíveis, pelo que o diagnóstico de DAc não deve ser totalmente excluído num animal que não preencha estes critérios (DeBoer & Hillier, 2001b; Olivry *et al.*, 2010a); no entanto, com a exclusão correcta de outros diagnósticos diferenciais como ectoparasitoses, piodermites e reações cutâneas adversas de origem alimentar (RCAOA), a especificidade do diagnóstico aumenta significativamente (Favrot *et al.*, 2010; Olivry, 2010).

2.4.1.3. Diagnósticos diferenciais

Quando se chega à conclusão de que a DAc é um diagnóstico provável, deve-se excluir e proceder ao tratamento dos diagnósticos diferenciais concorrentes como DAPP, RCAOA (de

base imunológica ou não), sarna sarcóptica, piodermite, dermatite por *Malassezia* e, menos frequentemente, alterações seborreicas e dermatite de contacto (DeBoer & Hillier, 2001b, Olivry *et al.*, 2010a). Destes, o principal diagnóstico diferencial de DAc é o de RCAOA. Atualmente alguns autores defendem que a RCAOA é também uma forma de DAc admitindo assim que esta pode ser causada por alérgenos alimentares ou alérgenos ambientais (Olivry, DeBoer, Prélaud & Bensignor, 2007b). Favrot *et al.* (2010) concluíram não ser possível fazer a distinção clínica entre DAc de origem alimentar e não alimentar. Apesar desta conclusão, definem algumas características clínicas que podem ser indicativas de DAc de origem alimentar, nomeadamente prurido menos responsivo a GC e início dos sinais clínicos tendencialmente mais precoce ou mais tardio em relação à média da idade em que normalmente surgem os sinais clínicos de DAc de origem ambiental. A ausência de sinais gastrointestinais associada ao prurido num cão cujos sinais são compatíveis com DAc diminui também a probabilidade do diagnóstico de RCAOA, mas não o exclui. A única forma de distinguir entre a origem alimentar ou ambiental é através da realização de um despiste alimentar correto seguido de testes de provocação alimentar (Griffin & DeBoer, 2001; Hillier, 2002b; Griffin, 2014).

2.4.2. Diagnóstico laboratorial

Em MV as provas alergológicas normalmente utilizadas podem ser testes *in vitro* – testes serológicos – ou *in vivo* – testes intradérmicos. Apenas quando o diagnóstico clínico direciona fortemente para a presença de DAc é que as provas alergológicas devem ser consideradas; nunca como método de diagnóstico inicial. Estes testes servem para substanciar o diagnóstico de DAc, mas principalmente para determinar se a doença está ou não associada à produção de IgE específica e averiguar quais os alérgenos envolvidos no processo alérgico. Deste modo poderá proceder-se ao tratamento etiológico da doença, por evicção alérgica ou imunoterapia específica (DeBoer & Hillier, 2001b; Olivry *et al.*, 2010a; Griffin, 2014). De facto, estão descritas reações positivas em animais saudáveis, em ambos os tipos de testes (Olivry *et al.*, 2010b), que podem dever-se a hipersensibilidade subclínica (Hillier, 2002b) ou a reações de falso positivo (Koebrich, Nett-Mettler, Wilhelm & Favrot, 2012). Desta forma, a interpretação dos resultados deve ser sempre feita tendo presente a história progressiva e exame físico do animal, de forma a detetar falsos resultados das provas alergológicas.

Existem vários estudos cujo objetivo se centrou na comparação e determinação do grau de concordância entre estes dois tipos de teste. Os seus resultados são díspares; alguns atestam uma alta concordância entre os dois testes (Lian & Halliwell, 1998; Mueller, Burrows & Tsohalis, 1999; Park, Ohya, Yamashita, Nishifuji & Iwasaki, 2000; Hillier, 2002a; Tarpataki, Bigler, Vajdovich & Vörös, 2008; Koebrich *et al.*, 2012), face a outros cujos resultados

apontam diferenças (Foster *et al.*, 2003; Roque *et al.*, 2011). No entanto, não é possível comparar os diferentes estudos mencionados, uma vez que variam grandemente relativamente à metodologia utilizada e alergénios testados (Mueller *et al.*, 1999). O ideal será sempre a utilização conjunta dos dois tipos de teste (Reedy *et al.*, 1997; Rosser, 2004). A biopsia da pele atópica revela uma dermatite perivascular superficial que, apesar de não ser específica da DAc, corrobora o diagnóstico (Reedy *et al.*, 1997).

2.4.2.1. Testes *in vitro*

A utilização de testes *in vitro* não reúne ainda consenso entre a comunidade veterinária, devido à já demonstrada falta de correlação entre os níveis serológicos de IgE e a manifestação clínica da DAc (DeBoer & Hillier, 2001b), havendo inclusive estudos que evidenciaram níveis mais altos de IgE alergénio-específica em cães saudáveis do que em cães atópicos (Roque *et al.*, 2011; Lauber *et al.*, 2012). As possíveis razões para este fenómeno foram já abordadas anteriormente no capítulo referente à IgE. No entanto, a existência de diferentes tipos de testes serológicos que utilizam diferentes metodologias para a deteção da IgE alergénio-específica, aliada à falta de padronização quer dos processos quer na obtenção dos extratos alergénios, leva a confusão e dificuldade na comparação entre si e com os testes *in vivo* (DeBoer & Hillier, 2001b; Hillier, 2002a).

2.4.2.1.1. Técnica e metodologia

Atualmente estes testes são utilizados na deteção da IgE alergénio-específica e não da IgE total, uma vez que esta tem uma correlação fraca com a presença de DAc e é influenciada por fatores como vacinação e carga parasitária (Hill, Moriello & DeBoer, 1995; DeBoer & Hill, 1999; DeBoer & Hillier, 2001a).

Quanto à metodologia de deteção da IgE alergénio-específica canina, existem três diferentes testes: *radioallergosorbent assay* (RAST), *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) ou *liquid-phase allergen assay*. A forma pela qual se dá a ligação à IgE canina varia igualmente, podendo utilizar-se anticorpos policlonais, monoclonais ou anticorpos combinados monoclonais e ainda o recetor de alta afinidade para a IgE, Fcε (Reedy *et al.*, 1997; Hillier, 2002a; Thom *et al.*, 2010; Griffin, 2014). Apesar das diferentes metodologias, estes testes baseiam-se no mesmo princípio fundamental: o soro do animal reage com um extrato alergénio individual, comumente ligado a um suporte sólido, mas que também pode estar na fase líquida. De seguida há lavagem e os anticorpos com os quais não ocorreu ligação são arrastados enquanto que o complexo formado entre o alergénio e a IgE a este ligada são detetados utilizando um reagente específico para a IgE que foi previamente ligado a uma enzima – ELISA - ou radioisótopo - RAST. A quantidade de reagente específico ligado à IgE é depois mensurada por métodos colorimétricos,

fluorométricos ou radiométricos. (DeBoer & Hillier, 2001a). A especificidade deste reagente para a IgE é de extrema importância na fiabilidade dos resultados, de modo a não serem incluídas na deteção outras classes de imunoglobulinas como a IgG, presente no soro em quantidades muito superiores às da IgE (DeBoer & Hillier, 2001a; Okayama *et al.*, 2011).

A utilização de anticorpos policlonais está associada a baixa especificidade pela deteção cruzada de IgG, pelo que atualmente esta metodologia caiu em desuso a favor da utilização de anticorpos monoclonais, especialmente em combinações de dois ou mais anticorpos que reconhecem diferentes epitopos da mesma molécula, aumentando assim também a sensibilidade do teste (Dérer, Morrison-Smith & De Weck, 1998). Estudos sugerem igualmente que utilizando o recetor de alta afinidade para a IgE, FcεR1α, também se atingem níveis altos de especificidade (Wassom & Grieve, 1998; Stedman *et al.*, 2001; Tsukui *et al.*, 2012).

Além dos testes serológicos que nos fornecem um painel alérgico completo, existem ainda testes serológicos de *screening*. Este teste não identifica alérgenos individuais, mas apenas grupos de alérgenos, pelo que é eficaz na deteção de presença de doença mas não na seleção de alérgenos para imunoterapia (Mueller *et al.*, 1999; Olivry, Jackson, Murphy, Tater & Roberts, 2005).

A interpretação dos resultados é posteriormente feita de forma semi-quantitativa, convertendo o sinal obtido, por exemplo em densidade óptica, em unidades ou escalas baseadas em comparações entre testes e/ ou amostras padrão, as quais variam entre laboratórios, dificultando a sua comparação (DeBoer & Hillier, 2001a; Okayama *et al.*, 2011). Okayama *et al.* (2011) propuseram uma metodologia de ELISA que permite mensurar quantitativamente IgE alérgeno-específica numa escala absoluta, em ng/ml, permitindo assim a comparação mais fidedigna entre a quantidade de IgE alérgeno-específica para diferentes alérgenos.

2.4.2.1.2. Vantagens e desvantagens

A grande vantagem destes testes assenta na sua praticabilidade, uma vez que não requerem sedação e tricotomia e que, acredita-se, os seus resultados não são afetados pela administração concomitante de fármacos antialérgicos, com a possível exceção no caso de doses muito elevadas de GC (Reedy *et al.*, 1997; Olivry, Saridomichelakis & members of ICADA, 2013; Griffin, 2014). Como desvantagem, a sua sensibilidade depende dos reagentes utilizados para a deteção da IgE e da sua especificidade para a mesma. Em MH estão identificados alguns fatores que influenciam a fiabilidade destes testes como idade, estação do ano e a imunoterapia, sendo que as concentrações de IgE alérgeno-específica estão aumentadas em jovens e no pico de polinização (em quadros sazonais) e encontram-se diminuídas quando o paciente é submetido a imunoterapia. Em MV, a influência destes

fatores está ainda pouco estudada, mas admite-se que em animais com sintomatologia sazonal os valores de IgE alérgico-específica podem sofrer flutuações ao longo do ano, pelo que se recomendam análises repetidas em diferentes períodos do ano (DeBoer & Hillier, 2001a; Masuda *et al.*, 2001; Hillier, 2002a).

Não existe em MV qualquer programa ou entidade de controlo de qualidade ou acreditação dos diferentes laboratórios que realizam os testes serológicos, nem qualquer padrão relativo aos extratos alérgicos para a calibração dos testes disponíveis (DeBoer & Hillier, 2001a; Thom *et al.*, 2010). Estudos independentes propuseram-se avaliar a variabilidade de resultados dos testes serológicos, quer dentro do mesmo laboratório, quer entre laboratórios diferentes, tendo chegado à conclusão de que estas não diferem entre si significativamente e o grau de variabilidade para ambas é baixo a moderado para os laboratórios analisados (Lee *et al.*, 2009; Thom *et al.*, 2010).

2.4.2.2. Testes in vivo

Incluem testes intradérmicos (TID), epicutâneos de contacto (*atopy patch test*) e testes por picada (percutâneos). Os mais utilizados em MV são os testes intradérmicos.

2.4.2.2.1. Testes intradérmicos

2.4.2.2.1.1. Técnica e metodologia

Os TID são considerados o *gold standard* em MV (Rees, 2001; Hillier, 2002a) apesar de, tal como as outras provas alergológicas, não permitirem o diagnóstico definitivo de DA. Consistem na injeção de pequenas quantidades, 0,05 a 0,1 ml em cada local, de soluções contendo os alérgicos, na derme dos animais. Os alérgicos vão ligar-se aos mastócitos que apresentam na sua superfície IgE alérgico-específica. Seguidamente os mastócitos ligados aos alérgicos vão desgranular, libertando mediadores como histamina, levando a formação de uma pápula eritematosa em poucos minutos (Griffin, 2014). No entanto, esta reatividade dos mastócitos cutâneos nem sempre é indicativa de alergia, traduzindo, por vezes, uma hipersensibilidade subclínica (DeBoer & Hillier, 2001a).

Utilizam-se soluções de controlo positivo e negativo para determinar a reatividade da pele e auxiliar na interpretação das reações cutâneas aos alérgicos (Hillier & DeBoer, 2001). Mais comumente o controlo positivo consiste numa solução de fosfato de histamina cuja concentração varia entre os E.U.A - 0,001% - e a Europa – 0,01%; e o controlo negativo deve ser a solução utilizada na diluição dos extratos alérgicos concentrados, normalmente *phosphate-buffered saline* a 0,2 ou 0,4% (Reedy *et al.*, 1997).

2.4.2.2.1.2. Vantagens e desvantagens

As vantagens destes testes prendem-se com o facto de que o órgão onde o teste é realizado é igualmente o órgão afetado pela doença, obterem-se os resultados em alguns minutos e incluem uma gama mais abrangente de alérgenos a testar relativamente aos testes *in vitro*, podendo utilizar-se até 80 extratos face aos 30 a 40 possíveis nos testes *in vitro* (Rees, 2001; Griffin, 2014).

Devido à ausência de um verdadeiro *gold standard*, isto é, um teste universalmente aceite, com sensibilidade e especificidades de 100% para o diagnóstico de DAc, não é possível avaliar de forma exata a sensibilidade e especificidade dos TID (Koebrich *et al.*, 2012). Podem ocorrer reações de falso positivo e falso negativo com estes testes (Rees, 2001; Okayama *et al.*, 2011; Koebrich *et al.*, 2012).

A grande desvantagem deste tipo de testes prende-se com a necessidade de sedar o animal, o que envolve sempre riscos potenciais para a sua saúde, bem como de proceder à tricotomia da área onde o teste será feito, o que é desagradável esteticamente para alguns proprietários. É também necessário parar a medicação antialérgica passível de alterar a reatividade cutânea aos alérgenos injetados, nomeadamente GC ou anti-histamínicos, o que em alguns animais pode ser crítico. O tempo de privação depende do fármaco em questão e varia consoante os autores. Alguns autores recomendam um período de privação para GC orais e injetáveis de, respetivamente, 3 e 8 semanas no mínimo (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001) enquanto outros, mais recentes, recomendam 14 dias para ambos (Olivry *et al.*, 2013). Esta situação pode ser mitigada pelo uso de ciclosporina, fármaco que não afeta os resultados quer dos TID quer dos testes *in vitro* (Goldman, Rosser Jr, Petersen & Hauptman, 2010; Olivry *et al.*, 2013). Estão descritos igualmente outros fármacos que podem afetar os resultados dos TID nomeadamente derivados da progesterona, agonistas β_2 - adrenérgicos, broncodilatadores e teofilina (Scott *et al.*, 2001), mas os seus efeitos em cães não estão ainda estudados (Hillier & DeBoer, 2001).

Ao contrário dos testes serológicos, cujos resultados podem ser facilmente interpretados por qualquer clínico, a interpretação dos TID requer um dermatologista ou alergologista experiente ou formação na área. Apesar de extremamente raro, podem ocorrer reações de choque anafilático (Reedy *et al.*, 1997; Hillier & DeBoer, 2001; Griffin, 2014). Se a inflamação cutânea for generalizada, torna-se também difícil encontrar uma área corporal para a realização do teste, problema que não se põe com os testes *in vitro* (Park *et al.*, 2000).

Ainda, os extratos alérgenos utilizados nestes testes vão perdendo a sua potência, sendo o período de armazenamento máximo recomendado que garanta a potência dos mesmos, devidamente acondicionados, de poucos meses. Este intervalo de tempo reduz-se

significativamente quando se tratam de extratos alergénicos diluídos. Os extratos alergénicos devem ser mantidos refrigerados a 4°C, administrados quando se encontram à temperatura ambiente e deve evitar-se a sua congelação (Hillier & DeBoer, 2001). Para um centro veterinário que não realize testes intradérmicos frequentemente, este fator pode ser financeiramente proibitivo (Rees, 2001; Griffin, 2014).

A relevância das reações imediatas, nas quais se baseia tradicionalmente a interpretação dos TID, suscita também dúvidas, pois são as reações de fase tardia (hipersensibilidade tipo IV) que ocorrem 6 a 24h após a realização do teste que mais proximamente se assemelham ao observado na doença espontânea (Hill *et al.*, 2001).

Tal como acontece nos testes *in vitro*, também nestes se impõe em MV a padronização dos extratos alergénicos, da técnica dos testes e da interpretação das reações imediatas e tardias (Hillier & DeBoer, 2001; Hillier, 2002a).

2.5. Tratamento

As recomendações da ITFCAD para o maneio terapêutico da DAc estão resumidas no anexo I (Olivry *et al.*, 2010a).

2.5.1. Imunoterapia alergénio-específica

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a ITAE como a “administração de doses gradualmente crescentes de um extrato alergénico de forma a modificar a resposta imunológica face ao mesmo, melhorando a sintomatologia clínica associada” (Bousquet *et al.*, 1998b) e diminuindo o uso de medicação antialérgica concomitante. É utilizada em MH há mais de 100 anos, tendo o seu pioneiro sido Noon, em 1911, utilizando esta forma de tratamento num caso de rinite alérgica (citado por Mueller, 2014). Em MV, o primeiro relato da utilização de ITAE remete-se a Wittich, em 1941, que tratou com sucesso um cão com a chamada, na altura, “febre dos fenos” (citado por Griffin & Hillier, 2001).

A par da evicção alergénica, a ITAE é o único tratamento passível de modificar o curso natural da doença a longo prazo, mesmo após a sua suspensão (Bousquet *et al.*, 1998b; James *et al.*, 2011; Dell, Griffin, Thompson & Griffies, 2012). De facto, a ITAE oferece a esperança de remissão dos sinais clínicos a longo prazo e pode diminuir consideravelmente a frequência de administração de fármacos antialérgicos, apresentando em relação a estes vantagens como o facto de prevenir o aparecimento de novas alergias, ser mais económica a longo prazo, implicar uma frequência de administração menor e estar associada a menos reações adversas (Griffin & Hillier, 2001; Hillier, 2002a).

A ITAE está indicada em todos os pacientes que manifestem anticorpos IgE específicos contra alergénios relevantes (Bousquet *et al.*, 1998a; Olivry *et al.*, 2010a; Garcia, 2011), em casos em que a evicção alergénica não é possível e em pacientes nos quais a terapêutica

sintomática anti-inflamatória é ineficaz, está associada a efeitos secundários intoleráveis ou não pode ser mantida a longo prazo pelo proprietário (Griffin & Hillier, 2001; Olivry *et al.*, 2010a).

Os parágrafos seguintes referem-se à ITAE administrada por via subcutânea, SCIT, a via *gold standard* e portanto, a mais amplamente estudada.

2.5.1.1. Mecanismo de ação

O mecanismo de ação exato da ITAE é ainda uma incógnita; no entanto, acredita-se que assente em três pilares fundamentais: indução de anticorpos “bloqueadores”, desvio da resposta T_{H2} para T_{H1} e indução de tolerância imunológica nas células T (Loewenstein & Mueller, 2009). Em MH estão identificadas diversas alterações imunológicas associadas à ITAE, nomeadamente: diminuição do número de células inflamatórias como mastócitos, basófilos e eosinófilos; diminuição dos níveis de IgE e aumento dos de IgG1 e IgG4; aumento da produção de IFN- γ e redução da produção de IL-4 (Griffin & Hillier, 2001; Shida *et al.*, 2004).

2.5.1.1.1 Resposta celular

Aquele que parece ser o principal evento, quer em MH (Varney *et al.*, 1993), quer em MV (Shida *et al.*, 2004), na cascata imunológica desencadeada pela ITAE é uma imunomodulação no sentido de um desvio da resposta clássica da DA, T_{H2} , para uma resposta de tipo T_{H1} . Este desvio deve-se, em parte, ao aumento do rácio IFN- γ /IL-4. Além do IFN- γ também a IL-10, citocina fulcral com papel regulador das respostas inflamatórias, promove este desvio ao regular a produção de outras citocinas nomeadamente IL-5 e IL-13 – inibindo os linfócitos T_{H2} – e IFN- γ – estimulando os linfócitos T_{H1} (Loewenstein & Mueller, 2009; Akdis & Akdis, 2011)

A evidência do papel fulcral das células T_{REG} e suas citocinas no mecanismo de ação e sucesso da ITAE tem ganho força nos últimos anos, quer em MH como MV (Keppel *et al.*, 2008; Loewenstein & Mueller, 2009). Como já foi descrito anteriormente (Ver capítulo referente a Fisiopatologia), os linfócitos T_{REG} constituem uma população especial de células T com propriedades imunossupressoras, que incluem a inibição das respostas inflamatórias alérgicas associadas à produção de IgE, regulando a homeostasia imunitária através da produção de citocinas como a IL-10 (Keppel *et al.*, 2008). Jutel *et al.* (2003) propuseram-se estudar os mecanismos imunitários reguladores em pessoas saudáveis, alérgicas e naquelas sujeitas a tratamento com ITAE, e verificaram que a supressão da proliferação das células T, bem como a diminuição das citocinas de resposta T_{H2} é induzida pela IL-10 e TGF- β , quer na ITAE, quer numa resposta imunitária saudável. Verificaram ainda que a ITAE induz uma ação reguladora nas células T CD4+CD25+ que expressam IL-10 e TGF- β ,

de pacientes alérgicos, concluindo assim que, quer numa resposta imunitária normal, quer na resposta alérgica modulada por ITAE, há um desvio tendencial para uma resposta reguladora/supressora das células T. Este estudo vai de encontro aos resultados de outros autores que atribuem à IL-10, nomeadamente ao aumento na sua concentração sérica provocado pela ITAE, a indução de um estado de anergia nas células T periféricas (Akdis, Blesken, Akdis, Wüthrich & Blaser, 1998)

Além deste papel de indução de tolerância imunológica nas células T, os linfócitos T_{R1} e a IL-10, produzida de forma contínua durante a ITAE, regulam também a produção de anticorpos alérgénio-específicos exercendo ação inibitória sobre a produção de IgE – total e alérgénio-específica - e ação potenciadora da produção de IgG4 (Akdis *et al.*, 1998; Akdis, Blaser & Akdis, 2006; Ozdemir, Akdis & Akdis, 2009). Outra importante função da IL-10, induzida pela ITAE, é a estimulação da diferenciação de CD especializadas na produção de IL-10, conduzindo, também desta forma, à regulação dos linfócitos T. Os linfócitos T_{REG} têm também capacidade de formar complexos com as CD, dificultando a apresentação antigénica e inibindo assim a consequente ativação e diferenciação dos linfócitos T (Fujita, Soyka, Akdis & Akdis, 2012).

O TGF- β assume também um papel preponderante, ao estimular a diferenciação de novos linfócitos T_{REG} FoxP $^{3+}$ e a produção de IL-10 e IgA, inibir a produção de IgE e reduzir a expressão do Fc ϵ RI pelas CL (Jutel *et al.*, 2006; Fujida *et al.*, 2012)

Apesar de em MV os mecanismos de ação da ITAE não estarem tão bem estudados como em MH, alguns autores conseguiram já encontrar semelhanças e disparidades entre os eventos imunológicos que ocorrem após a ITAE, entre cães e pessoas. Shida *et al.* (2004) identificaram uma maior expressão de IFN- γ após a ITAE mas, ao contrário do observado em MH, as concentrações de IL-4 não sofreram alterações. Keppel *et al.* (2008) observaram igualmente um aumento significativo dos níveis de T_{REG} e de IL-10 em animais sujeitos a ITAE, em comparação com animais saudáveis, bem como uma correlação entre este aumento e uma melhoria da sintomatologia clínica. Adicionalmente, verificou-se também uma redução dos níveis de IgE após 1 ano de tratamento com ITAE.

2.5.1.1.2. Resposta humoral

Em MH, uma resposta imunitária normal a um estímulo alérgénico é caracterizada pela formação predominante de anticorpos IgG, particularmente IgG4. Este isotipo é produzido pelas células B de memória na presença de IFN- γ enquanto a produção de IgE está dependente da IL-4 e é inibida pelo IFN- γ (Akdis *et al.*, 1998).

Em MH e, em menor grau, em MV, encontra-se patente o envolvimento da classe de imunoglobulinas G no mecanismo de ação da ITAE. Mothes *et al.* (2003) observaram o aumento significativo de anticorpos IgG1 e IgG4 em humanos sujeitos a tratamento com

ITAE, bem como a correlação entre os níveis elevados destes anticorpos e a melhoria clínica dos pacientes. Verificou-se também uma inibição da libertação alérgico-dependente de histamina por parte dos basófilos no soro dos pacientes sujeitos à ITAE, bem como uma redução na indução de IgE alérgico-específica durante a reexposição a pólenes. James *et al.*

Tabela 2 Efeitos da ITAE nas células T. Adaptada de Loewenstein & Mueller, 2009.

Efeitos da ITAE na resposta celular T

Aumento das citocinas T_H1 em relação às T_H2 , induzidas por alérgenos

Indução de anergia nas células T epitopo-específica;

Produção de células T_{REG} alérgico-específicas capazes de suprimir a resposta das células T efetoras;

Aumento da produção de citocinas reguladoras como IL-10 e TGF- β .

al. (2011) foram mais longe e não só observaram o aumento de IgG1 e IgG4 após 2 a 3 meses de tratamento com ITAE, como 2 anos após a suspensão da mesma constataram que, apesar dos níveis de IgG voltarem aos seus valores basais anteriores ao início da ITAE, a inibição da IgE por eles induzida se mantinha. Estes autores concluíram assim que mais do que a concentração total sérica de anticorpos IgG, é a sua afinidade e atividade inibitória que estão associadas à tolerância imunológica.

Estudos em MV evidenciam igualmente aumentos na concentração sérica de anticorpos IgG alérgico-específica em pacientes sujeitos a ITAE (Hou, Griffin & Hill, 2008), nomeadamente IgG1 (Fraser, McNeil & Gettinby, 2004; Lauber *et al.*, 2012). Especula-se que estes anticorpos se liguem aos alérgenos específicos antes de estes se ligarem à IgE na superfície dos mastócitos, diminuindo assim a disponibilidade antigénica para a IgE e recebendo por isso a denominação de anticorpos “bloqueadores” (Zur *et al.*, 2002; Hou *et al.*, 2008).

No entanto, nem todos os estudos estão em consonância: Lauber *et al.* (2012) não observaram alterações na IgE nem na IgG4 nos animais estudados a receberem ITAE; no entanto os animais deste estudo não tinham entrado ainda em remissão e estavam em tratamento com ITAE há menos de um ano. Estudos em MH (Gehlhar *et al.*, 1999; Nanda *et al.*, 2004, citados por Akdis & Akdis, 2011) e em MV (Keppel *et al.*, 2008) sugerem que os níveis de IgE apenas começam a diminuir após 1 ano de tratamento com ITAE.

Em MH recentemente descobriu-se a existência de linfócitos B reguladores (B_{REG}), a par dos T_{REG} , com capacidade de síntese de IL-10 e regulação das células T efetoras e de memória. A descoberta desta nova população celular vem reforçar a importância da imunidade humoral no mecanismo de ação da ITAE (Fujita *et al.*, 2012).

2.5.1.2. Seleção de extratos alergénios

A ITAE é formulada a partir de extratos alergénicos de diversas origens, em diferentes formulações, diluições e potências. É um tratamento individual que deve ser adaptado a cada paciente (Colombo, Hill, Shaw & Thoday, 2005; Willemse *et al.*, 2009), devendo ser formulado com base na história clínica dos pacientes e nos resultados positivos no painel alérgico obtido por provas alergológicas. É tentador incluir na mesma dose de ITAE todos os alergénios para os quais as provas alergológicas revelaram hipersensibilidade; no entanto, isto pode diminuir significativamente a resposta ao tratamento, devido à excessiva diluição de cada um dos alergénios e/ou perda de alergenicidade em virtude da atividade enzimática de alguns extratos alergénicos. Atualmente recomenda-se que o número total de alergénios a incluir numa dose seja de 7 a 15, dependendo da potência e volume dos extratos utilizados (Griffin & Hillier, 2001; Esch, 2008). Outro fator problemático associados às misturas de extratos prende-se com o facto de que a inclusão de alergénios sem relevância clínica na formulação da ITAE pode levar ao aparecimento de novas hipersensibilidades no cão (Mueller, 2014). Quando o animal apresenta hipersensibilidade a vários alergénios (30 ou mais), estes devem ser selecionados de acordo com a história clínica, bem como probabilidade e duração de exposição aos mesmos (Scott *et al.*, 2001); ou então pode optar-se por distribuir os alergénios por dois frascos (Reedy *et al.*, 1997).

Com o decorrer dos anos, a ITAE aproximou-se cada vez mais do modelo vacinal ao utilizar compostos adjuvantes com os extratos alergénicos, aumentando desta forma a sua capacidade estimuladora do sistema imunitário, sem comprometer a segurança ao não aumentar a sua alergenicidade (Mothes *et al.*, 2003; Loewenstein & Mueller, 2009). Os mais utilizados, principalmente na Europa, são extratos de alergénios precipitados em alumínio. O alumínio retarda a absorção do alergénio, aumentando a sua imunogenicidade. Atualmente são mais utilizados os extratos aquosos, considerados por alguns autores como mais eficazes em relação aos que utilizam adjuvante (Loewenstein & Mueller, 2009). Alguns estudos sugerem ainda benefícios no uso dos adjuvantes em casos refratários à ITAE convencional, permitindo também diminuir as doses de alergénio usadas (Mueller, Veir, Fieseler & Dow, 2005).

2.5.1.3. Protocolo convencional da ITAE

Os protocolos de ITAE variam grandemente, especialmente em MV, onde ainda não existe uma padronização dos mesmos, sendo as doses recomendadas obtidas por convenção ou hábito (Griffin & Hillier, 2001; Hillier, 2002a). O protocolo é composto por uma fase de indução, onde se procede à determinação da dose máxima tolerada por cada paciente e se administram volumes gradualmente crescentes durante várias semanas a meses (Mueller, 2014), e uma fase de manutenção, onde se administra um volume clinicamente eficaz e seguro. Esta fase, em MH, prolonga-se por um período mínimo de 3 a 5 anos (Garcia, 2011; Calderón *et al.*, 2012a).

A dose ótima de ITAE define-se como a dose de dado extrato alergénico que gera uma resposta clínica significativa, sem no entanto causar reações adversas intoleráveis ao paciente (Loewenstein & Mueller, 2009). Em MV usualmente opta-se por um frasco com 10,000 a 20,000 unidades de azoto proteico (PNU)/ml como dose de manutenção, obtendo-se, de seguida, diluições de base 10 para outros dois frascos (Reedy *et al.*, 1997). A fase de indução começa com doses baixas de alergénio na ordem dos 200 a 2000 PNU/ml, administradas subcutaneamente em intervalos de 2 a 7 dias, e vão aumentando gradualmente até se atingir a dose de manutenção de 10,000 a 20,000 PNU/ml em intervalos de 1 a 3 semanas (Scott *et al.*, 2001; Hillier, 2002a).

A principal razão para a existência de uma fase de indução, onde as doses são gradualmente aumentadas em intervalos curtos de tempo entre injeções, é a prevenção de reações adversas que ponham em risco a vida do paciente, não comprometendo simultaneamente o tempo necessário para se atingir a fase de manutenção (Griffin & Hillier, 2001).

Alternativas ao protocolo convencional, com doses mais altas e mais baixas têm igualmente sido propostas. No entanto, estudos recentes não mostram superioridade em termos de eficácia de um protocolo em relação aos outros (Colombo *et al.*, 2005; Olivry *et al.*, 2010b; Mueller, 2014).

2.5.1.4. Protocolo *Rush*

O protocolo *rush*, utilizado quer em MH como em MV, consiste numa alternativa ao protocolo convencional da ITAE, onde a fase de indução é significativamente encurtada de forma a atingir-se a fase de manutenção e, conseqüentemente, melhorias clínicas, mais rapidamente. Recorrendo a este protocolo, as doses são administradas com intervalos de 30 minutos para chegar à dose de manutenção, por vezes num só dia (Loewenstein & Mueller, 2009; Garcia, 2011; Calderón *et al.*, 2012a).

Não existe ainda consenso acerca deste protocolo estar associado a taxas mais altas de reações adversas. Em MH, alguns autores defendem que o protocolo *rush* não está associado a taxas significativamente mais altas de reações adversas face ao protocolo convencional (Cox, 2006), ao contrário de outros (Garcia, 2011). Não obstante, é prática a pré-medicação com GC ou anti-histamínicos. David (2014) avaliou a eficácia de um protocolo *rush* em 14 cães atópicos, tendo observado benefícios clínicos estatisticamente significativos às 4 semanas de tratamento; concluindo que a resposta à ITAE parece ser tão mais precoce quanto mais abreviada for a fase de indução do protocolo. Importa referir que é imperativa a hospitalização do paciente durante a fase de indução, de forma a haver uma monitorização criteriosa do estado do paciente e, assim, reagir atempadamente em caso de reação adversa (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009;)

2.5.1.5. Eficácia da ITAE convencional

Há uma escassez de estudos prospetivos e controlados, que averiguem a eficácia da ITAE, especialmente em MV (Griffin & Hillier, 2001), devido à dificuldade inerente a esta avaliação. De facto, uma avaliação criteriosa da eficácia da ITAE implica, teoricamente, a paragem de medicação concomitante, controlo cuidadoso de afeções concorrentes, utilização de placebo em estudos controlados e cegos e um período de seguimento de vários anos. Todos estes fatores apresentam dificuldades inerentes e estão associados a altas taxas de desistência por parte dos proprietários (Griffin & Hillier, 2001; Mastrandrea, 2000). A eficácia da ITAE está diretamente associada a formulações de alta qualidade, padronizadas em termos de potência e prazo de validade. A utilização de extratos padronizados é, em MH, um requisito legal para a aplicação de ITAE (Bousquet *et al.*, 1998b). Em MV, infelizmente, esta padronização não é ainda uma realidade (Zur *et al.*, 2002).

A comparação, entre diferentes estudos, dos valores de eficácia de ITAE obtidos é difícil devido a diferenças de metodologias, amostras populacionais, prova alergológica utilizada, tipo, origem e concentração dos extratos alergénicos utilizados, protocolo de tratamento e critérios utilizados na avaliação da resposta (Loewenstein & Mueller, 2009). Com isto em mente, é necessária cautela na análise dos resultados de eficácia obtidos pelos diferentes estudos. Após uma revisão extensa da literatura existente, Mueller (2014) concluiu que aproximadamente 20% dos cães apresenta uma resposta excelente, com remissão completa; 40 a 50% apresentam uma resposta satisfatória com melhorias clínicas evidentes e redução da necessidade de medicação concomitante; 30 a 40% dos cães tem uma resposta fraca ou não responde de todo.

O período necessário desde o início da ITAE até serem visíveis benefícios clínicos, bem como o período de duração total recomendado para a ITAE em cães, não está ainda estipulado. Diferentes autores têm contribuído com diferentes períodos expectáveis para

que se observem benefícios clínicos após o início da ITAE, nomeadamente 2 a 5 meses (Schnabl, Bettenay & Mueller, 2006); 3 a 12 meses (Mueller & Bettenay, 1996 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) e 9 meses (Willemse, 1994 citado por Loewenstein & Mueller, 2009).

Em MH, o tempo recomendado para a duração do tratamento com ITAE varia ligeiramente entre autores, sendo que períodos de duração entre os 2 (James *et al.*, 2011) e os 3 a 5 anos (Bousquet *et al.*, 1998b; Durham *et al.*, 1999) foram capazes de induzir remissão completa a longo prazo. Assim, a remissão total dos sinais clínicos após interrupção da ITAE é atingível. No entanto, o proprietário deve sempre ser informado de que este pode ser um tratamento para a vida (Griffin & Hillier, 2001; Scott *et al.*, 2001).

2.5.1.5.1. Fatores que influenciam a eficácia do tratamento

Estudos em MH sugerem diversos fatores passíveis de influenciar a eficácia da ITAE, nomeadamente: doses elevadas de alergénios, início da ITAE em idade jovem e início da ITAE numa fase inicial da doença, isto é, antes de ocorrerem alterações decorrentes de inflamação crónica (Bousquet *et al.*, 1998b). Em MV, vários autores têm estudado a influência de fatores como a raça, género, sazonalidade dos sinais clínicos, idade dos pacientes quando iniciaram a ITAE, tempo decorrido desde o aparecimento dos primeiros sinais de DAC e o início da ITAE, tempo há que padecem de sinais clínicos e prova alergológica utilizada.

Relativamente à raça, género, sazonalidade dos sinais clínicos, prova alergológica utilizada e idade dos pacientes quando iniciaram a ITAE, os diferentes estudos concluíram que estes parâmetros não estão associados a diferenças estatisticamente significativas na resposta à ITAE (Nuttal *et al.*, 1998; Zur *et al.*, 2002; Schnabl *et al.*, 2006). No entanto, Zur *et al.* (2002) encontraram uma tendência em cães que iniciaram a ITAE com menos de 2 anos, cães sintomáticos há menos de 1 ano, raça Golden retriever e género masculino para manifestar uma resposta mais favorável à ITAE em detrimento das raças Springer Spaniel Inglês e Bichon Frisé e do género feminino, que tenderam para uma resposta mais fraca. Quanto ao tempo decorrido entre o início dos sinais clínicos e início da ITAE, Schnabl *et al.* (2006) e Zur *et al.* (2002) não encontraram uma influência significativa, ao contrário do estudo de Nuttal *et al.* (1998), onde cães com sintomatologia há mais de 5 anos quando iniciaram a ITAE manifestaram uma resposta significativamente mais fraca.

Também o tipo e número de alergénios incluídos na formulação da ITAE foram avaliados, não tendo revelado influência significativa na eficácia do tratamento nos estudos de Nuttal *et al.* (1998) e Schnabl *et al.* (2006). No entanto, Zur *et al.* (2002) concluíram que cães com hipersensibilidade a mais de 21 alergénios nas provas alergológicas e tratados com mais de 21 alergénios na ITAE, bem como cães hipersensíveis a pólenes ou insetos, estão

associados a respostas mais fracas ao tratamento e tempo mais prolongado até melhorarem clinicamente. De facto, neste estudo, o tempo necessário para atingir melhoria clínica foi, em média, de 6, 8 e 12 meses quando os animais foram tratados com menos de 10 alérgenos, 11 a 20 alérgenos e mais de 21 alérgenos, respetivamente.

O recurso a medicação concomitante pode também afetar grandemente a eficácia da resposta à ITAE. O uso de GC está contraindicado, pois estudos demonstram uma inibição significativa na indução das células T_{REG} (Majak, Rychlik & Stelmach, 2009). Os GC podem suprimir mecanismos da ITAE e mascarar os benefícios clínicos, bem como efeitos adversos desta que requeiram um ajuste de dose (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009). O uso de anti-histamínicos está também associado a uma possível redução na eficácia da ITAE (Johansen, Senti, Gómez & Kundig, 2007).

A eficácia da ITAE melhora significativamente se concomitantemente for feita uma monitorização cuidadosa da resposta do paciente, por razões como a falta de padronização dos extratos utilizados, podendo um lote ter potência alérgica inferior a outro; heterogeneidade marcada de tamanhos e pesos na população canina; tempo decorrido até se começarem a verificar melhorias clínicas, que podem ir de meses a anos; a ITAE pode exacerbar a sintomatologia da DAC; alguns animais podem apresentar apenas melhorias clínicas transientes após cada injeção e, por último, para garantir uma maior adesão do proprietário ao protocolo. De igual forma, é importante monitorizar afeições concorrentes que surjam como DAPP e infeções bacterianas e fúngicas que comprometem clinicamente a eficácia da ITAE (Nuttal *et al.*, 1998; Griffin & Hillier, 2001; Hillier, 2002a). Idealmente, se possível, deveria ser feito um seguimento 1, 3, 6 e 12 meses após o início da ITAE ou, no mínimo, aos 3 e 12 meses (Hillier, 2002a).

2.5.1.6. Reações adversas à ITAE

As reações adversas dividem-se em locais e sistémicas, sendo as primeiras mais comuns que as últimas (Griffin & Hillier, 2001). A reação mais frequente é o agravamento do prurido, podendo ocorrer imediatamente após a injeção ou até 1 a 2 dias depois e persistir por horas a dias (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009); geralmente estas reações são sinónimo de que a dose injetada é muito alta e deve ser ajustada (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001; Hillier, 2002a; Mueller, 2014). As reações sistémicas descritas ocorrem em aproximadamente 1% dos cães e incluem fraqueza, depressão, diarreia, vômito, ansiedade, urticária/angioedema e anafilaxia. Reações adversas que ponham em risco a vida do animal são extremamente raras e não estão descritos, até à data, efeitos secundários a longo prazo associados à ITAE (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001; Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009).

De forma a atingir-se uma dose de manutenção elevada, sem prejuízo da ocorrência de reações adversas, é comum, em MH, a administração de anti-histamínicos prévia à ITAE (Calderón, Cardona & Demoly, 2012a).

2.5.1.7. Vias de administração de ITAE

A via de administração mais comum e, de longe, mais aplicada e estudada é a subcutânea. No entanto, nos últimos anos, têm surgido vias de administração alternativas para tentar dar resposta a questões de comodidade para o animal – desconforto na administração subcutânea - e proprietário – desconforto dos próprios em administrar injeções ou necessidade frequente de deslocação ao veterinário para este efeito - e de dosagens mais eficazes, como a sublingual, oral e intralinfática (Garcia, 2011; Mueller, 2014). Em MH estão ainda descritas outras vias como a nasal, para o tratamento de rinite alérgica e intrabrônquica no caso da asma (Griffin & Hillier, 2001; Calderón *et al.*, 2012b). Estudos em MH indicam que a via intralinfática se revela uma alternativa bastante interessante, segura e eficaz em relação à via subcutânea (Senti *et al.*, 2008). Importa distinguir a via de administração oral da sublingual. Na via oral, os extratos alergénicos são ingeridos pelo paciente enquanto que na via sublingual estes são postos em contacto durante alguns minutos com a mucosa oral e só depois podem ser deglutidos. A via oral foi investigada em alguns estudos nos anos 80; no entanto, os seus resultados foram controversos e, em alguns casos, foram descritas importantes reações adversas de foro gastrointestinal, o que levou ao seu gradual abandono (Canonica *et al.*, 2009). Em MV, Marsella (2010) testou a eficácia da administração oral de alergénios, não tendo obtido resultados favoráveis com o protocolo praticado.

2.5.2. Imunoterapia específica sublingual

Como a grande maioria da informação disponível acerca desta via de administração de ITAE é relativa à MH, esta será revista primeiramente em pormenor, passando depois para os – ainda – escassos estudos neste âmbito em MV.

2.5.2.1. Imunoterapia específica sublingual em medicina humana

A primeira descrição da SLIT remota a 1900 (Saporta, 2012) e é, nos dias de hoje, aceite como uma alternativa válida e não invasiva à SCIT, no tratamento de doenças respiratórias derivadas de uma hipersensibilidade de tipo I (Bousquet *et al.*, 1998a; Moingeon & Mascarell, 2012; Calderón *et al.*, 2012b). Esta modalidade de ITAE consiste na administração contínua (por meses ou anos) de um ou mais extratos alergénicos, sob a forma de gotas ou comprimidos de dissolução rápida, na qual é pedido aos pacientes que mantenham a fórmula contendo o (s) extrato (s) alergénico (s) durante 1 a 2 minutos

debaixo da língua para que ocorra o contacto com a mucosa oral. De seguida o paciente pode deglutir o composto ou expeli-lo (Cox *et al.*, 2006; WAO, 2007). Atualmente apenas a primeira forma é utilizada, pelo que será essa a descrita neste trabalho.

A SLIT está indicada em pacientes cuja sintomatologia alérgica não consegue ser controlada com medicação antialérgica; pacientes nos quais a medicação antialérgica induz efeitos secundários intoleráveis; pacientes que rejeitem injeções subcutâneas e pacientes que não queiram sujeitar-se a terapêutica antialérgica constante a longo prazo. A SLIT pode ainda ser utilizada como tratamento inicial para doenças alérgicas respiratórias (Canonica *et al.*, 2014).

2.5.2.1.1. Mecanismo de ação da SLIT em humanos

A alternativa da via sublingual para a administração de ITAE teve como base a eficácia da absorção sublingual de outros fármacos como a nitroglicerina e nifedipina. De facto, o tecido sublingual é altamente vascularizado, com vasos sanguíneos que drenam diretamente para a veia jugular o que, conseqüentemente, leva a absorção mais rápida para a corrente sanguínea (Moingeon *et al.*, 2006). No entanto, estudos visando a biodistribuição da ITAE através de alérgenos marcados radioativamente demonstram que a absorção através da mucosa oral é muito reduzida e que a eficácia clínica se deve a uma interação entre os extratos e o sistema imunitário oral (Bagnasco *et al.*, 2001; Committee for medicinal products for human use, 2007).

Na última década, a principal incógnita acerca da SLIT abordada nos trabalhos científicos centrava-se na sua eficácia. A publicação de meta-análises como a de Wilson, Lima & Durham (2005) veio dar, ainda que com limitações, resposta a esta questão e desde então o foco tem sido os mecanismos de ação desta forma de ITAE (Allam *et al.*, 2008b).

2.5.2.1.1.1. A mucosa orofaríngea como um órgão tolerante imunologicamente

O ambiente na cavidade oral constitui um local de tolerância imunitária inata. Assim se percebe que, apesar da exposição constante a antígenos ambientais e alimentares, a mucosa oral mantém-se sem inflamação e com uma quantidade relativamente reduzida de células efectoras, comparativamente a outras mucosas do organismo (Allam *et al.*, 2003; Incorvaia *et al.*, 2007; Allam *et al.*, 2008a).

Anatomicamente, a mucosa oral é composta por três camadas: epitelial, lâmina própria e submucosa, sendo que a sua membrana basal se reveste de especial importância pela reduzida permeabilidade característica desta região anatómica (Incorvaia *et al.*, 2007). Acredita-se que esta tolerância imunitária esteja associada à presença de CL, células epiteliais e monócitos com capacidade de síntese de IL-10, TGF- β e activinas bem como a produção local de IgA (Canonica *et al.*, 2014).

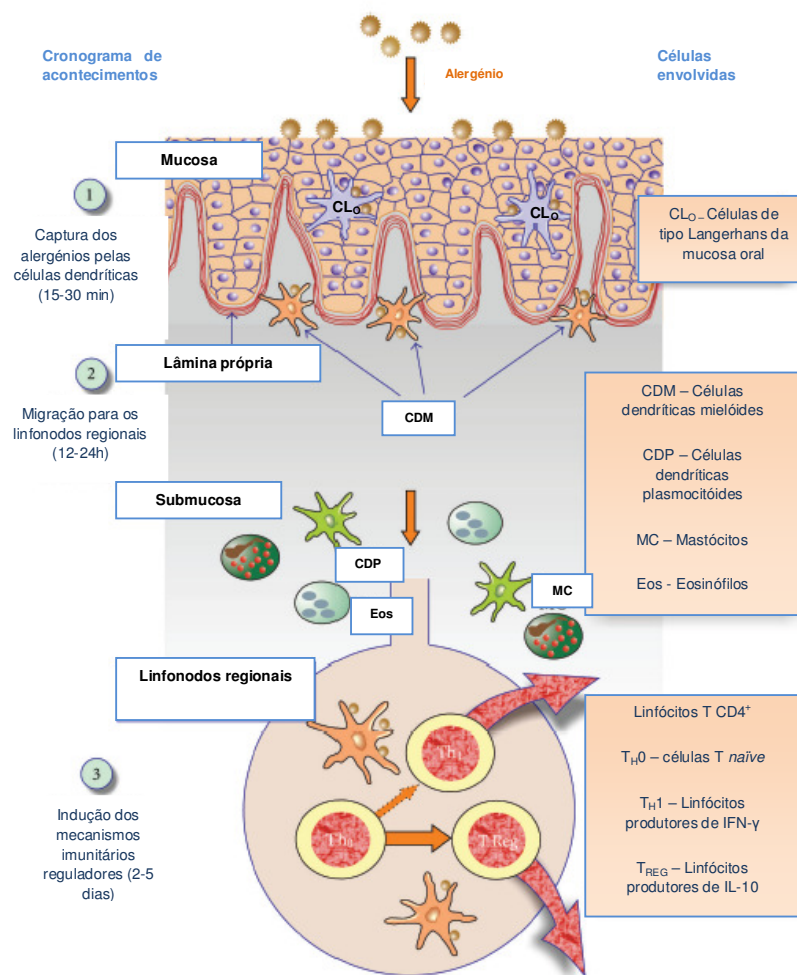
Como já referido anteriormente, as CL constituem uma família de células apresentadoras de antígenos e são consideradas como os adjuvantes naturais do sistema imunitário. As CL_O (células de Langerhans presentes na mucosa oral), apesar de apresentarem semelhanças com as CL_P (células de Langerhans presentes na pele), diferem entre si fenotipicamente e funcionalmente, pois expressam constitutivamente o recetor FcεRI bem como outros recetores Fcγ e há um aumento da expressão de MHC classe I e II, bem como moléculas co-estimulatórias e co-inibitórias, o que potencia uma apresentação antigénica às células T muito eficaz. Estas células possuem igualmente capacidade de síntese de IL-10 (Allam *et al.*, 2003; Allam *et al.*, 2008b). Allam *et al.* (2008a) demonstraram que a ligação entre TLR-4 e CL_O humanas isoladas aumenta a produção de IL-10 e TGF-β e diminui a proliferação de células T, induzindo simultaneamente células T com fenótipo regulador. Estes resultados levam à hipótese de que estes recetores inatos aumentam a tendência para a tolerância imunitária num ambiente rico em microrganismos (Canonica *et al.*, 2009). Durante a SLIT, os antígenos são capturados pelas CL_O, por fagocitose, macropinocitose ou endocitose mediada por recetores, que posteriormente migram para os linfonodos regionais como consequência da alteração de recetores na sua superfície (Moingeon *et al.*, 2006; Moingeon & Mascarell, 2012). Estas células localizam-se frequentemente no vestíbulo, palato e língua. No entanto, a sua expressão do recetor FcεRI é mais acentuada no vestíbulo, pelo que esta pode ser, também, uma região da cavidade oral propícia à administração de ITAE (Allam *et al.*, 2008b).

2.5.2.1.1.2. Efeitos da SLIT no sistema imunitário humano

Os estudos clínicos acerca da SLIT são ainda muito heterogéneos, envolvendo diferentes doses, extratos alergénicos, períodos de duração do tratamento e técnicas laboratoriais de mensuração dos mecanismos imunitários envolvidos. Estas disparidades justificam a existência de grande variabilidade nos resultados obtidos pelos diferentes autores. Bagnasco *et al.* (2001) demonstraram que os extratos alergénicos são retidos na mucosa oral durante 2 horas após a administração sublingual, o que potencia efeitos locais e sistémicos no sistema imunitário.

Cada vez é mais consensual que os mecanismos de ação envolvidos na SLIT são muito semelhantes aos da SCIT (Bohle *et al.*, 2007), com alteração da resposta imunitária das células T estimuladas por alergénios no sentido da supressão da inflamação alérgica e alterações modestas nos níveis de anticorpos circulantes, nomeadamente IgG4. Apesar de não ser consensual, é provável que o evento principal seja, tal como na SCIT, a indução de células T reguladoras produtoras de IL-10, bem como um desvio para uma resposta de tipo T_H1 (Bohle *et al.*, 2007; Savolainen *et al.*, 2007; Canonica *et al.*, 2009).

Figura 2 Adaptado de Moingeon & Mascarell, 2012, com permissão dos autores. Esquema representativo do percurso do alergénio após administração sublingual. Minutos após a administração há ligação entre quantidades substanciais de alergénio e as células epiteliais e 15 a 30 minutos depois, dá-se a penetração na camada mucosa. Subsequentemente o alergénio é capturado pelas CLo presentes na mucosa e pelas CDM na lâmina própria, sendo de seguida processado em pequenos péptidos e apresentado em associação com moléculas MHC I ou II na superfície celular; este complexo atinge, de seguida, os linfonodos regionais em 12 a 24h, onde interage com células T naïve (T_{H0}) estimulando a sua diferenciação em T_{H1} e T_{REG} dentro de 2 a 5 dias. Estas células posteriormente migram para a corrente sanguínea, levando assim a tolerância imunológica face ao alergénio em questão com inibição da resposta T_{H2} pré-existente.



2.5.2.1.1.2.1. Anticorpos específicos

Estão demonstrados aumentos na IgE alergénio-específica semanas após o início do tratamento durante a SLIT com pólenes (Didier *et al.*, 2007; Amar *et al.*, 2009; Horak *et al.*,

2009; Skoner *et al.*, 2010; Scadding *et al.*, 2010), mas não com ácaros (O'Hehir *et al.*, 2009); e diminuição após 12 meses de SLIT (Eifan *et al.*, 2010). Estão igualmente descritos aumentos da classe das IgG particularmente IgG4 alérgico-específica tanto em SLIT com ácaros domésticos como com pólenes (Lue *et al.*, 2006; Didier *et al.*, 2007; Amar *et al.*, 2009; Horak *et al.*, 2009; Skoner *et al.*, 2010; Scadding *et al.*, 2010; Didier *et al.*, 2013). Estes aumentos estão diretamente relacionados com o tempo e dose aplicadas e são progressivos durante, pelo menos, 2 anos (Didier *et al.*, 2007). No entanto alguns estudos indicam que estes aumentos são inferiores em magnitude, comparativamente com os verificados com a SCIT (Nouri-Aria *et al.*, 2004; Frew, Powell, Corrigan & Durham, 2006). Existem ainda alguns estudos que não verificaram quaisquer alterações nos níveis de anticorpos alérgico-específicos, utilizando SLIT (Rolinck-Werninghaus *et al.*, 2005; Keles *et al.*, 2011).

Estudos demonstraram, igualmente, aumentos da classe IgA alérgico-específicos (Skoner *et al.*, 2010; Scadding *et al.*, 2010). De facto, uma característica inerente à SLIT, que a distingue da SCIT, é a capacidade de estimulação dos níveis de IgA, tanto séricos como ao nível das mucosas (Malling, Lund, Ipsen & Poulsen, 2006; Scadding & Durham, 2011)

2.5.2.1.1.2.2. Mastócitos e eosinófilos

Está demonstrada a presença de mastócitos e eosinófilos na mucosa oral, ainda que em números relativamente baixos (Marcucci *et al.*, 2007; Allam *et al.*, 2008b), explicando assim o prurido e edema que por vezes ocorre após a administração sublingual (Incorvaia *et al.*, 2007; Canonica *et al.*, 2009). De facto, os mastócitos encontram-se em maior concentração no ducto e lobos das glândulas sublinguais, pelo que outras localizações para aplicação da SLIT – como a região do palato e vestíbulo – foram já propostas, de forma a reduzir a frequência das reações adversas locais (Allam *et al.*, 2008b).

Estudos descrevem uma associação entre a SLIT e uma redução dos níveis de eosinófilos e proteína catiónica dos eosinófilos (Passalacqua *et al.*, 1998; Ippoliti *et al.*, 2003; Lue *et al.*, 2006), enquanto outros não detetam qualquer alteração nestas células após o tratamento (Marcucci *et al.*, 2008).

2.5.2.1.1.2.3. Células T e citoquinas

Tal como ocorre na SCIT, diversos autores apontam para aumentos nos níveis periféricos de IL-10 produzida por células T e uma diminuição na resposta proliferativa das células T face a diferentes alérgenos (Bohle *et al.*, 2007; Savolainen *et al.*, 2007). No entanto, outros autores não encontram quaisquer alterações a este nível (Rolinck-Werninghaus *et al.*, 2005; Amar *et al.*, 2009; Scadding *et al.*, 2010).

Allam *et al.* (2011) demonstraram que tanto a região sublingual como a vestibular da cavidade oral são zonas de tolerância imunológica, onde predominam as respostas T_H1 e, ainda, que as células T isoladas da mucosa da cavidade oral, ao contrário das células T isoladas na pele, expressam de forma marcada TLR-2 e TLR-4 e TGF- β 1, IL-10, IFN- γ e IL-17, especialmente na região vestibular, o que confirma a atratividade desta região para administração de SLIT.

Vários estudos demonstram a capacidade da SLIT para, tal como a SCIT, induzir a diferenciação de células T_{REG} . Palomares *et al.* (2012) sugerem que as tonsilas e tecido linfóide circulante possam ser uma alternativa viável à aplicação da SLIT. Este estudo detetou números elevados – 3 vezes superiores aos níveis séricos - de células T_{REG} nas tonsilas linguais e palatinas. As CD plasmacitóides provenientes nas tonsilas demonstraram igualmente capacidade de indução de células T_{REG} .

Scadding *et al.* (2010) realizaram biópsias da mucosa sublingual em pacientes sujeitos a SLIT com pólenes em dose alta e observaram números superiores de células T_{REG} no grupo tratado com SLIT, comparativamente com o grupo ao qual foi administrado placebo. Demonstraram ainda que algumas células CD3+FOXP3+ expressam IL-10, cenário típico de indução de um fenótipo regulador nas células T locais em consequência da eficácia da ITAE. O'Hehir *et al.* (2009) avaliaram a resposta à SLIT com ácaros domésticos em 30 pacientes durante mais de 12 meses e identificaram supressão da produção de IL-5 e da proliferação de células T alérgico-específicas via TGF- β , bem como aumento transiente nas células T CD25+Foxp3+ T_{REG} .

Bohle *et al.* (2007) demonstram ainda que os mecanismos a operar são diferentes numa fase inicial e tardia do tratamento. Após 4 semanas de SLIT, há aumento das células T_{REG} , aumento da produção de IL-10 pelas células T e diminuição da proliferação das células T alérgico-específicas, bem como da produção de IL-4 e IFN- γ . Após 52 semanas de tratamento, a resposta proliferativa das células T retorna, há diminuição dos níveis de IL-10 e de células T_{REG} e aumento do IFN- γ . Estes autores concluem assim que, durante a fase tardia do tratamento com SLIT, outros mecanismos de tolerância se sobrepõem à ação inibidora das células T_{REG} produtoras de IL-10.

Weiner (2001) demonstrou ainda a indução de células T_{REG} de tipo T *helper* 3 (T_H3) produtoras de TGF- β , IL-4 e IL-10, após tratamento com SLIT.

Atualmente aceita-se que ocorre uma indução precoce das células T_{REG} , seguida por um desvio retardado da resposta T_H2 para T_H1 aos 12 meses (Keles *et al.*, 2011; Canonica *et al.*, 2014).

2.5.2.1.2. Eficácia da SLIT

Existem muitos aspetos da SLIT por estudar e definir como a dose ótima, duração ideal do tratamento, efeito a longo prazo, ação preventiva de novas hipersensibilidades e mecanismo exato de ação (Cox *et al.*, 2006; Canonica *et al.*, 2009), o que limita os estudos que visam aferir a sua eficácia e exige cautela na interpretação dos seus resultados.

A SLIT tem-se demonstrado eficaz na redução dos sinais clínicos e da necessidade de medicação concomitante, bem como na melhoria da qualidade de vida de adultos e crianças com rinite alérgica (Canonica *et al.*, 2014).

Diversas meta-análises e extensas revisões bibliográficas (Wilson, Lima & Durham, 2005; Cox *et al.*, 2006; Moingeon *et al.*, 2006; Penagos *et al.*, 2008; Lombardi *et al.*, 2009; Canonica *et al.*, 2009; Canonica *et al.*, 2014; Passalacqua, 2014) constataam a eficácia da SLIT em relação a placebo em quadros de rinite alérgica e asma em adultos e crianças. Além destas indicações, estudos recentes sugerem algum benefício clínico da SLIT em termos de dessensibilização a alergénios alimentares como o leite (Keet *et al.*, 2012) e os amendoins (Fleischer *et al.*, 2013); no entanto, é necessária mais investigação nesta área.

A OMS (Canonica *et al.*, 2014) reuniu e reviu 77 estudos aleatórios, duplamente cegos e controlados com placebo, a maioria dos quais (62) levados a cabo com pólenes e com doses muito heterogéneas entre si, concluindo que a bibliografia aponta para uma eficácia da SLIT em casos de rinoconjuntivite e asma, apesar de existirem diferenças entre alergénios. Destes 77 estudos analisados, 5 revelaram uma eficácia nula.

A evidência relativa à eficácia da SLIT com ácaros domésticos é menos consistente do que a existente para quadros sazonais. No entanto, estudos apontam para uma boa eficácia em crianças com quadro asmático (Niu *et al.*, 2006; Lue *et al.*, 2006) e adultos com quadros moderados a graves de rinite (O’Hehir *et al.*, 2009), por hipersensibilidade a ácaros domésticos.

Tal como na SCIT, também com a SLIT se coloca a questão relativa à eficácia da administração conjunta de diferentes alergénios, ao invés de apenas um. No entanto, estudos indicam benefícios clínicos iguais nos dois cenários (Didier *et al.*, 2007; Calderón, Cox, Casale, Moingeon & Demoly, 2012c). Porém, Amar *et al.* (2003) sugerem uma tendência para a monoterapia funcionar melhor.

2.5.2.1.3. SLIT *versus* SCIT

Alguns estudos compararam diretamente a eficácia destas duas modalidades de administração. Um estudo retrospectivo (Saporta, 2012) e dois prospectivos (Quirino, Iemoli, Siciliani, Parmiani & Milazzo, 1996; Eifan *et al.*, 2010) não observaram qualquer diferença na eficácia clínica entre as duas vias. De igual modo, Khinchi *et al.* (2004) num estudo

utilizando pólen de bétula não detetaram diferenças estatisticamente significativas entre a eficácia das duas modalidades. No entanto, observaram uma tendência para a superioridade da SCIT face à SLIT, dado que a primeira reduziu o índice de gravidade médio da doença para 1/3 do obtido com o tratamento placebo, enquanto que a última o reduziu apenas para 1/2. Keles *et al.* (2011) averiguaram a eficácia de um tratamento conjunto, utilizando SCIT na fase de indução e SLIT como manutenção, e concluíram que o protocolo combinado tem uma eficácia superior a cada uma das modalidades em separado, com uma ligeira superioridade da SCIT em relação à SLIT em alguns parâmetros. Por último Yukselen, Kendirli, Yilmaz, Altintas & Karakoc (2012) verificaram benefícios clínicos e laboratoriais em pacientes com rinite e asma tratados com SCIT e com SLIT. No entanto, as diferenças relativas ao grupo placebo só atingiram significado estatístico no grupo tratado com SCIT.

A OMS (Canonica *et al.*, 2014) conclui no seu artigo de revisão que a SLIT induz alterações sistémicas modestas, quando comparada à SCIT. No entanto, salienta a provável importância de mecanismos locais adicionais na mucosa oral e/ou linfonodos regionais.

Alguns estudos sugerem que o tempo necessário para observação de benefícios clínicos seja superior com a SLIT relativamente à SCIT, o que pode justificar esta tendência para uma superioridade da SCIT face a parâmetros de resposta medidos simultaneamente (Savolainen *et al.*, 2007; Keles *et al.*, 2011). Há ainda a ter presente que, ao contrário do que sucede na SCIT, a dose ótima de SLIT não está ainda definida, o que relativiza os resultados da comparação direta entre as duas (Cox *et al.*, 2006).

A SCIT tem diversas desvantagens que podem ser contornadas pela SLIT, como o desconforto do paciente devido à necessidade de injeções frequentes; custos económicos associados a deslocações ao centro de atendimento médico e perda de horas de trabalho ou escola; tempo prolongado de indução necessário até ser atingida a dose de manutenção e a possibilidade de ocorrência de reações adversas moderadas e graves (Canonica *et al.*, 2009). A SLIT é frequentemente preferida em pacientes que, por qualquer razão, não podem deslocar-se com a assiduidade necessária ao centro médico ou em crianças, grupo que tipicamente apresenta menos tolerância a injeções repetidas (Garcia, 2011). Apesar da possibilidade de administração em casa ser considerada uma das grandes vantagens da SLIT em relação à SCIT, Kiel *et al.* (2013) acreditam que esta possa ser uma possível causa da menor adesão detetada face à SCIT, no seu estudo.

2.5.2.1.4. Extratos, protocolo e doses utilizadas na SLIT

Os extratos utilizados nesta via de administração são extratos glicerinados cujo excipiente, como o nome indica, é a glicerina. Existem diferentes formas de apresentação, nomeadamente frasco com bomba doseadora, frasco com conta-gotas ou ampolas unidose.

Tal como ocorre na SCIT, também nesta a ITAE se divide na fase de indução (que geralmente dura 15 a 20 dias) e a de manutenção. A duração do tratamento situa-se, igualmente, entre 3 a 5 anos (Garcia, 2011).

Apesar da utilização frequente da SLIT, não existe ainda uma padronização dos extratos alergénicos utilizados nesta terapêutica, sendo estes quantificados pelos fornecedores em unidades diferentes como “unidades terapêuticas”, “unidades alergénicas” e “índice de alergenicidade” (Cox *et al.*, 2006; Sander, Fleischer, Meurer, Bruning & Raulf-heimsoth, 2009), impossibilitando assim a comparação entre diferentes produtos relativamente à sua potência (Larenas-Linnemann, Cox & Immunotherapy and Allergy Diagnostics Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, 2008; Canonica *et al.*, 2014).

Outra incerteza prende-se com o tipo de protocolo a utilizar, que pode ser:

- i) Pré-sazonal – Início do tratamento antes da época polínica e paragem com o começo desta;
- ii) Co-sazonal – Início do tratamento no começo da época polínica e paragem quando esta termina;
- iii) Pré-co-sazonal – Início do tratamento antes do começo da época polínica e paragem quando esta termina.
- iv) Contínuo – Administração durante todo o ano, independe da época polínica.

Uma revisão da literatura existente sugere o protocolo pré-co-sazonal iniciado, no mínimo, 8 semanas antes da época polínica, como mais eficiente (Lombardi *et al.*, 2009). Outros estudos suportam também a eficácia do protocolo pré-sazonal (Didier *et al.*, 2011; Didier *et al.*, 2013). Desta forma, é possível que o tratamento contínuo durante todo o ano seja prescindível, o que acarreta importantes consequências económicas para os pacientes.

A dose ótima da SLIT não está ainda definida e confirmada, pelo que há uma necessidade premente de estudos controlados nesta área. De facto, doses bastantes díspares foram já associadas a benefícios clínicos, nomeadamente doses 3 a 300 vezes mais altas que as padronizadas para a SCIT (Cannonica *et al.*, 2014).

2.5.2.1.5. Efeito da SLIT a longo prazo e na progressão natural da doença alérgica

Os estudos que demonstram a capacidade da SLIT de modificar o curso da doença alérgica a longo prazo, nomeadamente de parar a chamada “marcha atópica”, são ainda recentes, uma vez que a maioria dos estudos iniciais acerca desta via de administração se focavam essencialmente na sua eficácia e segurança (Cannonica *et al.*, 2009). Estudos indicam que o período de duração do tratamento com SLIT, capaz de induzir remissão dos sinais clínicos após a sua interrupção, situa-se nos 4 anos (Marogna, Spadolini, Massolo & Passalacqua, 2010). Estes resultados são sugestivos de que, de facto, a SLIT é capaz de modificar o curso natural da doença a longo termo.

Novembre *et al.* (2004), num estudo aberto, controlado e aleatório, com 113 crianças com idades entre os 5 e os 14 anos, demonstraram que, após 3 anos de SLIT, a progressão da rinite para asma foi 3.8 vezes mais frequente no grupo controlo do que no grupo que recebeu o tratamento. Durham *et al.* (2010) observaram benefícios clínicos acompanhados de alterações imunológicas que persistiram 1 ano após suspensão da SLIT. Revendo a bibliografia neste tópico, Canonica *et al.*, representado a OMS (2009 e 2014) consideraram que a taxa de prevenção da asma em crianças associada à SLIT é semelhante à descrita na SCIT e que existem atualmente evidências consistentes da eficácia a longo prazo e capacidade de alterar o curso natural da rinoconjuntivite, com a SLIT contendo pólenes. No entanto Galli *et al.*, (1994), no seu estudo com ácaros domésticos, concluíram que a SLIT não modifica o curso natural da DAh.

Estudos indicam que a SLIT é igualmente eficaz na prevenção de novas hipersensibilidades. Marogna, Spadolíni, Massolo, Canonica & Passalacqua (2004) seguiram 511 pacientes, concluindo, após 3 anos de tratamento, que a taxa de novas hipersensibilidades centrava-se nos 38 e 5,9%, para o grupo controlo e para o grupo tratado com SLIT, respetivamente.

2.5.2.1.6. Reações adversas

Uma das vantagens mais proclamadas da SLIT face à SCIT é a maior segurança, podendo ser administrada fora dos centros médicos. No entanto, precisamente pela maior parte das doses ser administrada em casa, sem supervisão médica, a precisão dos relatos de reações adversas diminui pois depende da interpretação e memória dos pacientes (Cannonica *et al.*, 2009). No entanto, a OMS (Cannonica *et al.*, 2009) fez um levantamento das reações adversas ocorridas em 104 estudos, concluindo que, de facto, a maioria destas consistem em reações locais de irritação, sendo mais frequentes na fase de indução. As reações adversas moderadas registadas consistiram em sintomas gastrointestinais, rinoconjuntivite, urticária ou combinação destes.

Até à data não estão associadas fatalidades à SLIT. No entanto, está descrita a ocorrência de reações adversas graves como reações asmáticas, dor abdominal/vómito, edema da úvula e urticária durante cerca de 48h após a administração; e um número muito reduzido de casos de anafilaxia. A frequência destas reações encontrada na mesma revisão bibliográfica foi de 1,4 reações adversas graves por cada 100,000 doses de SLIT (Cannonica *et al.*, 2009).

Estudos que se centraram numa comparação direta entre SLIT e SCIT ressaltam uma superioridade em termos de segurança associada à SLIT, sendo que nestes estudos a SLIT resultou apenas em reações locais ligeiras, ao contrário da SCIT que levou a algumas reações adversas sistémicas graves. Os autores concluíram que uma ligeira perda de eficácia face à SCIT é aceitável perante a possibilidade de um tratamento mais seguro

(Khinchi *et al.*, 2004; Eifan *et al.*, 2010; Keles *et al.*, 2011). Geralmente a SCIT não é prescrita a crianças muito pequenas, devido ao fator segurança, ao facto das injeções sucessivas poderem ser traumatizantes e pela questão de crianças muito jovens não serem capazes de verbalizar sinais precoces de reação adversa ao tratamento (Canonica *et al.*, 2009; Joint Task Force on Practice Parameters, 2007). A OMS (Canonica *et al.*, 2009) reviu a literatura acerca do uso de SLIT em crianças com idade inferior a 5 anos, concluindo que a taxa de reações adversas é, em média, 0,703867 reações adversas por cada 1000 doses, sendo a maioria de cariz ligeiro a moderado e auto-limitante. Aparentemente a SLIT é igualmente segura durante a gravidez (Shaikh & Shaikh, 2012).

Apesar de controverso, não parece existir uma correlação entre a frequência e gravidade de reações adversas e a dose administrada de SLIT, existindo estudos que empregaram doses baixas de SLIT e demonstram maior taxa de reações adversas graves, relativamente a estudos que recorreram a doses altas (Tari, Mancino & Monti, 1990; Niu, Chen, Huang, Lue & Wang, 2006). Especula-se também acerca de SLIT contendo mais de um extrato alergénico ser menos segura relativamente a SLIT com apenas um extrato na sua composição. No entanto, Agostinis *et al.* (2008) não observaram diferenças significativas na taxa de reações adversas entre as duas modalidades, num estudo com 159 pacientes adultos. Ao contrário do observado na SCIT, em que alguns autores associam protocolos rápidos como o protocolo *rush* a maiores taxas de reações adversas, na SLIT esta correlação parece não existir. Protocolos *rush*, *ultra-rush* ou ausência de fase de indução parecem ser igualmente bem tolerados com a SLIT (Rossi & Monasterolo, 2005; Gammeri, Arena, D'Anneo & La Grutta, 2005; Niu *et al.*, 2006; Canonica *et al.*, 2009).

Não são ainda claros quais os fatores de risco para o desenvolvimento de uma reação adversa derivada da administração sublingual. No entanto, a maioria dos pacientes que desenvolveram reações adversas graves ou anafilaxia após a administração de SLIT tinham asma, o que parece assim constituir um fator de risco (Simons *et al.*, 2007).

Apesar da relativa segurança associada a esta via de administração, recomenda-se que a primeira dose seja aplicada sob supervisão médica (Durham *et al.*, 2010). Ainda, atendendo ao facto de grande parte do tratamento ser aplicado em casa, sem supervisão médica, é necessário instruir o proprietário acerca do que fazer em caso de: ocorrência de reação adversa; interrupções não planeadas no tratamento; quando e o que reportar ao médico assistente; situações em que o tratamento deve ser parado (infecções orofaríngeas, abrasão oral, gastroenterite aguda, exacerbação do quadro asmático, entre outros). Deve ainda prestar-se especial atenção à capacidade dos proprietários para compreenderem e aderirem quer a estas recomendações quer ao protocolo instituído (Canonica *et al.*, 2009).

2.5.2.1.7. SLIT no tratamento da dermatite atópica

Existe uma grande lacuna em termos de estudos científicos acerca da utilização de SLIT na DAh. Uma meta-análise recentemente publicada propôs-se avaliar a eficácia a longo prazo da ITAE em pacientes com DAh. Neste trabalho foram analisados 8 estudos controlados aleatórios, dos quais seis utilizaram SCIT e dois SLIT. Os autores concluíram que o corpo de evidência existente atesta uma eficácia moderada da SLIT na DAh. No entanto, salientam o número reduzido de estudos aleatórios controlados e a grande heterogeneidade entre os estudos analisados (Bae, Choi, Park, Chung & Lee, 2013).

Apesar da escassa bibliografia e de, atualmente, a SLIT não estar indicada no tratamento da DAh (Vanbervliet *et al.*, 2012; Cox, Compalati, Kundig & Larche, 2013), estudos sugerem que é eficaz e muito bem tolerada em quadros ligeiros a moderados de hipersensibilidade a ácaros domésticos (Mastrandrea *et al.*, 2000; Petrova, Berzhets, Al'banova, Bystritskaia & Petrova, 2001; Cadario *et al.*, 2007; Pajno *et al.*, 2007; Vanbervliet *et al.*, 2012).

Utilizando um modelo murino, Vanbervliet *et al.* (2012) demonstraram que o tratamento com SLIT conduziu a uma diminuição dos níveis de células T alérgico-específicas, aumento da produção de IL-10 e diminuição da reação inflamatória após nova exposição.

Num estudo retrospectivo com 35 pacientes - 16 pacientes com DAh sem sintomatologia respiratória e 19 pacientes com DAh associada a quadro asmático ligeiro e/ou rinite alérgica - Mastrandrea *et al.* (2000) reportam um excelente perfil de segurança e eficácia associados à SLIT contendo ácaros domésticos. Os benefícios clínicos, evidentes durante o tratamento, estenderam-se também até, pelo menos, 3 anos após a sua suspensão. Nenhum dos pacientes avaliados desenvolveu posteriormente afeções respiratórias; o que sugere que a SLIT tem, de facto, eficácia clínica a longo prazo e a capacidade de alterar a progressão natural da doença. Neste estudo, é ainda evidente que, apesar de após 6 meses de tratamento serem já patentes benefícios clínicos, estes atingem valores verdadeiramente significativos após 24 meses de SLIT.

Também Pajno *et al.* (2007), num estudo controlado, aleatório, duplamente cego e com placebo, em crianças que receberam SLIT contendo ácaros domésticos durante 18 meses, concluíram que a SLIT é eficaz em quadros leves a moderados de DAh, com reduções significativas das lesões clínicas e necessidade de medicação concomitante após 9 meses de tratamento nestes pacientes.

2.5.2.2. SLIT no tratamento da dermatite atópica canina

Tal como acontece em MH, apesar da eficácia comprovada da SCIT, muitos proprietários têm reservas quanto à administração contínua de injeções subcutâneas (Griffin & Hillier,

2001; Lynch, 2012; Morris & DeBoer, 2014; Ozmen & Marsella, 2014) pelo que a via sublingual surge como uma alternativa atraente.

2.5.2.2.1. Protocolo

Esta terapêutica está apenas indicada para cães, não tendo sido ainda reportados resultados em gatos ou equinos. Nos cães, a SLIT é administrada sob a forma de bomba doseadora que dispensa gotas de solução na mucosa por baixo e lateralmente à língua. Tal como ocorre na SCIT, após determinar quais os alérgenos envolvidos na resposta alérgica através de provas alergológicas e da história clínica do paciente, os extratos alérgicos concentrados são misturados pelo fabricante e administrados em doses gradualmente crescentes durante, geralmente, 1 a 3 meses (DeBoer, 2013). Uma vez que não é possível instruir os animais de modo a manterem a formulação o maior tempo possível em contacto com a mucosa oral, os proprietários devem abster-se de apresentar água ou comida durante 5 a 10 minutos após a administração. A SLIT é formulada a partir de extratos alérgicos estabilizados em glicerina, que é palatável para a maioria dos animais, facilitando a administração (DeBoer, 2014b; Morris & DeBoer, 2014).

O protocolo implica sempre, no mínimo, administrações cada 12h e podem surgir três situações variantes possíveis:

- i) Se o animal nunca manifestou qualquer reação adversa com SCIT, efetuar o protocolo padrão, começando com o frasco de menor concentração e ir, gradualmente, aumentando;
- ii) Se o animal está a ser tratado com SCIT, sem reações adversas, e o proprietário deseja mudar para SLIT, pode passar-se automaticamente para o frasco com a concentração de manutenção, sem necessidade da fase de indução com doses crescentes;
- iii) Se o animal manifestou reações adversas à SCIT, deve iniciar-se o tratamento com SLIT com uma dose de indução mais baixa do que o habitual e prestar redobrada atenção ao aparecimento de reações adversas. Se surgir alguma reação adversa, reduzir ainda mais a dose administrada.

Não está ainda determinado, em MV, qual o período ideal de duração do tratamento com SLIT (DeBoer, 2014b).

2.5.2.2.2. Vantagens e desvantagens

A vantagem mais proclamada da SLIT centra-se, também em MV, na facilidade de administração, não sendo necessárias injeções, o que é do agrado de um número significativo de proprietários e que, conseqüentemente, aumenta a adesão à terapêutica. No entanto, surgem outras vantagens como a elevada segurança, não havendo até à data

descrição de reações anafiláticas em animais, e a possibilidade de misturar no mesmo frasco extratos fúngicos com outros extratos alergénicos e de armazenar a formulação à temperatura ambiente (dependendo do fabricante), situações geralmente contraindicadas na SCIT. Como desvantagens surge a escassez de estudos que comprovem a eficácia da SLIT; os benefícios clínicos, tal como ocorre na SCIT, não serem imediatos, sendo necessário, geralmente um período de 3 a 6 meses, para serem evidentes; protocolo exige na maioria dos casos administrações duas vezes por dia, o que pode diminuir a adesão de alguns proprietários; é possível a ocorrência de reações adversas ligeiras auto-limitantes como prurido facial, alterações gastrointestinais após administração ou agravamento transiente dos sinais clínicos (DeBoer, 2013; DeBoer, 2014b; Moris & DeBoer, 2014).

2.5.2.2.3. Seguimento do tratamento

Tal como já mencionado para a MH, também em MV é necessário reforçar a importância da adesão aos proprietários para que o protocolo seja eficaz. A administração sublingual deve ser exemplificada pelo médico veterinário aos proprietários e todas as questões e informações pertinentes devem ser revistas. Consultas de seguimento do animal são muito importantes e devem ser realizadas a cada 3 meses durante o primeiro ano de tratamento; nestas consultas deve avaliar-se a necessidade de prosseguir com a medicação concomitante, pesquisar a existência de reações adversas e/ou desenvolvimento de infeções fúngicas ou bacterianas secundárias (DeBoer, 2013; DeBoer, 2014b; Morris & DeBoer, 2014).

2.5.2.2.4. Eficácia

A bibliografia disponível acerca de SLIT em MV é extremamente escassa, pelo que existe uma necessidade de estudos que avaliem a eficácia da SLIT comparativamente à SCIT em amostras significativas e de forma controlada, aleatória e duplamente cega em cães com a forma espontânea da doença; avaliação do protocolo mais eficaz; comparação entre a eficácia com ácaros domésticos e pólenes e entre formulações contendo apenas um extrato alergénico ou extratos múltiplos; comparação da eficácia em protocolos com doses altas e doses baixas; avaliação da capacidade da SLIT de prevenir o aparecimento de novas hipersensibilidades a longo prazo (Ozmen & Marsella, 2014).

DeBoer & Morris (2012) avaliaram a eficácia da SLIT num estudo aberto com 217 cães, sendo que a resposta individual foi mensurada após, pelo menos, 6 meses de tratamento. 55% dos animais avaliados obteve uma resposta boa a excelente (sinais clínicos controlados com a SLIT sem recurso ou com recurso a pouca medicação concomitante) com a SLIT. Curiosamente, 49% dos cães que tinham obtido resposta fraca com a SCIT obtiveram resposta boa a excelente com a SLIT. Estes autores concluem assim que a SLIT

é uma alternativa eficaz e muito segura à SCIT e ressalvam ainda a quantidade considerável de proprietários que mostrou satisfação por não ter de recorrer à via de administração subcutânea.

Marsella & Ahrens (2013) foram mais longe e, além dos benefícios clínicos, mediram ainda os níveis de IgE alergénio-específica, IL-10 e TGF- β aos 4, 8 e 12 meses de tratamento com SLIT em 18 Beagles sensibilizados experimentalmente com ácaros domésticos e pólenes. Obtiveram uma diminuição das lesões clínicas, quer do grupo tratado com SLIT, quer do grupo que recebeu apenas excipiente (glicerina), facto que pode advir da ausência de contacto alergénico durante 12 meses em ambos os grupos. Observou-se igualmente aumento nos níveis de IL-10 e TGF- β comparativamente ao grupo placebo, o que sugere um aumento das células T_{REG}. Relativamente à IgE, não foram detetadas alterações estatisticamente significativas. Dois meses após a suspensão do tratamento, observou-se que algumas das alterações induzidas pela SLIT foram revertidas parcialmente, pelo que pode ser necessário prolongar o período de tratamento. Por último, não foram detetadas quaisquer reações adversas no grupo tratado com SLIT, pelo que se confirma assim a grande segurança associada a esta via de administração.

De igual modo, um estudo aberto que visou averiguar a eficácia da SLIT, em 10 cães com hipersensibilidade a ácaros domésticos, obteve uma eficácia de 72,5% sob o ponto de vista subjetivo dos proprietários e reduções significativas na escala de CASESI-03, na escala visual do prurido e na necessidade de medicação antialérgica concomitante. Foram ainda detetados uma diminuição significativa dos níveis de IgE e aumento dos de IgG alergénio-específicos, correlacionando-se este aumento de forma positiva com a eficácia do tratamento (DeBoer *et al.*, 2010).

Em suma, e apesar da inexistência de estudos diretos comparativos, alguns autores sugerem taxas de eficácia muito semelhantes entre a SCIT e a SLIT, em cães com hipersensibilidade a ácaros domésticos (DeBoer & Morris, 2012; Marsella, 2012).

2.5.2.3. Perspetivas futuras

A utilização de alergénios recombinantes revela-se uma ferramenta promissora no futuro da ITAE. Atualmente são utilizados na prática clínica, no diagnóstico alergológico avançado e no futuro serão, possivelmente, utilizados na ITAE. De facto, a biotecnologia atual permite a síntese de proteínas recombinantes, cuja vantagem mais evidente se prende com o facto de estarem completamente caracterizadas do ponto de vista físico, químico e imunológico. Vacinas sublinguais de segunda geração estão a ser desenvolvidas com base em alergénios recombinantes, possivelmente formulados com adjuvantes da resposta T_{H1} e células T_{REG} e/ou sistemas vetores especialmente direcionados para as CL_O (Allam *et al.*, 2008a; Canonica *et al.*, 2014).

De igual forma, o uso de adjuvantes nas preparações de SLIT é também um importante campo de investigação futura. Os adjuvantes são substâncias com o potencial de aumentar a imunogenicidade, isto é, a capacidade de estimular o sistema imunitário, de antígenos ou alérgenos; a sua utilização tem como objetivo ampliar o efeito terapêutico obtido, modulando o sistema imunitário e desta forma permitir a diminuição das doses necessárias, simplificar os protocolos terapêuticos e aumentar a segurança das preparações utilizadas (Moingeon *et al.*, 2006; Canonica *et al.*, 2014). Os adjuvantes que têm sido estudados em modelos murinos, com capacidade modulatória da polarização das células T na SLIT, são ligandos dos TLR. Certas estirpes de bactérias probióticas, como os lactobacilos, constituem potenciais adjuvantes, uma vez que possuem grande capacidade de indução da produção de IL-10 por parte das células T (Smits *et al.*, 2005; Moingeon & Mascarell, 2012). Smits *et al.* (2005) demonstram que as espécies *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus casei*, mas não *Lactobacillus plantarum*, ativam as CD levando à indução de células T_{REG}; estas células, por sua vez, produzem níveis aumentados de IL-10 e inibem a proliferação das células T. Desta forma, a adição de ligandos dos TLR - como o lípido A monofosforilado - aos extratos alérgenos sinaliza e reforça as propriedades imunoreguladoras das CL_O, otimizando assim a eficácia e segurança da SLIT (Moingeon *et al.*, 2006; Allam *et al.*, 2008a).

IV. Resultados de imunoterapia alérgico-específica sublingual em cães atópicos, no concelho de Oeiras: estudo retrospectivo.

3.1. Objetivos

Os objetivos da presente dissertação dividem-se em duas fases:

- I) Análise de 72 painéis alérgicos obtidos por serologia, averiguando quais os alérgenos, género e raças predominantes.
- II) Análise da eficácia do tratamento com SLIT em 22 cães atópicos. Para este efeito averiguou-se os resultados clínicos na perspetiva do dono - através da realização de um questionário – bem como de forma objetiva - através dos registos médicos, recorrendo à redução na medicação antialérgica concomitante necessária para controlo dos sinais clínicos.

3.2. Material e métodos

Fase I

Amostra populacional e critérios de inclusão

Foram incluídos nesta etapa todos os cães diagnosticados clinicamente com DAc no Hospital Veterinário VetOeiras – HVCLC e que realizaram subsequentemente provas alergológicas serológicas através do laboratório Univet, na Universidade Autónoma de Barcelona, especializado em dermatologia veterinária, entre os anos 2010-2014. Desta forma, a amostra populacional é constituída por 72 cães.

Diagnóstico

Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico de DAc foi realizado, em todos os casos, pelo médico veterinário responsável pelo departamento de dermatologia do Hospital Veterinário VetOeiras – HVCLC. Este diagnóstico foi feito sempre com base na presença de anamnese e sinais clínicos compatíveis com a doença, raspagens cutâneas negativas, controlo ectoparasitário e resposta negativa a uma dieta hipoalérgica administrada de forma consecutiva e exclusiva durante 8 semanas.

Diagnóstico laboratorial

Após estabelecimento do diagnóstico clínico, o soro dos animais foi encaminhado para o laboratório Univet, para realização de provas alergológicas serológicas, de forma a aferir quais os extratos alergénicos a incluir no tratamento de hipossensibilização.

Os testes serológicos conduzidos pela Univet são realizados através do método de ELISA, utilizando uma combinação de diferentes anticorpos monoclonais, que reconhecem até 3 epitopos diferentes da molécula IgE (Univet, 2015).

Análise estatística

Nesta etapa do presente estudo foi feita uma análise estatística descritiva, recorrendo ao programa Microsoft Office Excel 2007®, de forma a averiguar quais as raças e género mais significativamente afetados nesta amostra e quais os alergénios mais frequentemente envolvidos no desenvolvimento da DAC.

Fase II

Amostra populacional

A amostra populacional da presente fase é constituída por 44 canídeos diagnosticados com DAC no Hospital Veterinário VetOeiras - HVCLC e submetidos a provas alergológicas por método serológico, realizadas pelo laboratório Univet, entre os anos 2012-2014. Destes animais, 22 foram submetidos a tratamento de hipossensibilização com SLIT, constituindo o grupo de estudo. Os restantes 22 optaram por controlo dos sinais clínicos através de medicação antialérgica sintomática, servindo assim de grupo controlo.

Critérios de inclusão e exclusão

Grupo de estudo

Foram incluídos neste grupo todos os animais:

- i) Diagnosticados clinicamente com DAC;
- ii) Com painel alérgico com resultados positivos a uma ou mais espécies alergénicas;
- iii) Submetidos a tratamento de hipossensibilização com SLIT, tendo respeitado o protocolo na íntegra;
- iv) Com registos clínicos completos;
- v) Cujos donos concordaram com o preenchimento do questionário.

Neste sentido, na fase inicial deste estudo foram seleccionados 28 cães submetidos a tratamento de hipossensibilização com SLIT, no entanto foram excluídos 6 animais: 4 devido

a registros clínicos incompletos, 1 por recusa do proprietário em participar e o último por incumprimento do protocolo terapêutico.

Grupo de controlo

Foram incluídos neste grupo 22 animais submetidos a diagnóstico clínico e laboratorial de DAc, realizados pelo mesmo clínico e laboratório que os animais do grupo de estudo. Os critérios de inclusão centraram-se na tentativa de emparelhamento com os animais do grupo de estudo em relação a idades de início dos sinais clínicos, raça, género e famílias alérgicas envolvidas no processo alérgico.

Imunoterapia alérgico-específica sublingual

Preparação para ITAE de administração sublingual

A preparação para ITAE disponibilizada pelo laboratório Univet (originária do laboratório LETI) é composta por extratos alérgicos aquosos, em solução salina de glicerol a 50% e fenol a 0,4%, com os quais se preparam soluções terapêuticas individuais de acordo com os resultados obtidos no painel alérgico serológico e subsequente composição especificada pelo médico veterinário assistente. Nas preparações para ITAE administradas ao grupo de estudo, foram incluídos alérgenos de dois grupos: ácaros e pólenes; não havendo separação por grupo em frascos distintos. O número de alérgenos incorporados na preparação variou entre 1 e 6, situando-se a média nos 4,1 alérgenos por vacina ($\pm 1,2$).

A preparação para ITAE é de administração exclusivamente sublingual. Como ilustra a figura 4, mantendo o frasco na vertical e colocando a cânula na zona sublingual, deve pressionar-se o aplicador tantas vezes quantas as doses que se pretendem administrar.

Figura 3 Frascos que constituem o protocolo inicial de SLIT.



Figura 4 Exemplificação da administração sublingual da ITAE.



Protocolo SLIT

Os 22 animais que compõem o grupo de estudo foram submetidos ao protocolo de tratamento inicial com SLIT, que se encontra descrito na tabela 3. O tratamento inicial é composto por 2 frascos de 6ml, de igual concentração. A concentração alergénica varia consoante o alergénio em causa, no entanto situa-se sempre entre 30 a 300 HEP/ml. O protocolo pode sempre ser alterado a critério do clínico assistente em função da resposta do paciente à dosagem padronizada.

Avaliação subjetiva - elaboração do questionário

O questionário (anexo II) aplicado aos donos foi elaborado, parcialmente, com base no questionário de seguimento ao tratamento com ITAE, disponibilizado pelo laboratório Univet. Está organizado em 4 secções, totalizando 13 perguntas distribuídas em questões fechadas do tipo escolha múltipla e escala de resposta e uma pergunta facultativa de resposta aberta. Este questionário foi apresentado presencialmente aos donos, sempre que possível; em alternativa, foi realizado por contacto telefónico. Foi pedido aos donos que remetessem temporalmente as suas respostas ao final do protocolo inicial, isto é, 7 meses após o seu início; com exceção da pergunta referente aos efeitos adversos, passíveis de ocorrer logo após a primeira administração de SLIT. Sempre que possível e justificável, as respostas dadas pelos donos foram corroboradas através dos registos médicos do animal. A primeira secção (A) tem como objetivo a caracterização da amostra em estudo, aferindo a raça, género, idade atual, idade do animal quando surgiram os sinais clínicos de DAC e quando este iniciou o tratamento com SLIT. Os donos dos animais pertencentes ao grupo controlo apenas foram inquiridos relativamente à idade em que surgiram os primeiros sinais clínicos de DAC.

Tabela 3 Protocolo inicial de SLIT.

Semana	Número de doses, de 2 ^a a 6 ^a
1	1
2	1
3	2
4	2

Mês	
2	2
3	2
4	2
5	2
6	2

Na secção B, pede-se aos donos que avaliem, com recurso a escalas analógicas, a presença e intensidade, antes do início e após o final do protocolo inicial de SLIT, o prurido, máculas/pápulas e eritema do animal. Para avaliação do prurido é facultada uma escala visual analógica validada, que varia entre 0 – ausência de prurido - e 10 – prurido intenso e constante (Rybníček, Lau-Gillard, Harvey, & Hill, 2009). Da mesma forma, para aferir a presença e grau de gravidade de máculas, pápulas e eritema são apresentadas escalas analógicas onde 0 corresponde a ausência da lesão em questão e 10 a pele lesionada praticamente na sua totalidade. Relativamente a esta secção, foi igualmente pedido aos donos dos animais pertencentes ao grupo controlo que avaliassem o prurido do seu cão, através da mesma escala visual analógica, com um intervalo de 7 meses entre as avaliações, para se poder tecer comparações entre a resposta final, nos dois grupos.

Para avaliar a facilidade de aplicação do tratamento, bem como os efeitos adversos passíveis de surgir secundários ao mesmo, realizou-se a secção C. Os donos foram inquiridos primariamente acerca da existência de possíveis efeitos adversos associados ao tratamento e, em caso de resposta afirmativa, pediu-se que situassem os mesmos numa

categoria: prurido local na zona perioral, prostração, angioedema e efeitos adversos de foro gastrointestinal. As categorias foram selecionadas de acordo com os efeitos adversos mais comumente associados à SLIT em humanos (Canonica *et al.*, 2009) uma vez que não existe ainda informação a este nível, em cães. Por último, a estes donos foi ainda pedido que referissem quanto tempo após o início do tratamento surgiram os efeitos adversos observados.

A secção D foi desenvolvida com o intuito de averiguar como é que o proprietário classifica a eficácia do tratamento, no final do protocolo inicial. Aos donos que classificaram a resposta ao tratamento entre razoável e muito boa, foi inquirida ainda a presença de recidivas dos sinais clínicos, após a paragem da SLIT. Em caso de resposta afirmativa, foi perguntado quanto tempo após a paragem do tratamento, a recidiva ocorreu. Esta secção incluía originalmente uma questão acerca de quanto tempo após o início do tratamento surgiram os primeiros benefícios clínicos; no entanto, pela grande dificuldade manifestada pelos donos na sua resposta, a questão foi eliminada.

Avaliação objetiva – redução na medicação antialérgica concomitante

Para complementar a avaliação subjetiva dos donos, recorreu-se aos registos clínicos da amostra de forma a determinar a medicação antialérgica concomitante utilizada antes do início da SLIT e aquando da sua suspensão, 7 meses após o seu início, no grupo de estudo, e em igual período no grupo controlo. No grupo estudo foi ainda feito um seguimento, 12 meses após o início do tratamento, nos 20 animais cujos tutores não solicitaram um 2º frasco de manutenção, para averiguar a necessidade de continuação da SLIT.

Atendendo aos fármacos mais frequentemente prescritos pelo clínico para controlo sintomático da DAc e para facilitar a análise dos dados, os animais do grupo de estudo foram distribuídos por 4 graus distintos, de acordo com o grau de intervenção medicamentosa que sofreram aos 7 e 12 meses, respetivamente, após o início do tratamento, em relação à medicação que tomavam antes de iniciarem o tratamento com SLIT. Os animais do grupo controlo foram igualmente inseridos num grupo de intervenção medicamentosa após 7 meses de tratamento antialérgico sintomático (tabela 4).

A medicação concomitante mais frequentemente utilizada pelo clínico e que, desta forma, foi monitorizada e registada em cada animal, consiste em:

- Ciclosporina (Atopica®, Novartis): Fármaco imunomodulador que auxilia no controlo do prurido em 75% dos cães atópicos (Hnilica, 2011). A dose administrada pelo clínico assistente foi de 5mg/kg PO por dia, de 48 em 48 ou 72 em 72h, consoante a gravidade dos sinais clínicos.

- Acetonido de triancinolona, 2 mg/ml (Retardoesteróide®, Calier): O acetonido de triancinolona, administrado pela via injetável, consiste num GC sintético, de início de ação lento e longa duração (Adams, 2001). A dose administrada é, normalmente, de 0,22mg/kg. O seu efeito persiste durante 7 a 15 dias; se os sintomas recorrerem pode repetir-se a administração ou passar para um protocolo oral (Plumb, 2008).
- Aceponato de hidrocortisona 0,584 mg/ml (Cortavance®, Virbac): Este GC diéster, em solução para pulverização cutânea, foi prescrito para utilização em caso de emergência, em zonas de prurido localizado. Infelizmente, não foi possível mensurar a frequência de utilização deste fármaco, apenas se foi ou não necessário o seu uso.
- Champô hipoalérgénico (Dermocanis Alercure®, Esteve): Champô hipoalergénico mais frequentemente prescrito, na ausência de infeções cutâneas, bacterianas ou fúngicas. Tem proteínas e ácidos gordos essenciais polinsaturados na sua composição. A frequência do banho varia grandemente consoante a disponibilidade dos donos. No entanto, recomenda-se que o intervalo entre banhos, em cães atópicos, não exceda os 7 dias. Alguns autores recomendam o banho diário devido aos benefícios anti-pruriginosos que advêm da hidratação cutânea ou mesmo devido a remoção dos aeroalergénios presentes na superfície da pele (Griffin, 2014).

Resposta final à terapêutica instituída

De forma a agregar a classificação do prurido dos animais dada pelos donos – avaliação subjetiva – com o grau de intervenção medicamentosa a que estes pertencem – avaliação objetiva - e, subseqüentemente averiguar a existência de associações estatisticamente significantes com outros parâmetros, bem como comparações da resposta nos dois grupos, foi criada a seguinte chave de categorias de resposta ao tratamento utilizado (tabela 5).

Tabela 4 Graus de intervenção medicamentosa em que os animais se inserem de acordo com a medicação antialérgica sintomática que estão a tomar 7 meses após o início do tratamento escolhido, SLIT (grupo de estudo) ou medicação antialérgica sintomática (grupo controlo).

Fármaco	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Ciclosporina	x	x	Redução de dose	Aumento ou manutenção de dose
Acetonido de triancinolona	x	x	x	✓
Aceponato de hidrocortisona	x	✓	✓/x	✓/x
Champô hipoalergénico	✓/x	✓/x	✓/x	✓/x

✓ - fármaco passível de ser administrado; x - fármaco não administrado.

Tabela 5 Classificação de resposta final à terapêutica instituída, de acordo com o grau de prurido atribuído pelos donos e grau de intervenção medicamentosa, 7 meses após o início do tratamento escolhido, SLIT (grupo de estudo) ou medicação antialérgica sintomática (grupo controlo).

Resposta	Nível de prurido no final do tratamento	Grau de intervenção medicamentosa no final do tratamento
Boa/ Muito boa	≤ 2	1
Razoável/ Boa	3 - 5	1, 2 ou 3
Nula/ Baixa	≥ 5	4

Análise estatística

Utilizou-se o programa *Microsoft Office Excel 2007* para fazer a análise estatística descritiva de todas as secções do questionário apresentado aos donos, com exceção da secção B.

Na restante análise estatística, recorreu-se ao programa Ri386 3.1.0 ® (R Core Team, 2014). Na secção B do questionário, para verificar a evolução do prurido antes do início e após o final do tratamento com SLIT, em ambos os grupos, recorreu-se ao teste *repeated measures ANOVA*; relativamente à evolução das lesões máculas/pápulas e eritema, no grupo de estudo, através do teste *Shapiro-Wilk* concluiu-se que as variáveis não tinham uma distribuição normal, optando-se portanto por utilizar o teste não paramétrico de *Wilcoxon* para amostras emparelhadas. Este teste foi ainda utilizado para aferir a existência de diferenças significativas entre a média de intervenção medicamentosa do grupo de estudo, aos 7 e 12 meses após o início do tratamento com SLIT. Para analisar a diferença de médias do grau de intervenção medicamentosa a que os animais pertenciam, 7 meses após o início do tratamento, entre o grupo de estudo e o grupo de controlo, recorreu-se ao teste não paramétrico de *Kruskall-Wallis*.

Para verificar se existiam diferenças entre o grupo de estudo e o grupo de controlo relativamente às médias das diferentes classificações de resposta final à terapêutica instituída, utilizou-se o teste do *qui* quadrado. Pretendeu-se ainda averiguar a existência de associação entre a resposta final ao tratamento (tabela 5) no grupo de estudo e a idade em que surgiram os primeiros sinais clínicos de DAC, idade em que iniciaram o tratamento com SLIT, tempo durante o qual manifestaram a doença antes de recorrerem à SLIT e estação do ano em que realizaram a SLIT; recorreu-se ao teste não paramétrico *Kruskall-Wallis* para analisar a diferença de médias entre grupos de variáveis quantitativas, quando a distribuição não seguia a normalidade e o teste paramétrico *one-way ANOVA*, quando a distribuição era normal. Para avaliar as frequências de variáveis qualitativas entre grupos foi usado o teste do *qui* quadrado. Ainda, para averiguar a concordância entre a avaliação subjectiva da eficácia do tratamento dada pelos donos no questionário aplicado e a resposta final obtida pelos parâmetros clínicos, realizou-se o teste *Cohen's kappa* (pacote irr do Ri386 3.1.0), com uma medida de ponderação quadrática.

Neste estudo, foi considerado um intervalo de confiança de 95%, ou seja, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

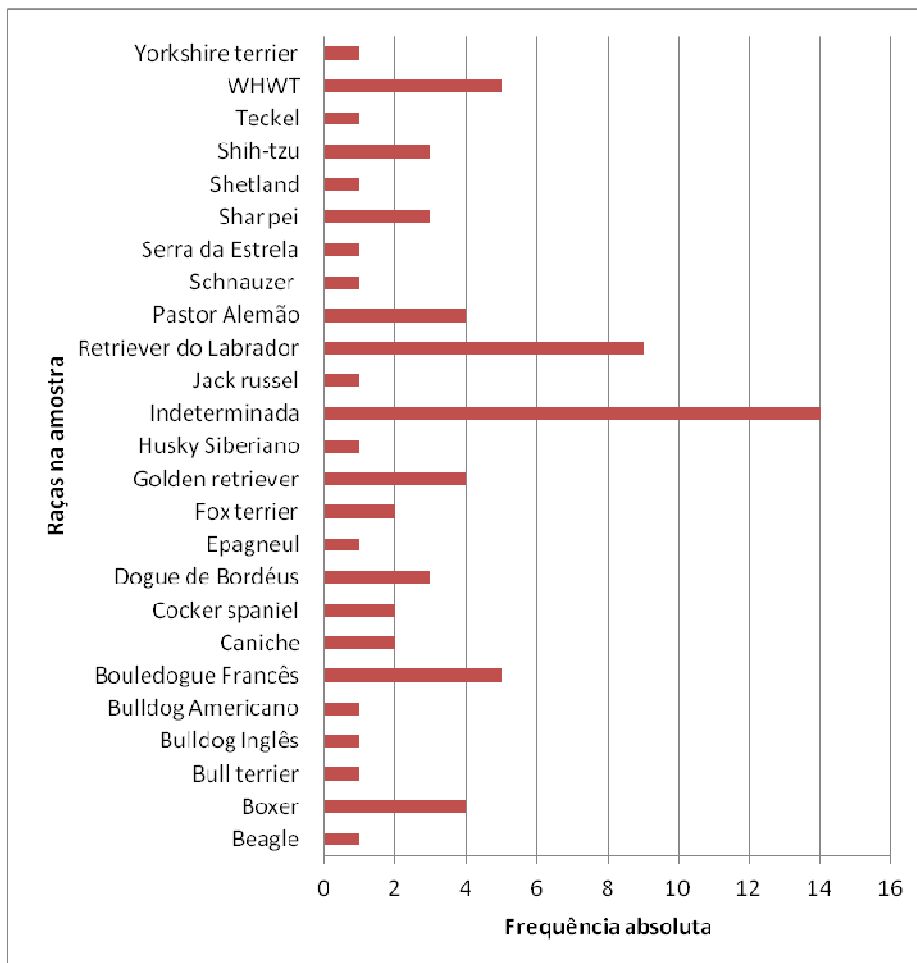
Resultados

Fase I

Nesta fase foram seleccionados 72 cães diagnosticados com DAC e submetidos a provas alergológicas serológicas. Esta amostra é composta por 37 fêmeas (51,4%) e 35 machos

(48,6%). Como ilustra o gráfico 1, estes animais distribuem-se por 25 raças distintas, sendo a raça indeterminada a mais prevalente (19,4%), seguida pelo Retriever do Labrador (12,5%).

Gráfico 1 Distribuição da amostra por raças.



Dos 72 animais testados, 12 (16,7%) obtiveram um painel alérgico negativo a todos os aeroalergénios testados. O grupo de aeroalergénios que originou mais respostas positivas foi o dos ácaros (47/72), seguindo-se os grupos dos pólenes (32/72), dos fungos (22/72) e, por ultimo, a saliva de pulga (2/72) (Gráfico 2). Dentro dos pólenes, o grupo mais prevalente foi o das gramíneas (25/32), seguindo-se os pólenes de ervas daninhas (21/32) e o grupo dos pólenes de árvores (11/32). A média de sensibilizações por cada animal testado foi de 4,8(±4,5).

A tabela 6 demonstra a frequência de respostas positivas a cada aeroalergénio testado, individualmente. Os aeroalergénios com maior número de sensibilizações foram o ácaro do pó *D. farinae* (55,6%), seguido por *A. siro* e *T. putrescentiae* (ambos com 54,2%) e *D. pteronyssinus* (37,5%).

Gráfico 2 Distribuição das sensibilizações obtidas nas provas alergológicas, por grupo de aeroalergénios.

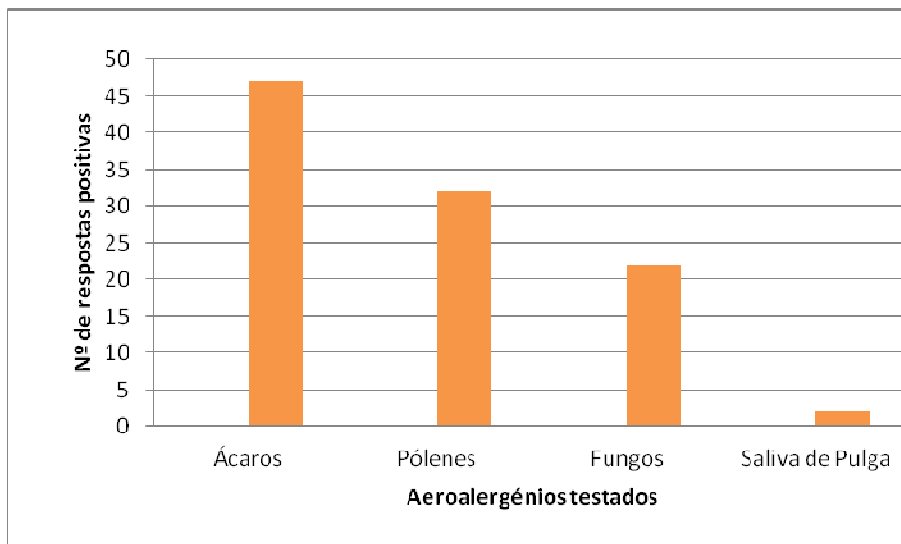


Tabela 6 - Frequências das respostas positivas obtidas nas provas alergológicas, por aeroalergénios individuais (n=72).

Grupo	Alergénios Nome	Frequência absoluta	Frequência relativa[IC95%]
Pólenes Gramíneas	Rabo-de-gato (<i>Phleum pratense</i>)	16	22,2%[12,6;31,8]
	Dactila (<i>Dactylis glomerata</i>)	17	23,6%[13,8;33,4]
	Poa-dos-prados (<i>Poa pratensis</i>)	15	20,8%[11,5;30,2]
	Azevém perene (<i>Lolium perenne</i>)	16	22,2%[12,6;31,8]
	Gramma bermuda (<i>Cynodon dactylon</i>)	20	27,8%[17,4;38,1]
Pólenes de ervas	Erva-de-São-João (<i>Artemisia vulgaris</i>)	13	18,1%[9,2;27,0]

daninhas	Azeda (<i>Rumex acetosa</i>)	15	20,8%[11,5;30,2]
	Erva-de-ovelha (<i>Plantago lanceolata</i>)	9	12,5%[4,9;20,1]
	Parietária (<i>Parietaria sp.</i>)	5	6,9%[1,1;12,8]
	Ansarina-branca (<i>Chenopodium album</i>)	9	12,5%[4,9;20,1]
Pólenes de árvores	Plátano (<i>Platanus occidentalis</i>)	8	11,1%[3,9;18,4]
	Oliveira (<i>Olea europaea</i>)	5	6,9%[1,1;12,8]
	Bétula (<i>Betula pendula</i>)	3	4,2%[-0,4;8,8]
	Cipreste (<i>Cupressus sempervirens</i>)	2	2,8%[-1,0;6,6]
Ácaros	<i>Dermatophagoides farinae</i>	40	55,6%[44,1;67,0]
	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	27	37,5%[26,3;48,7]
	<i>Acarus siro</i>	39	54,2%[42,7;65,7]
	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	39	54,2%[42,7;65,7]
	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	18	25%[15,0;35,0]
Fungos	<i>Alternaria sp.</i>	3	4,2%[-0,4;8,8]
	<i>Aspergillus sp.</i>	5	6,9%[1,1;12,8]
	<i>Penicillium sp.</i>	2	2,8%[-1,0;6,6]
	<i>Malassezia sp.</i>	16	22,2%[12,6;31,8]
Pulga	Saliva da pulga	2	2,8%[-1,0;6,6]

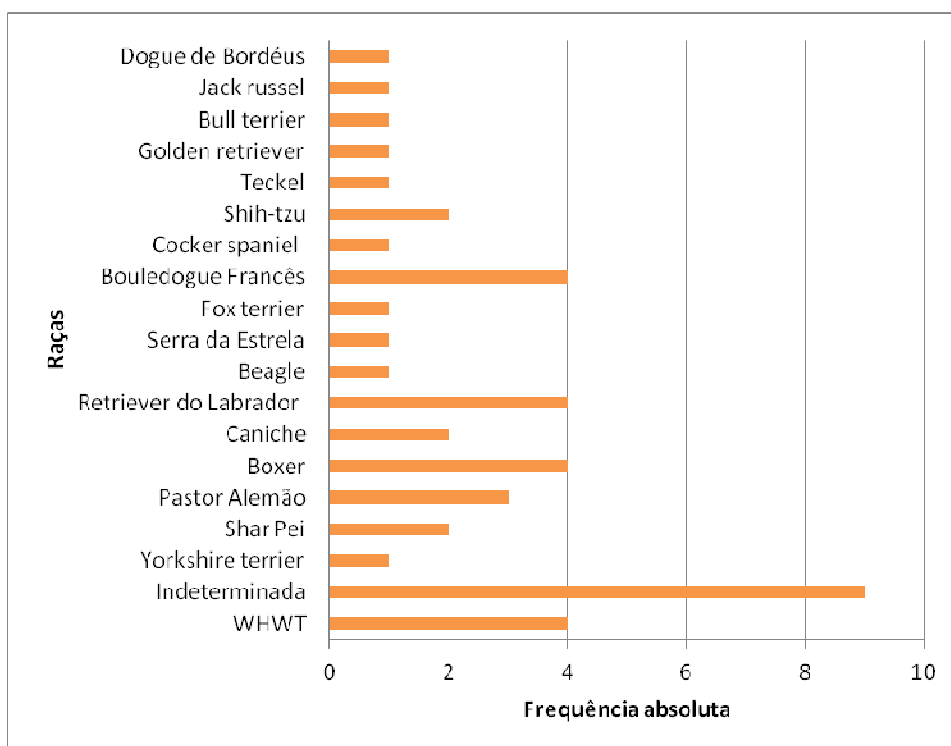
Fase II

Avaliação subjetiva - Questionário

Secção A – Caracterização da amostra

Dos 44 animais cujos proprietários responderam a esta secção do questionário, 26 pertenciam ao género feminino (59,1%) e 18 ao masculino (40,9%). Os 44 cães distribuíram-se por 18 raças diferentes sendo a raça indeterminada a mais frequente (20,5%).

Gráfico 3 Distribuição da amostra por raça.



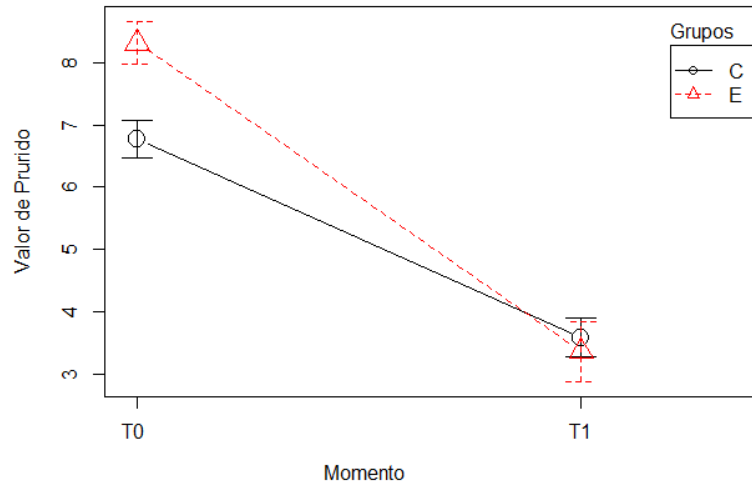
Relativamente à idade em que surgiram os primeiros sinais clínicos de DAC, no grupo de estudo a média foi de 18,5 meses (entre 3 e 60 meses) e no grupo controlo 23,4 meses (entre 3 e 84 meses). Nos 22 animais que constituem o grupo de estudo, a idade média com que iniciaram o tratamento com SLIT foi $51,5 \pm 33,2$ meses e o tempo médio durante o qual manifestaram sinais de DAC antes de iniciarem o tratamento situou-se nos $33,4 \pm 20,6$ meses.

Secção B – Escalas visuais analógicas de classificação de prurido, máculas/pápulas e eritema.

Analisou-se, em ambos os grupos, a variação dos valores médios de prurido antes do início (T0) e após o final (T1) do tratamento com SLIT no grupo de estudo e em igual período no

grupo de controlo sujeito a medicação antialérgica sintomática e verificou-se que existem diferenças na relação entre grupos, em função do valor de prurido ($p < 0,05$) (Gráfico 4).

Gráfico 4 Variação do valor de prurido ao longo do tempo, nos grupo de estudo (E) e de controlo (C).



Os proprietários dos animais no grupo de estudo tiveram ainda de classificar a presença e gravidade das lesões máculas/pápulas (Gráfico 5) e eritema (Gráfico 6) antes do início (T0) e após o final (T1) do protocolo inicial de SLIT.

Gráfico 5 Valores médios de intensidade das máculas e pápulas, antes do início (T0) e após o final (T1) do tratamento com SLIT.

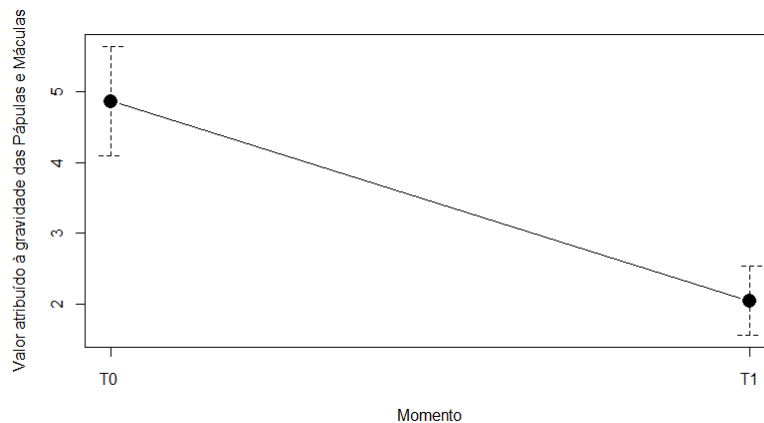
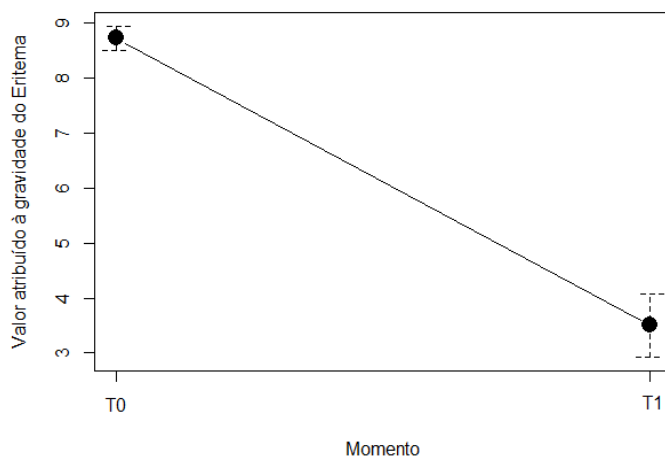


Gráfico 6 Valores médios de intensidade do eritema, antes do início (T0) e após o final (T1) do tratamento com SLIT.



Tanto no caso das máculas e pápulas ($p < 0,01$) como do eritema ($p < 0,001$) verificaram-se diferenças estatisticamente significativas, após o tratamento com SLIT.

Secção C – Reações adversas e facilidade de aplicação da SLIT.

Dos 22 donos cujos cães receberam o tratamento com SLIT, 3 (13,6%) reportaram a suspeita de reações adversas associadas à aplicação da vacina sublingual; destes 3, 2 (66,7%) reportaram sinais gastrointestinais e 1 (33,3%) referiu o sinal prostração.

Quanto à facilidade de aplicação, os donos de 19 animais (86,4%) consideraram a aplicação fácil face a 1 (4,5%) razoável e 2 complicada (9,1%).

Secção D – Eficácia do tratamento, na perspetiva do dono.

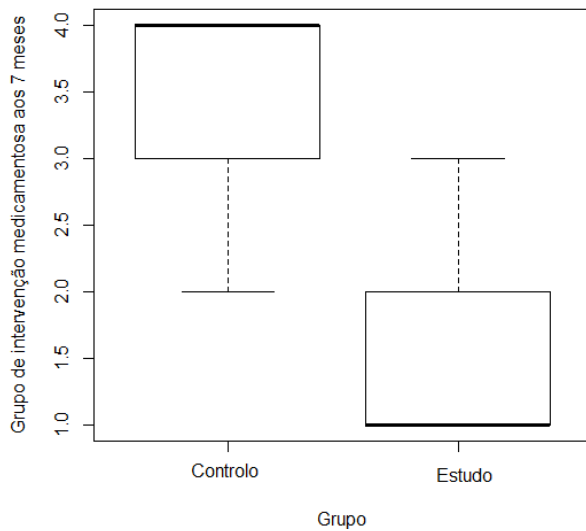
Quando questionados sobre a eficácia do protocolo inicial de SLIT, as respostas repartiram-se equitativamente entre a classificação “Boa/Muito boa” e Razoável/Boa”, com 10 (45,5%) respostas cada, respetivamente. Dois proprietários (9,1%) classificaram a resposta como “Nula/Baixa”.

Dos 20 animais que, na perspetiva dos seus donos, tiveram uma resposta razoável a muito boa à SLIT, 12 (60%) recidivaram após o final do tratamento. O tempo médio entre o final do tratamento e nova recidiva foi $5,1 \pm 4,6$ meses.

Avaliação objetiva – Graus de intervenção medicamentosa.

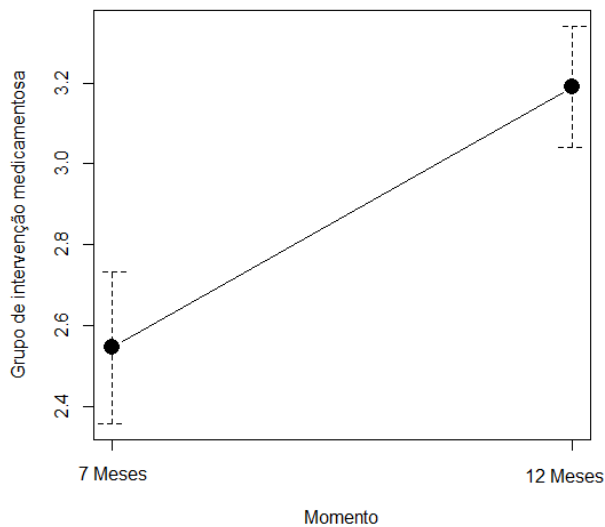
Sete meses após o início da terapêutica existem diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as médias do grau de intervenção medicamentoso em que os animais se inserem, entre o grupo de estudo e de controlo: o grupo de controlo tem uma média de intervenção medicamentosa concomitante superior à do grupo de estudo (Gráfico 7).

Gráfico 7 Grau de intervenção medicamentosa em que os animais se inserem, 7 meses após o início do tratamento, segundo o grupo de estudo e de controlo.



Analisando a média de valores do grau de intervenção medicamentosa no grupo de estudo, verifica-se uma subida estatisticamente significativa ($p < 0,001$) dos 7 para os 12 meses após o início do tratamento com SLIT (Gráfico 8).

Gráfico 8 Médias dos valores de grau de intervenção medicamentosa aos 7 e 12 meses após início do tratamento com SLIT, no grupo de estudo.

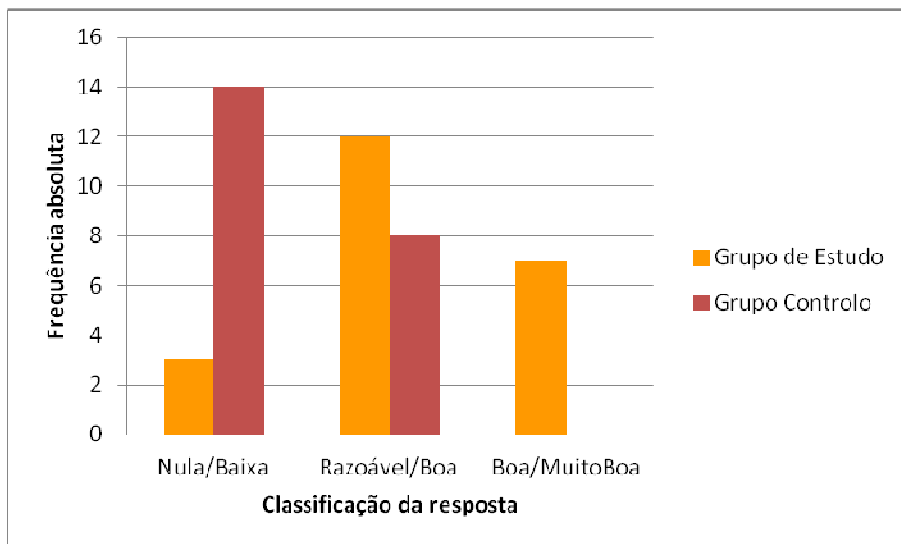


Resposta final à terapêutica instituída

Existiram diferenças estatisticamente significativas entre a resposta final à terapêutica obtida pelos diferentes grupos ($p < 0,001$). No grupo de estudo, 7 animais (31,8%) conseguiram controlar os sinais clínicos de DAC com recurso apenas à SLIT e, em alguns casos,

combinada com champô hipoalergénico sendo que, no geral, 19 animais (86,4%) responderam positivamente à imunoterapia.

Gráfico 9 Frequências absolutas da classificação da resposta à terapêutica, SLIT ou sintomática, consoante o grupo, ao final de 7 meses de tratamento.



Na análise do grau de concordância entre a resposta final à terapêutica com SLIT, obtida através de critérios clínicos, como a redução do nível de prurido e a redução de medicação antialérgica concomitante necessária para controlo dos sinais clínicos, e a eficácia desta na perspetiva dos donos dos animais, obteve-se uma concordância moderada ($k=0,581$; $p<0,01$) (Landis & Koch, 1977 citado por Houe, Ersbøll & Toft, 2004) (tabela 8).

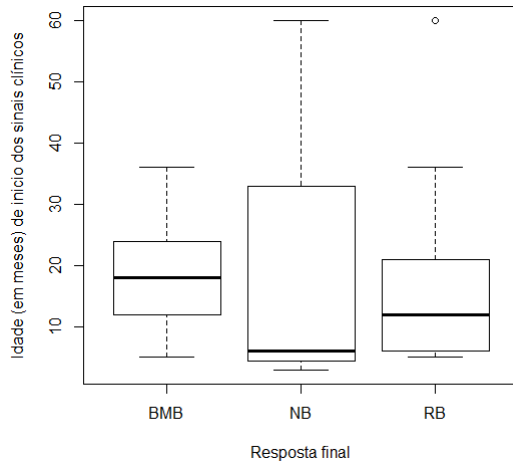
Tabela 7 Comparação entre classificações de resposta à terapêutica com SLIT dadas pelos tutores e através de critérios clínicos como a diminuição do nível de prurido e da necessidade de medicação antialérgica sintomática concomitante.

Resposta à terapêutica com SLIT	Classificação de resposta dada por:	
	Donos	Critérios clínicos
Boa/Muito boa	10	7
Razoável/Boa	10	12
Nula/Baixa	2	3

Relativamente ao grupo de estudo, não existiram diferenças estatisticamente significativas quer entre a idade dos animais quando surgiram os primeiros sinais clínicos de DAC ($p=0.8758$), a idade quando iniciaram o tratamento com SLIT ($p=0.7618$), o tempo durante o qual manifestaram a doença antes de realizar o tratamento com SLIT ($p= 0.363$) e a estação

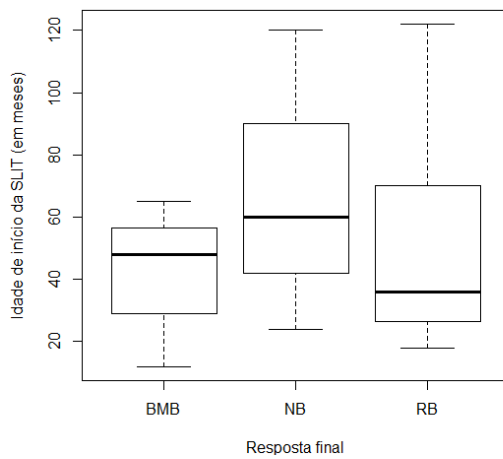
do ano em que realizaram a SLIT ($p=0.4436$) e a resposta final à terapêutica obtida pelos animais.

Gráfico 10 Resposta final à terapêutica de acordo com a idade em que surgiram os sinais clínicos de DAC.



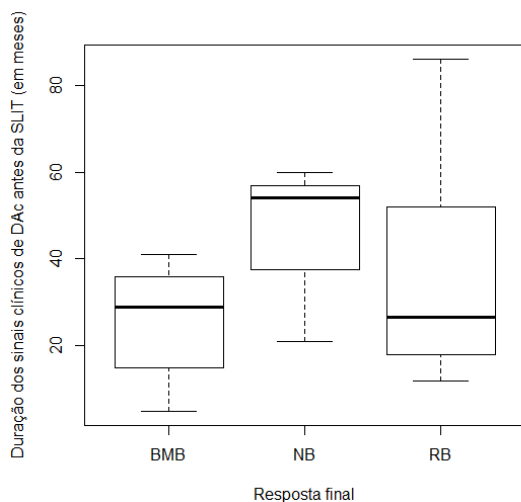
BMB – Boa/Muito boa; NB – Nula/Baixa; RB – Razoável/Boa.

Gráfico 11 Resposta final à terapêutica de acordo com a idade com que os animais iniciaram a SLIT.



BMB – Boa/Muito boa; NB – Nula/Baixa; RB – Razoável/Boa.

Gráfico 12 Resposta final à terapêutica de acordo com o tempo durante o qual os animais manifestaram sinais clínicos de DAc antes de iniciarem a SLIT.



BMB – Boa/Muito boa; NB – Nula/Baixa; RB – Razoável/Boa.

Tabela 8 Resposta final obtida à terapêutica, de acordo com a estação do ano em que iniciaram a SLIT.

Estação do ano de início da SLIT	Resposta final Boa/Muito boa	Resposta final Razoável/Boa	Resposta final Nula/Baixa
Verão	3	2	1
Outono	0	2	0
Inverno	4	4	1
Primavera	0	4	1

Discussão

Fase I

Esta etapa teve como objetivo a contribuição para o estudo da dermatite atópica em Portugal, relativamente a raças, género e alérgenos mais frequentemente envolvidos no processo etiológico da doença. Teria sido igualmente interessante averiguar a idade média

de início dos sinais clínicos de DAC na amostra; no entanto, não foi possível recolher essa informação de forma fidedigna junto dos proprietários ou através dos registos clínicos.

Nos 72 cães com diagnóstico clínico de DAC que constituem a amostra em estudo, na distribuição rática observou-se que os cães de raça indeterminada constituíam o grupo mais prevalente, seguido pelas raças Retriever do Labrador, WHWT e Bouledogue Francês. Estes resultados estão de acordo com os de outros autores (Griffin & DeBoer, 2001; Jaeger *et al.*, 2010; Favrot *et al.*, 2010). No entanto, devido ao reduzido tamanho da amostra e à ausência de estudos epidemiológicos sobre a proporção das raças em questão na população canina local, não podemos inferir sobre a existência de uma verdadeira predisposição destes grupos ráticos para a DAC. Relativamente ao género, os resultados foram bastante equiparáveis, com predomínio muito ligeiro do género feminino, face ao masculino. Estes resultados estão de acordo com outros autores que não reconhecem a existência de qualquer predisposição de género para a DAC (Masuda *et al.*, 2000; Zur *et al.*, 2002; Nødtvedt *et al.*, 2007; Favrot *et al.*, 2010; Olivry *et al.*, 2010b); no entanto, outros atestam a existência de uma predisposição do género feminino (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001; Lund, 2011; Lourenço-Martins, 2011).

Apesar dos 72 cães terem sido submetidos a provas alergológicas somente após ter sido estabelecido um diagnóstico clínico criterioso de DAC, 12 deles não obtiveram qualquer resposta positiva aos aeroalergénios testados nas provas alergológicas. Estes resultados podem ser explicados pela presença de dermatite de tipo atópico (Halliwell, 2006) ou pela possibilidade dos animais terem hipersensibilidade a alergénios não incluídos no painel testado. De facto, uma das vantagens dos TID em relação aos testes serológicos é a possibilidade de se testar um maior número de alergénios, nomeadamente um número máximo de 80 face a 30 ou 40 possíveis nos testes serológicos (Rees, 2011; Griffin, 2014). Alguns painéis alergénicos de TID utilizados por outros autores testam grupos de alergénios ausentes no painel utilizado nos testes serológicos aplicados na amostra, como epitélios e penas. Em ambos os estudos, os epitélios consistiram mesmo o segundo grupo de sensibilizações mais frequente, apenas ultrapassado pelo grupo dos ácaros domésticos (Saridomichelakis *et al.*, 1999; Matias, 2013).

Dentro do conhecimento do autor, não existem estudos acerca dos alergénios mais frequentemente envolvidos na fisiopatologia da DAC realizados com testes serológicos, pelo que os resultados do presente estudo serão comparados com resultados de outros autores, obtidos por TID. É necessária cautela na comparação entre estudos de prevalência alergénica uma vez que esta varia grandemente consoante a localização, condições climáticas e polínicas. Como seria de esperar, o grupo de alergénios mais prevalente foi o dos ácaros domésticos e, dentro destes, a espécie Df (Hill & DeBoer, 2001). No entanto, a

elevada frequência de sensibilizações aos ácaros de armazenamento – bastante semelhante à frequência do Df - *A. siro* e *T. putrescentiae* foi uma surpresa. Num estudo realizado dentro do mesmo distrito, estes ácaros obtiveram igualmente elevadas frequências (Matias, 2013). Estes resultados corroboram a existência previamente reportada de reações cruzadas *in vitro* entre o ácaro do pó Df e os ácaros de armazenamento *A. siro* e *T. putrescentiae*, bem como entre os dois últimos (Saridomichelakis *et al.*, 2008). Dentro dos pólenes, como seria de esperar uma vez que são aqueles que permanecem mais tempo no ambiente (Pol & Brazis, 2007), o grupo mais frequente foi o de pólenes de gramíneas, tal como demonstrado por outros estudos no mesmo distrito (Matias, 2013). Individualmente, as espécies mais frequentes foram a *Cynodon dactylon* e *Dactylis glomerata*. Os alergénios das gramíneas apresentam reactividade cruzada entre si (Pol & Brazis, 2007), o que justifica as frequências semelhantes obtidas entre as diferentes espécies deste grupo. No estudo de Matias (2013), estas espécies aparecem em frequência significativamente mais baixa, o que pode dever-se ao pequeno tamanho da amostra em questão ou a diferenças no ambiente dos animais uma vez que no presente estudo não foi possível averiguar se os animais provêm de ambiente interior, exterior ou misto.

A média de sensibilizações alergénicas por cada animal foi semelhante aos resultados de outros autores (Saridomichelakis, Koutinas, Gioulekas & Leontidis, 1999).

Fase II

Nesta etapa reside o principal objetivo da presente dissertação: avaliar a eficácia de um protocolo inicial de 7 meses de imunoterapia alergénio-específica, administrada pela via sublingual, em cães atópicos. A ITAE tem como metas: i) a modulação do sistema imunitário no sentido do tolerância, alterando o curso da DA a longo prazo; ii) a melhoria da sintomatologia clínica; iii) redução da medicação antialérgica concomitante necessária para controlo dos sinais clínicos de DA (Griffin & Hillier, 2001).

Devido à curta duração do estágio curricular vinculado a esta dissertação e ao tempo relativamente curto de utilização de SLIT no Hospital VetOeiras – HVCLC, não foi possível averiguar a eficácia do protocolo relativamente à meta i). No entanto, foi possível avaliar a ocorrência de recidivas clínicas 5 meses após a interrupção do protocolo inicial, no sentido de aferir a necessidade de prolongar o tempo de tratamento com SLIT, de modo a obter benefícios clínicos após a sua suspensão. A concretização das metas ii) e iii) foi avaliada através das informações dadas pelos donos dos animais, através de um questionário, e quantificando a medicação antialérgica concomitante necessária para controlo dos sinais clínicos, antes do início e após o final do protocolo inicial de SLIT, com duração de 7 meses. “A resposta dos animais à imunoterapia é notoriamente difícil de avaliar” (Hill & DeBoer, 2001, tradução livre). De facto, um estudo prospetivo acarretaria vantagens óbvias, tais

como a possibilidade de efetuar medições das variáveis de interesse de forma precisa e completa, sem necessidade de recorrer à memória dos indivíduos envolvidos ou outras fontes indirectas, passíveis de enviesar os resultados. No entanto, devido à impossibilidade de levar a cabo o longo período de seguimento associado a este tipo de estudo, o presente estudo experimental foi realizado de forma retrospectiva.

Questionário apresentado aos donos

Secção A – Caracterização da amostra.

As raças mais frequentes nesta amostra reduzida corresponderam praticamente às mesmas identificadas na etapa I: cães sem raça definida, Retriever do Labrador e Bouledogue Francês; estas raças estão igualmente sinalizadas como predispostas para a DAc por outros autores (Griffin & DeBoer, 2001; Jaeger *et al.*, 2010; Favrot *et al.*, 2010). A idade de início dos sinais clínicos esteve igualmente de acordo com diversos autores, uma vez que a maioria dos animais começou a manifestar sinais clínicos de DAc antes do 3º ano de vida (Nuttal *et al.*, 1998; Zur *et al.*, 2002; Favrot *et al.*, 2010).

Secção B - Escalas visuais analógicas de classificação de prurido, máculas/pápulas e eritema.

Analisando a evolução do prurido no grupo de controlo e no grupo de estudo temos, como seria de esperar, uma descida marcada em ambos. A medicação antialérgica sintomática é eficaz no controlo do prurido e outros sinais clínicos de DAc enquanto se mantiver a sua administração, pelo que diferenças a este nível entre os dois grupos não seriam expectáveis. No entanto, apesar dos animais neste grupo poderem recorrer igualmente a medicação antialérgica sintomática, houve uma diferença estatisticamente significativa na descida dos valores de prurido no grupo de estudo, o que pode ser indicativo de um efeito benéfico adicional da SLIT a este nível. Contudo, estes resultados devem ser analisados com cautela, uma vez que as diferenças observadas podem dever-se à ausência de classificação da gravidade da sintomatologia clínica da doença em cada animal (através da escala validada de CADESI-03), previamente ao início do tratamento. Esta classificação não pôde ser feita devido ao carácter retrospectivo do presente estudo, pelo que pode haver uma heterogeneidade marcada na expressão clínica da doença entre animais, nos dois grupos.

Os mecanismos fisiopatológicos do prurido e o efeito da ITAE nos mesmos não são ainda completamente conhecidos. Estudos recentes em MH (Takaoka *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2012) e MV (Gonzales *et al.*, 2013; McCandless *et al.*, 2014) apontam para o papel fulcral da citoquina pró-inflamatória IL-31 na etiopatogenia de respostas de tipo T_H2, características da DA, mais precisamente na indução do prurido. A ITAE promove um desvio da resposta T_H2

para uma resposta de tipo T_H1 , através da produção de citocinas reguladoras como a IL-10, capaz de inibir os linfócitos T_H2 e por conseguinte, a produção de citocinas pró-inflamatórias (Loewenstein & Mueller, 2009; Akdis & Akdis, 2009).

Verificaram-se ainda descidas significativas nos valores de intensidade do eritema e máculas/pápulas, segundo a apreciação dos donos dos animais. No entanto, dado que os animais do grupo de estudo foram medicados com medicação antialérgica sintomática sempre que necessário, não podemos associar estas descidas exclusivamente à SLIT.

Secção C – Reações adversas e facilidade de aplicação da vacina sublingual.

Uma das vantagens mais proclamadas da SLIT face à SCIT reside na maior segurança, isto é, menor frequência e gravidade de reacções adversas (Canonica *et al.*, 2014). No presente estudo, tal como noutros realizados em cães (DeBoer & Morris, 2012; Marsella & Ahrens, 2013), não foram registadas quaisquer reacções adversas sistémicas que requeressem cuidados médicos, apenas três reacções adversas ligeiras, no dia da primeira administração sublingual. A precisão destes resultados pode estar comprometida, uma vez que estes se baseiam unicamente na interpretação e memória dos donos no entanto, a ausência de reacções adversas que justificassem contato com o clinico assistente foi confirmada através dos registos médicos.

Em MH, onde a SLIT é estudada e utilizada há mais tempo, a elevada segurança desta via de administração de ITAE está igualmente comprovada, uma vez que não existem fatalidades associadas à mesma e a frequência de reacções adversas graves como reacções asmáticas, dor abdominal/vómito e edema da úvula é de, apenas, 1,4 reacções adversas graves por cada 100,000 doses de SLIT administradas (Canonica *et al.*, 2009).

A par da segurança, a facilidade de aplicação da SLIT é também uma das suas características mais atraentes, uma vez que, tal como acontece em MH, muitos donos apresentam reservas quanto à administração contínua de injeções subcutâneas e deslocações frequentes ao centro de atendimento veterinário (Griffin & Hillier, 2001; Lynch, 2012; Morris & DeBoer, 2014; Ozmen & Marsella, 2014). A maioria dos donos inquiridos neste estudo considerou fácil a aplicação da SLIT. Os 3 proprietários que classificaram a facilidade de aplicação apenas como razoável ou difícil, mencionaram a dificuldade em perceber se a solução tinha sido administrada na íntegra corretamente e ainda na contenção dos animais. Não obstante, tal como referido por outros autores (DeBoer & Morris, 2012), a maioria dos proprietários manifestou satisfação pela comodidade e conforto dos animais, no tratamento com SLIT.

Secção D – Eficácia do tratamento, na perspetiva do dono.

Nesta secção, a maioria dos donos classificou a eficácia do tratamento entre razoável a muito boa. Apesar de terem sido instruídos no sentido de remeterem esta avaliação ao final dos 7 meses de protocolo inicial de SLIT, a principal queixa manifestada pelos proprietários prendeu-se com a recidiva dos sinais clínicos após o final do protocolo. Neste sentido, averiguou-se que a maioria (60%) dos animais inquiridos, que responderam favoravelmente à terapêutica com SLIT, recidivou na sintomatologia da DAC, após o final dos 7 meses de tratamento.

Não está ainda definido em MV, o período de duração ideal de tratamento com ITAE que conduza a uma remissão dos sinais clínicos a longo prazo, após a sua suspensão (Griffin & Hillier, 2001). No entanto, é normalmente aceite para a SCIT que o período mínimo de tratamento antes de se poder analisar a sua taxa de eficácia, é de 1 ano (Olivry *et al.*, 2010a; Hillier, 2002a; Zur *et al.*, 2002); em MH estudos indicam que este período deve situar-se sempre, no mínimo, entre 2 a 5 anos de tratamento (Bousquet *et al.*, 1998b; Durham *et al.*, 1999; James *et al.*, 2011). Desta forma, é essencial comunicar aos donos dos animais que na maioria dos casos, o protocolo inicial de 7 meses será incapaz de controlar os sinais clínicos de DAC, após a sua interrupção. Não obstante, o facto de que, segundo os donos, 40% dos animais que responderam favoravelmente à SLIT não recidivaram após a sua suspensão, é uma surpresa atendendo ao curto tempo de duração do tratamento. Estes resultados favoráveis devem ser interpretados com precaução, uma vez que advêm da avaliação e memória subjetiva dos donos. Para aferir a sua validade, analisou-se o grau de necessidade de medicação antialérgica para controlo dos sinais clínicos no final do tratamento com SLIT e 5 meses após a sua suspensão, como será discutido mais adiante.

Esta secção incluía ainda, originalmente, uma questão acerca de quanto tempo após o início do tratamento com SLIT surgiram os primeiros benefícios clínicos. No entanto, pela grande dificuldade manifestada pelos proprietários na sua resposta, a questão foi eliminada. Apesar de não conseguirem precisar temporalmente o período entre o início da SLIT e a melhoria dos sinais clínicos, a resposta comum por parte dos proprietários centrava-se nos primeiros 3 meses de tratamento. Um estudo em MH, levado a cabo com SLIT, demonstrou que após 6 meses de tratamento já eram observáveis benefícios clínicos. No entanto, apenas após 24 meses de tratamento, estes atingiram valores verdadeiramente significativos (Mastrandrea *et al.*, 2010). Mesmo para a SCIT, este período exato não é ainda conhecido em cães. Diferentes autores têm contribuído com diferentes períodos expectáveis para que se observem benefícios clínicos após o início da SCIT, nomeadamente 2 a 5 meses (Schnabl *et al.*, 2006); 3 a 12 meses (Mueller & Bettenay, 1996 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) e 9 meses (Willemse, 1994 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). No entanto,

estudos em MH sugerem que o tempo necessário para observação de benefícios clínicos é mais longo na SLIT do que na SCIT (Savolainen *et al.*, 2007; Keles *et al.*, 2011). São assim necessários estudos controlados, em MV, que avaliem de forma prospetiva este período de tempo, uma vez que protocolos de imunoterapia associados a rápidas melhorias clinicas são preponderantes na adesão dos donos à terapêutica e no bem-estar dos animais.

Graus de intervenção medicamentosa sintomática concomitante

Os animais que compõem a amostra foram colocados em 4 graus diferentes, consoante o tipo e dose de fármaco antialérgico sintomático que estavam a tomar quando o protocolo com SLIT terminou, em relação ao que tomavam antes do início da SLIT. Num estudo retrospectivo é virtualmente impossível eliminar a medicação antialérgica sintomática, uma vez que a atitude mais premente do clinico assistente é a de aliviar o desconforto do animal. Contudo, ao atribuímos a classificação de resposta boa a muito boa apenas aos animais que não necessitaram de medicação antialérgica concomitante, à exceção de um champô hipoalergénico, minimizámos a influência desta medicação no estudo.

Analisando as médias do grupo de intervenção medicamentosa sintomática nos grupos de estudo e controlo, atestamos que existe uma diferença significativa entre estas. Este resultado foi o expectável, uma vez que a ITAE tem como objetivo reduzir ou mesmo eliminar a necessidade de medicação antialérgica concomitante para controlar os sinais clínicos de DAc. Já os animais mantidos apenas com medicação antialérgica sintomática estarão sempre dependentes desta, ainda que por vezes seja possível reduzir a dose administrada, uma vez que, ao contrário da ITAE, esta medicação não atua nos mecanismos etiológicos da doença, apenas atenua as suas consequências clinicas. Os GC constituem uma forma de terapêutica para a DA não dispendiosa, fácil de administrar e altamente eficaz; no entanto, a sua utilização frequentemente culmina em efeitos adversos sistémicos graves, agudos e crónicos (Olivry *et al.*, 2010). O mesmo ocorre com a ciclosporina que, apesar de aparentemente ser bem tolerada, está associada a efeitos adversos, maioritariamente reações gastrointestinais de curta duração, ligeiras a moderadas, em até 81% dos animais tratados. Outros efeitos adversos menos comuns incluem anorexia persistente, vômito, diarreia, hiperplasia gengival, hirsutismo, reações alérgicas, convulsões e resistência à insulina (Steffan, Favrot & Mueller, 2006).

Os fármacos escolhidos para formar os diferentes graus de intervenção medicamentosa espelham o protocolo de tratamento da DAc do Hospital VetOeiras – HVCLC e foram agrupados de forma crescente de gravidade da sintomatologia clinica que requer o seu uso. Teria sido igualmente importante e interessante analisar a necessidade de utilização de antibióticos e terapêutica antifúngica para tratamento de infeções cutâneas concomitantes,

ao longo do tratamento com SLIT. No entanto, não foi possível fazê-lo de forma criteriosa devido a registos clínicos incompletos.

Quadros mais agudos de DAc requerem o uso de GC, pelo que a necessidade de utilização destes fármacos implica que o animal se encontre no grau mais alto (grau 4) de intervenção medicamentosa sintomática. Para o tratamento de crises agudas de DAc, recorreu-se a um GC injetável de longa duração, pese embora a ITFCAD recomende, no seu lugar, devido ao acrescido risco de efeitos adversos, a utilização de GC orais como prednisona, prednisolona ou metilprednisolona (Olivry *et al.*, 2010a). Desta forma, não foi possível apreciar a existência de reduções na dose necessária de GC para atingir remissão clínica, no final do tratamento com SLIT, pelo que se avaliou apenas se a sua utilização era ainda necessária. Esta avaliação seria importante, uma vez que uma redução da dose de GC necessária para controlo dos sinais clínicos pode evidenciar uma resposta parcialmente positiva à ITAE. Neste sentido, animais que no final do tratamento não necessitavam de GC e que reduziram a sua dose de ciclosporina, foram colocados no grau 3 de intervenção medicamentosa sintomática.

Animais que no final do tratamento com SLIT, recorressem apenas concomitantemente ao GC diéster de aplicação tópica Cortavance®, foram colocados no grau 2 de intervenção medicamentosa. Não foi, igualmente, possível aferir a frequência de administração, apenas que este fármaco foi indicado aos donos como terapêutica exclusivamente de emergência, para situações de prurido localizado. Apesar da sua aplicação tópica, estudos recentes em cães atestam a eficácia e segurança do Cortavance® como monoterapia (Nuttal *et al.*, 2009; Nuttal *et al.*, 2012; Lourenço-Martins, São-Braz, Schmidt, Reme & Nuttal, 2012). Nuttal *et al.* (2012) consideraram mesmo a eficácia do Cortavance® igual à da Atopica®, em protocolos com administração diária de duas doses de produto por cada 100m² de área corporal. Assim, seria importante a futura realização de estudos prospetivos, nos quais a frequência de administração deste fármaco seja avaliada, uma vez que uma frequência de administração elevada por parte dos donos pode ter enviesado este estudo no sentido da colocação dos animais num grupo de intervenção medicamentosa inferior ao que na realidade pertenceriam.

Como já referido anteriormente, para analisar a existência de recidivas após suspensão do tratamento com SLIT, foi feito um seguimento 12 meses após o início da SLIT, logo 5 meses após a sua suspensão, onde se aferiu novamente o grau de intervenção medicamentosa sintomática dos animais. Os resultados evidenciam uma subida bastante significativa nas necessidades de medicação antialérgica sintomática para controlo dos sinais clínicos, após interrupção do tratamento com SLIT. Estes resultados reforçam os testemunhos obtidos dos donos relativamente à frequência de recidivas após interrupção da imunoterapia e indicam

claramente que o protocolo inicial de 7 meses de tratamento com SLIT é insuficiente para induzir tolerância imunitária a curto/médio prazo, após a sua suspensão.

Resposta final à terapêutica instituída

Combinando os valores de prurido atribuídos pelos donos com os graus de intervenção medicamentosa, obteve-se uma classificação final de resposta ao tratamento realizado, nos dois grupos. Comparando os dois grupos, obtivemos uma diferença significativa na resposta final à terapêutica, com uma clara vantagem do grupo de estudo sobre o grupo controle. Este resultado é o esperado, uma vez que a classificação de resposta engloba o grau de intervenção medicamentosa, naturalmente elevado no grupo controle que optou por medicação antialérgica sintomática para controle dos sinais clínicos. Mesmo em cães com DAC submetidos a tratamento sintomático, a frequência e dose da medicação pode alterar-se ao longo do tempo, devido a fatores ambientais como o grau de exposição alérgica, gravidade *a priori* do quadro clínico da doença, diferenças genéticas na resposta à terapêutica ou adesão ao protocolo estabelecido, por parte dos donos dos animais (Nuttall *et al.*, 2012). Desta forma, podem ocorrer igualmente descidas no grau de intervenção medicamentosa sintomática, no grupo de controle. Combinando as repostas razoáveis a muito boas, obtivemos que a grande maioria dos cães submetidos a tratamento com SLIT (86,4%) respondeu positivamente ao tratamento, com apenas três animais (13,6%) a responderem de forma baixa ou nula. Quer em MH como MV, há uma grande escassez de estudos que avaliem a eficácia da SLIT no tratamento da DA e os poucos estudos que existem são de difícil comparação entre si, uma vez que diferem na sua metodologia, nomeadamente: critérios de inclusão; tipo de provas alergológicas usadas no diagnóstico; tipos de alérgenos (aquosos ou precipitados em alumínio) e suas concentrações; protocolos de administração e classificações de resposta à terapêutica. Desta forma, não é possível efetuar uma comparação direta entre os resultados obtidos no presente estudo e os obtidos por outros autores; no entanto, nos poucos estudos existentes em MV até à data, os resultados obtidos têm sido satisfatórios e promissores. DeBoer & Morris (2012) avaliaram a eficácia da SLIT num estudo aberto com 217 cães, sendo que a resposta individual foi quantificada após, pelo menos, 6 meses de tratamento. Dos animais avaliados, 55% obteve uma resposta boa a excelente (sinais clínicos controlados com a SLIT sem recurso ou com recurso a pouca medicação concomitante) com a SLIT. Curiosamente, 49% dos cães que tinham obtido resposta fraca com a SCIT obtiveram uma resposta boa a excelente com a SLIT. Marsella & Ahrens (2013) foram mais longe e, além dos benefícios clínicos, mediram ainda os níveis de IgE alérgeno-específica, IL-10 e TGF- β aos 4, 8 e 12 meses de tratamento com SLIT em 18 beagles sensibilizados experimentalmente com ácaros domésticos e pólenes. Obtiveram uma diminuição das lesões clínicas, quer do grupo tratado

com SLIT, quer do grupo que recebeu apenas excipiente (glicerina), facto que pode advir da ausência de contacto alergénico durante 12 meses, em ambos os grupos. Observou-se igualmente aumento nos níveis de IL-10 e TGF- β comparativamente ao grupo placebo, o que sugere um aumento das células T_{REG}. De igual modo, um estudo aberto que visou averiguar a eficácia da SLIT em 10 cães com hipersensibilidade a ácaros domésticos, obteve uma eficácia de 72,5% sob o ponto de vista subjetivo dos donos e reduções significativas na escala de CASESI-03, na escala visual do prurido e na necessidade de medicação antialérgica concomitante. Foram ainda detetados uma diminuição significativa dos níveis de IgE e aumento dos de IgG alergénio-específicos, correlacionando-se este aumento de forma positiva com a eficácia do tratamento (DeBoer *et al.*, 2010). Atualmente, em MH, a SLIT não está indicada no tratamento da DAh (Vanbervliet *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2013); contudo, estudos sugerem que é eficaz e muito bem tolerada em quadros ligeiros a moderados de hipersensibilidade a ácaros domésticos (Mastrandrea *et al.*, 2000; Petrova *et al.*, 2001; Cadario *et al.*, 2007; Pajno *et al.*, 2007; Vanbervliet *et al.*, 2012).

O grau de resposta à terapêutica com SLIT dado pelos donos dos cães teve uma concordância moderada com o grau de resposta final, obtida através de parâmetros clínicos como a redução no nível de prurido e na necessidade de medicação antialérgica concomitante para controlo dos sinais clínicos de DAc. Estes resultados denotam uma comunicação razoável entre donos e clínico assistente, no que respeita aos objetivos a alcançar com a imunoterapia.

Estudos em MH sugerem a existência de fatores que influenciam a resposta à ITAE, tais como: a idade de início dos sinais clínicos, o tempo durante o qual manifestaram a doença antes iniciar a ITAE e a idade com que a iniciam (Durham *et al.*, 1999). No entanto, o mesmo parece não ocorrer em MV, com a SCIT (Nuttal *et al.*, 1998; Zur *et al.*, 2002; Schnabl *et al.*, 2006). No presente estudo, constatou-se igualmente não existir associação entre a resposta final e a idade de início os sinais clínicos de DAc, idade com que iniciaram a SLIT, tempo durante o qual manifestaram sinais clínicos de DAc antes de iniciarem a SLIT e estação do ano em que iniciaram a imunoterapia. Estes resultados estão em concordância com outros estudos retrospectivos levados a cabo com SCIT (Zur *et al.*, 2002; Schnabl *et al.*, 2006). Da mesma forma, Nuttal *et al.* (1998) não encontraram associações estatisticamente significativas entre a resposta final e a idade de inícios dos sinais clínicos de DAc. No entanto, verificaram que cães que manifestaram a doença durante mais de 61 meses, antes de iniciarem o tratamento com SCIT, obtiveram uma resposta significativamente mais baixa à terapêutica. Estes resultados reforçam a necessidade de realização de provas alergológicas e tratamento com ITAE em cães atópicos de um espectro alargado de idades.

Apesar das limitações metodológicas do presente estudo, a SLIT demonstrou ser uma alternativa eficaz e segura no tratamento da DAC. São necessários, tanto em MV como MH, estudos que avaliem: a eficácia da SLIT comparativamente à SCIT em amostras significativas, de forma prospetiva, controlada, aleatória e duplamente cega; o protocolo mais eficaz; comparação entre a eficácia de preparações com ácaros domésticos e pólenes e entre formulações contendo apenas um extrato alergénico ou extratos múltiplos; comparação da eficácia em protocolos com doses altas e doses baixas; avaliação da capacidade da SLIT de prevenir o aparecimento de novas sensibilizações a longo prazo. Ainda, para uniformizar e possibilitar a comparação entre os diferentes estudos clínicos, é premente a padronização dos extratos alergénicos utilizados nas provas alergológicas e na formulação das preparações para aplicação sublingual.

Conclusão

O presente estudo retrospectivo permitiu concluir que o protocolo utilizado de 7 meses de tratamento com imunoterapia específica administrada por via sublingual, constitui uma alternativa eficaz, segura e prática para o tratamento da DAC, durante o período de tratamento. No entanto, parece insuficiente para induzir tolerância imunológica a curto/médio prazo, após a sua interrupção, pelo que os donos dos animais devem ser informados e aconselhados a prolongar o período de tratamento com SLIT. Apesar do tipo de estudo não permitir generalizações, a SLIT foi capaz de induzir reduções significativas nos níveis de prurido e na necessidade de medicação antialérgica sintomática concomitante. Fatores como a idade de início dos sinais clínicos de DAC, tempo durante o qual manifestaram os sinais clínicos antes de realizarem tratamento com SLIT, estação sazonal e idade com que foram submetidos ao tratamento, não influenciaram significativamente a resposta final ao mesmo.

Este estudo contribui assim para o, ainda, parco volume de bibliografia sobre a utilização de SLIT no tratamento da DAC. Estudos adicionais deverão ser desenvolvidos de forma prospetiva, que permitam averiguar ao longo do tempo, em amostras maiores, as alterações clínicas e laboratoriais decorrentes do tratamento com SLIT, bem como a eficácia desta modalidade de administração face à tradicional injetável. São ainda prementes estudos que visem a padronização das doses, protocolo, extratos alergénicos e da própria prova alergológica utilizada, de forma a uniformizar os diferentes estudos, permitindo a sua comparação, para assim se determinar a eficácia da SLIT de forma criteriosa.

V. Bibliografia

- Adams, H.R. (Ed.). (2001). *Veterinary pharmacology and therapeutics*. (8th ed.). Iowa, U.S.A.: Iowa State University Press.
- Agostinis, F., Foglia, C., Landi, M., Cottini, M., Lombardi, C., Canonica, G.W., Passalacqua, G. (2008). The safety of sublingual immunotherapy with one or multiple pollen allergens in children. *Allergy*, 63(12): 1637-1639.
- Allam, J.P., Novak, N., Fuchs, C., Asen, S., Bergé, S., Appel, T., Geiger, E., Kochan, J.P., Bieber, T. (2003). Characterization of dendritic cells from human oral mucosa: A new Langerhans' cell type with high constitutive FcεRI expression. *Journal of allergy and clinical immunology*, 112(1): 141-148.
- Allam, J.P., Peng, W.M., Appel, T., Wenghoefer, M., Niederhagen, B., Bieber, T., Bergé, S., Novak, N. (2008a). Toll-like receptor 4 ligation enforces tolerogenic properties of oral mucosal Langerhans cells. *Journal of allergy and clinical immunology*, 121(2): 368-374.
- Allam, J.P., Stojanovski, G., Friedrichs, N., Peng, W., Bieber, T., Wenzel, J., Novak, N. (2008b). Distribution of Langerhans cells and mast cells within the human oral mucosa: new application sites of allergens in sublingual immunotherapy?. *Allergy*, 63(6): 720-727.
- Allam, J.P., Duan, Y., Winter, J., Stojanovski, G., Fronhoffs, F., Wenghoefer, M., Bieber, T., Peng, W.M., Novak, N. (2011). Tolerogenic T cells, Th1/Th17 cytokines and TLR2/TLR4 expressing dendritic cells predominate the microenvironment within distinct oral mucosal sites. *Allergy*, 66(4): 532-539.
- Altin, J., Shen, C., Liston, A. (2010). Understanding the genetic regulation of IgE production. *Blood reviews*, 24: 163-169.
- Akdis, C.A., Blesken, T., Akdis, M., Wuthrich, B., Blaser, K. (1998). Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *The journal of clinical investigation*, 102(1): 98-106.
- Akdis, M., Blaser, K., Akdis, C. A. (2005). T regulatory cells in allergy: Novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic disease. *Journal of allergy and clinical immunology*, 116(5): 961-968.
- Akdis, M., Blaser, K., Akdis, C.A. (2006). T regulatory cells in allergy. *Chemical Immunology and Allergy*, 91: 159-73.
- Akdis, C. A., Akdis, M. (2009). Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *Journal of allergy and clinical immunology*, 123(4): 735-746.
- Akdis, C.A., Akdis, M. (2011). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(1): 18-27.
- Amar, S.M., Harbeck, R.J., Sills, M., Silveira, L.J., O'Brien, H., Nelson, H.S. (2009). Response to sublingual immunotherapy with grass pollen extract: Monotherapy versus combination in a multiallergen extract. *Journal of allergy and clinical immunology*, 124(1): 150-156.

- Asher, M. I., Montefort, S., Björkstén, B., Lai, C. K. W., Strachan, D. P., Weiland, S. K., Williams, H. & the ISAAC Phase Three Study Group (2006). Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC phases one and three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*, 368, 733-43.
- Bae, J.M., Choi, Y.Y., Park, C.O., Chung, K.Y., Lee, K.H. (2013). Efficacy of allergen-specific immunotherapy for atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of allergy and clinical immunology*, 132(1): 110-117.
- Bagnasco, M., Passalacqua, G., Villa, G., Augeri, C., Flamigni, G., Borini, E., Falagiani, P., Mistrello, G., Canonica, G.W., Mariani, G. (2001). Pharmacokinetics of an allergen and a monomeric allergoid for oromucosal immunotherapy in allergic volunteers. *Clinical and experimental allergy*, 31(1): 54-60.
- Berrens, L. (1994). What is a 'major' allergen?. *Clinical and experimental allergy*, 24(7): 606-609.
- Bieber, T., Novak, N. (2009). Pathogenesis of atopic dermatitis: new developments. *Current allergy and asthma reports*, 9: 291-294.
- Bohle, B., Kinaciyan, T., Gerstmayr, M., Radakovics, A., Jahn-Schmid, B., Ebner, C. (2007). Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *Journal of allergy and clinical immunology*, 120(3): 707-713.
- Bond, R. (2014). The role of fungal agents in atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 58-64). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Bousquet, J., Lockey, R., Malling, H. J., Alvarez-Cuesta, E., Canonica, G. W., Chapman, M. D., Creticos, P. J., Dayer, J. M., Duhram, S. R., Demoly, P., Goldstein, R. J., Ishikawa, T., Ito, K., Kraft, D., Lambert, P. H., Löwenstein, H., Müller, U., Norman, P. S., Reisman, R. E., Valenta, R., Valovirta, E. & Yssel, H. (1998a). Allergen Immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 81(5 Pt 1): 401-405.
- Bousquet, J., Lockey, R., Malling, H.J. (1998b). Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases A WHO position paper. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 102(4 Pt 1): 558-562.
- Buckley, L., Schmidt, V., McEwan, N., Nuttal, T. (2013). Cross-reaction and co-sensitization among related and unrelated allergens in canine intradermal tests. *Veterinary dermatology*, 24: 422-e92.
- Cadario, G., Gallucio, A.G., Pezza, M., Appino, A., Milani, M., Pecora, S., Mastrandrea, F. (2007). Sublingual immunotherapy efficacy in patients with atopic dermatitis and house dust mites sensitivity: a prospective pilot study [abstract]. *Current medical research and opinion*, 23(10): 2503-2506. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17784996>.
- Calderón, M., Cardona, V., Demoly, P. EAACI 100 Years of Immunotherapy Experts Panel. (2012a). One hundred years of allergen immunotherapy European Academy of

Allergy and Clinical Immunology celebration: review of unanswered questions. *Allergy*, 67(4): 462-476.

- Calderón, M.A., Demoly, P., Gerth van Wijk, R., Bousquet, J., Sheikh, A., Frew, A., Scadding, G., Bachert, C., Malling, H.J., Valenta, R., Nieto, A., Akdis, C., Just, J., Vidal, C., Varga, E.M., Alvarez-Cuesta, E., Bohle, B., Bufe, A., Canonica, W.G., Cardona, V., Dahl, R., Didier, A., Durham, S.R., Eng, P., Fernandez-Rivas, M., Jacobsen, L., Jutel, M., Kleine-Tebbe, J., Klimek, L., Lotvall, J., Moreno, C., Mosges, R., Muraro, A., Niggeman, B., Pajno, G., Passalacqua, G., Pfaar, O., Rak, S., Senna, G., Senti, G., Valovirta, E., van Hage, M., Virchow, J.C., Wahn, U., Papadopoulos, N. (2012b). EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy. *Clinical and translational allergy*, 2(1): 1-8.
- Calderón, M.A., Cox, L., Casale, T.B., Moingeon, P., Demoly, P. (2012c). Multiple-allergen and single-allergen immunotherapy strategies in polysensitized patients: looking at the published evidence [abstract]. *Journal of allergy and clinical immunology*, 129(4): 929 -934. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22244595>.
- Canonica, G.W., Bousquet, J., Casale, T., Lockey, R.F., Baena-Cagnani, C.E., Pawankar, R., Potter, P.C., Bousquet, P.J., Cox, L.S., Durham, S.R., Nelson, H.S., Passalacqua, G., Ryan, D.P., Brozek, J.L., Compalati, E., Dahl, R., Delgado, L., van Wijk, R.G., Gower, R.G., Ledford, D.K., Filho, N.R., Valovirta, E.J., Yusuf, O.M., Zuberbier, T., Akhanda, W., Almarales, R.C., Ansotegui, I., Bonifazi, F., Ceuppens, J., Chivato, T., Dimova, D., Dumitrascu, D., Fontana, L., Katelaris, C.H., Kaulsay, R., Kuna, P., Larenas-Linnemann, D., Manoussakis, M., Nekam, K., Nunes, C., O'Hehir, R., Olaguibel, J.M., Onder, N.B., Park, J.W., Priftanji, A., Puy, R., Sarmiento, L., Scadding, G., Schmid-Grendelmeier, P., Seberova, E., Sepiashvili, R., Solé, D., Toghias, A., Tomino, C., Toskala, E., Van Beever, H., Vieths, S. (2009). Sub-lingual immunotherapy: World Allergy Organization Position Paper 2009. *Allergy*, 64 (Suplemento 91): 1-59.
- Canonica, G.W., Cox, L., Pawankar, R., Baena-Cagnani, C.E., Blaiss, M., Bonini, S., Bousquet, J., Calderón, M., Compalati, E., Durham, S.R., van Wijk, R.G., Larenas-Linnemann, D., Nelson, H., Passalacqua, G., Pfaar, O., Rosário, N., Ryan, D., Rosenwasser, L., Schmid-Grendelmeier, P., Senna, G., Valovirta, E., Van Bever, H., Vichyanond, P., Wahn, U., Yusuf, O. (2014). Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update. *The World Allergy Organization journal*, 7(1): 1-52.
- Chanthick, C., Anaman, S., Buathet, K. (2008). The prevalence of positive intradermal allergy tests in 114 dogs with atopic dermatitis in the Bangkok metropolis, Thailand. *Veterinary immunology and immunopathology*, 126: 256-262.
- Colombo, S., Hill, P.B., Shaw, D.J., Thoday, K.L. (2005). Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blinded, clinical study. *Veterinary dermatology*, 16(3): 162-170.
- Committee for medicinal products for human use (2007). Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorization of a medicinal product. Acedido em Nov. 10, 2014, disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003382.pdf.

- Cox, L. (2006). Accelerated immunotherapy schedules: review of efficacy and safety. *Annals of allergy, asthma & immunology*, 97(2): 126-137.
- Cox, L.S., Larenas-Linnemann, D., Nolte, H., Weldon, D., Finegold, I., Nelson, H.S. (2006). Sublingual immunotherapy: A comprehensive review. *Journal of allergy and clinical immunology*, 117(5): 1021-1035.
- Cox, L., Compalati, E., Kundig, T., Larche, M. (2013). New directions in immunotherapy. *Current allergy and asthma reports*, 13(2): 178-195.
- David, S.I.R. (2014). Avaliação da eficácia de um protocolo rápido de imunoterapia alérgico-específica em cães atópicos. Acedido em Jan. 15, 2015, disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/7194>.
- Day, M. J. (2014). Introduction: the immunological basis of allergic diseases. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. xv-xxi). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- De Benedetto, A., Agnihotri, R., McGirt, L. Y., Bankova, L. G., & Beck, L. A. (2009). Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *The Journal of investigative dermatology*, 129(1), 14–30.
- DeBoer, D. J., Hill, P. (1999). Serum immunoglobulin E concentrations in West Highland white terrier puppies do not predict development of atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 10: 275-281.
- DeBoer, D. J., Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 239-249.
- DeBoer, D. J., Hillier, A. (2001a). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 277-287.
- DeBoer, D. J., & Hillier, A. (2001b). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 271–276.
- DeBoer, D. J. (2004). Canine atopic dermatitis: new targets, new therapies. *American society for nutritional sciences – The journal of nutrition*, 2056-2061.
- DeBoer, D.J., Verbrugge, M., Morris, M. (2010). Pilot trial of sublingual immunotherapy (SLIT) in mite-sensitive atopic dogs [abstract]. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: https://www.heska.com/Documents/Allergy/Abstract_Pilot-trial-NAVDF-0512.aspx.
- DeBoer, D.J., Morris, M. (2012). Multicenter open trial demonstrates efficacy of sublingual immunotherapy (SLIT) in canine atopic dermatitis. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <https://allcept.heska.com/docs/DeBoer%20WCVD7PosterSLIT.pdf>.
- DeBoer, D.J. (2013). Sublingual immunotherapy for atopic dermatitis. *Clinician's brief*, June: 13-15. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.cliniciansbrief.com/article/sublingual-immunotherapy-atopic-dermatitis>.

- DeBoer, D. J. (2014a). Introduction: canine atopic dermatitis as an evolving, multifactorial disease. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 5-7). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- DeBoer, D.J. (2014b). Sublingual immunotherapy: A new option for allergy patients. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/sublingual-immunotherapy-new-option-allergy-patients?id=&sk=&date=&pageID=3>.
- Dehlink, E., Platzer, B., Baker, A. H., LaRosa, J., Pardo, M., Dwyer, P., Yen, E. H., Szépfalusi, Z., Nurko, S., Fiebiger, E. (2011). A soluble form of the high affinity IgE receptor, Fc-epsilon-RI, circulates in human serum. *PLoS ONE*, 6(4): 1-8.
- Dell, D.L., Griffin, C.E., Thompson, L.A., Griffies, J.D. (2012). Owner assessment of therapeutic interventions for canine atopic dermatitis: a long-term retrospective analysis. *Veterinary dermatology*, 23(3): 228-e47.
- Dérer, M., Morrison-Smith, G., De Weck, A. L. (1998). Monoclonal anti-IgE antibodies in the diagnosis of dog allergy. *Veterinary dermatology*, 9: 185-190.
- Didier, A., Malling, H.J., Worm, M., Horak, F., Jager, S., Montagut, A., André, C., de Beaumont, O., Melac, M. (2007). Optimal dose, efficacy, and safety of once-daily sublingual immunotherapy with a 5-grass pollen tablet for seasonal allergic rhinitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 120(6): 1338-1345.
- Didier, A., Worm, M., Horak, F., Sussman, G., de Beaumont, O., Le Gall, M., Melac, M., Malling, H.J. (2011). Sustained 3-year efficacy of pre- and coseasonal 5-grass-pollen sublingual immunotherapy tablets in patients with grass pollen-induced rhinoconjunctivitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 128(3): 559-566.
- Didier, A., Malling, H.J., Worm, M., Horak, F., Sussman, G., Melac, M., Soulié, S., Zeldin, R.K. (2013). Post-treatment efficacy of discontinuous treatment with 300IR 5-grass pollen sublingual tablet in adults with grass pollen-induced allergic rhinoconjunctivitis. *Clinical and experimental allergy*, 43(5): 568-577.
- Dokmeci, E., Herrick, C. A. (2008). The immune system and atopic dermatitis. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 27:138-143.
- Durham, S.R., Walker, S.M., Varga, E.M., Jacobson, M.R., O'Brien, F., Noble, W., Till, S.J., Hamid, Q.A., Nouri-Aria, K.T. (1999). Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *The New England journal of medicine*, 341(7): 468-475.
- Durham, S.R., Emminger, W., Kapp, A., Colombo, G., de Monchy, J.G., Rak, S., Scadding, G.K., Andersen, J.S., Riis, B., Dahl, R. (2010). Long-term clinical efficacy in grass pollen-induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. *Journal of allergy and clinical immunology*, 125(1): 131-138.
- Eifan, A.O., Akkoc, T., Yildiz, A., Keles, S., Ozdemir, C., Bahceciler, N.N., Barlan, I.B. (2010). Clinical efficacy and immunological mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy in asthmatic/rhinitis children sensitized to house dust mite: an open randomized controlled trial. *Clinical and experimental allergy*, 40(6): 922-932.

- Elias, P. M., Schmuth, M. (2009). Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. *Current allergy and asthma reports*, 9(4), 265–272.
- Esch, R. E. (2008). Allergen immunotherapy: what can and cannot be mixed?. *Journal of allergy and clinical immunology*, 122: 659-660.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W., Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary dermatology*, 21(1): 23-31.
- Favrot, C. (2014). Clinical signs of canine atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 65-69). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Fleischer, D.M., Burks, A.W., Vickery, B.P., Scurlock, A.M., Wood, R.A., Jones, S.M., Sicherer, S.H., Liu, A.H., Stablein, D., Henning, A.K., Mayer, L., Lindblad, R., Plaut, M., Sampson, H.A., Consortium of Food Allergy Research (CoFAR) (2013). Sublingual immunotherapy for peanut allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *Journal of allergy and clinical immunology*, 131(1): 119-127.
- Flohr, C., Pascoe, D., Williams, H. C. (2005). Atopic dermatitis and the 'hygiene hypothesis'. *British journal of dermatology*, 152, 202-216.
- Folster-Holst, R., Pape, M., Buss, Y. L., Christophers, E., Weichenthal, M. (2006). Low prevalence of the intrinsic form of atopic dermatitis among adult patients. *Allergy*, 61: 629-632.
- Foster, A. P., Littlewood, J.D., Webb, P., Wood, J.L.N, Rogers, K., Shaw, S.E. (2003). Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεR1α-based assay in atopic dogs in the UK. *Veterinary immunology and immunopathology*, 83: 51-60.
- Fraser, M.A., McNeil, P.E., Gettinby, G. (2004). Examination of serum total IgG1 concentration in atopic and non-atopic dogs. *The journal of small animal practice*, 45(4): 186-190.
- Frew, A.J., Powell, R.J., Corrigan, C.J., Durham, S.R., UK immunotherapy study group (2006). Efficacy and safety of specific immunotherapy with SQ allergen extract in treatment-resistant seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 117(2): 319-325.
- Fujita, H., Soyka, M.B., Akdis, M., Akdis, C.A. (2012). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Clinical and translational allergy*, 2(1): 1-8.
- Galli, E., Chini, L., Nardi, S., Benincori, N., Panei, P., Fraioli, G., Moschese, V., Rossi, P. (1994). Use of a specific oral hyposensitization therapy to *Dermatophagoides pteronyssinus* in children with atopic dermatitis [abstract]. *Allergologia et immunopathologia*, 22(1): 18-22. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8030579>.
- Gammeri, E., Arena, A., D'Anneo, R., La Grutta, S. (2005). Safety and tolerability of ultra-rush (20 minutes) sublingual immunotherapy in patients with allergic rhinitis and/or asthma. *Allergologia et immunopathologia*, 33(4): 221-223.

- Garcia, A.G. (2011). Pasado, presente y future de la inmunoterapia. *Allergologia et immunopathologia*, 39: 54-56.
- Goldman, C., Rosser Jr, E., Petersen, A., Hauptman, J. (2010). Investigation on the effects of ciclosporin (Atopica) on intradermal test reactivity and allergen-specific immunoglobulin (IgE) serology in atopic dogs. *Veterinary dermatology*, 21: 393-399.
- Gonzales, A.J., Humphrey, W.R., Mesamore, J.E., Fleck, T.J., Fici, G.J., Shelly, J.A., Teel, J.F., Bammert, G.F., Dunham, S.A., Fuller, T.E., McCall, R.B. (2013). Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 24(1): 48-53.
- Gould, H. J., Sutton, B. J. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nature reviews immunology*, 8(3): 205-217.
- Griffin, C. E., & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 255–269.
- Griffin, C.E., Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 363-383.
- Griffin, C.E. (2014). Diagnosis of canine atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 70-77). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Gupta, J., Grube, E., Ericksen, M. B., Stevenson, M. D., Lucky, A. W., Sheth, A. P., Assa'ad, A. H., Hershey, G. K. K. (2008). Intrinsically defective skin barrier function in children with atopic dermatitis correlates with disease severity. *Journal of allergy and clinical immunology*, 121: 725-730.
- Halliwell, R. E. W., Gilbert, S. M., Lian, T. M. (1998). Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Veterinary dermatology*, 9: 179-184.
- Halliwell, R. E. W., DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 159-167.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114(3-4), 207–208.
- Halliwell, R. (2009). Alergic skin diseases in dogs and cats: na introduction. *European journal of companion animal practice*, 19(3): 209-282.
- Hammerberg, B. (2014). Canine immunoglobulin E. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 8-15). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Hightower, K., Marsella, R., Flynn-Lurie, A. (2009). Effects of age and allergen exposure on transepidermal water loss in a house dust mite-sensitized beagle model of atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 21: 89-96.

- Hill, P.B., Moriello, K.A., DeBoer, D.J. (1995). Concentrations of total serum IgE, IgA, and IgC in atopic and parasitized dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 44(2): 105-113.
- Hill, P.B., Hillier, A., Olivry, T. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VI): IgE- induced immediate and late-phase reactions, two inflammatory sequences at sites of intradermal allergen injections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 199-204.
- Hill, P.B., DeBoer, D.J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 169-186.
- Hillier, A., & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4): 147–151.
- Hillier, A., DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 289-304.
- Hillier, A. (2002a). Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. *Veterinary Medicine*, 210–224. Acedido em Mai. 17, 2012, disponível em: http://www.rottweilerhealth.org/pdfs/march_allergy_hiller_02.pdf.
- Hillier, A. (2002b). Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Medicine*, 198–209. Acedido em Mai. 17, 2012, disponível em: http://rottweilerhealth.org/pdfs/march_derm_hiller_02.pdf.
- Hnilica, K.A. (2011). Small animal dermatology: a color atlas and therapeutic guide (3rd ed.). Missouri: Elsevier, Saunders.
- Horak, F., Zieglmayer, P., Zieglmayer, R., Lemell, P., Devillier, P., Montagut, A., Mélac, M., Galvain, S., Jean-Alphonse, S., Van Overtvelt, L., Moingeon, P., Le Gall, M. (2009). Early onset of action of a 5-grass-pollen 300-IR sublingual immunotherapy tablet evaluated in an allergen challenge chamber. *Journal of allergy and clinical immunology*, 124(3): 471-477.
- Hou, C.C., Griffin, C.E., Hill, P.B. (2008). *Dermatophagoides farinae*-specific IgG responses in atopic dogs undergoing allergen-specific immunotherapy with aqueous vaccines. *Veterinary dermatology*, 19(4): 215-220.
- Houe, H., Ersboll, A. K., Toft, N. (Eds.). (2004). Introduction to veterinary epidemiology. Frederiksberg, Denmark : Biofolia.
- Howell, M. D., Kim, B. E., Gao, P., Grant, A. V., Boguniewicz, M., De Benedetto, A., Schneider, L., Beck, L. A., Barnes, K. C., Leung, D. Y. (2007). Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 120(1), 150–155.
- Incorvaia, C., Frati, F., Sensi, L., Riario-Sforza, G.G., Marcucci, F. (2007). *Allergic inflammation and the oral mucosa. Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, 1(1): 35-38.

- Ippoliti, F., De Santis, W., Volterrani, A., Lenti, L., Canitano, N., Lucarelli, S., Frediani, T. (2003). Immunomodulation during sublingual therapy in allergic children. *Pediatric allergy and immunology*, 14(3): 216-221.
- Jackson, H. & Mueller, R. (2012). Atopic dermatitis and adverse food reactions. In H. Jackson & R. Marsella (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Dermatology* (3th ed.) (pp. 130–140). England: British Small Animal Veterinary Association.
- Jaeger, K., Linek, M., Power, H. T., Bettenay, S. V., Zabel, S., Rosychuk, R. A. W., & Mueller, R. S. (2010). Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary dermatology*, 21(1), 118–122.
- James, L.K., Shamji, M.H., Walker, S.M., Wilson, D.R., Wachholz, P.A., Francis, J.N., Jacobson, M.R., Kimber, I., Till, S.J., Durham, S.R. (2011). Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(2): 509-516.
- Jin, H., He, R., Oyoshi, M., Geha, R. S. (2009). Animal models of atopic dermatitis. *Journal of investigative dermatology*, 129: 31-40.
- Johansson, S. G., Bieber, T., Dahl, R., Friedmann, P. S., Lanier, B. Q., Lockey, R. F., Motala, C., Ortega Martell, J. A., Platts-Mills, T. A., Ring, J., Thien, F., Van Cauwenberge, P., Williams, H. C. (2004). Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *The journal of allergy and clinical immunology*, 113(5), 832-836.
- Johansen, P., Senti, G., Maria Martínez Gomez, J., Kundig, T.M. (2007). Medication with antihistamines impairs allergen-specific immunotherapy in mice. *Clinical and experimental allergy*, 38(3): 512-519.
- Jutel, M., Akdis, M., Budak, F., Aebischer-Casaulta, C., Wrzyszczyk, M., Blaser, K., Akdis, C. A. (2003). IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity. *European journal of immunology*, 33: 1205-1214.
- Keles, S., Karakoc-Aydiner, E., Ozen, A., Izgi, A.G., Tevetoglu, A., Akkoc, T., Bahceciler, N.N., Barlan, I. (2011). A novel approach in allergen-specific immunotherapy: combination of sublingual and subcutaneous routes. *Journal of allergy and clinical immunology*, 128(4): 808-815.
- Khinchi, M.S., Poulsen, L.K., Carat, F., André, C., Hansen, A.B., Malling, H.J. (2004). Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen-specific immunotherapy: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Allergy*, 59(1): 45-53.
- Kabashima, K. (2013). New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity. *Journal of dermatological science*, 70: 3-11.
- Keet, C.A., Frischmeyer-Guerrero, P.A., Thyagarajan, A., Schroeder, J.T., Hamilton, R.G., Boden, S., Steele, P., Driggers, S., Burks, A.W., Wood, R.A. (2012). The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*, 129(2): 448-455.

- Keppel, K.E., Campbell, K.L., Zuckermann, F.A., Greeley, E.A., Schaeffer, D.J., Husmann, R.J. (2008). Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 123(3-4): 337-344.
- Kiel, M.A., Roder, E., Gerth van Wijk, R., Al, M.J., Hop, W.C., Rutten-van Moken, M.P. (2013). Real-life compliance and persistence among users of subcutaneous and sublingual allergen immunotherapy. *Journal of allergy and clinical immunology*, 132(2): 353-360.
- Kim, H. J., Kang, M. H., Park, H. M. (2011). Common allergens of atopic dermatitis in dogs: comparative findings based on intradermal tests. *Journal of veterinary science*, 12(3): 287-290.
- Koebrich, S., Nett-Mettler, C., Wilhelm, S., Favrot, C. (2012). Intradermal and serological testing for mites in healthy beagle dogs. *Veterinary dermatology*, 23(3): 192-e39.
- Kopp, M. V. (2011). Omalizumab: anti-igE therapy in allergy. *Current allergy and asthma reports*, 11: 101-106.
- Kubo, A., Nagao, K., Amagai, M. (2012). Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *The journal of clinical investigation*, 122(2): 440-447.
- Kulthanan, K., Boochangkool, K., Tuchinda, B., Chularojanamontri, L. (2011). Clinical features of the extrinsic and intrinsic types of adult-onset atopic dermatitis. *Asia Pacific Association of Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 1: 80-86.
- Larenas-Linnemann, D., Cox, L.S., Immunotherapy and Allergy Diagnostics Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (2008). European allergen extract units and potency: review of available information [abstract]. *Annals of allergy, asthma and immunology*, 100(2): 137-145. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18320915>.
- Lau-Gillard, P., Hill, P. B., Chesney, C. J., Budleigh, C., Immonen, A. (2009). Evaluation of a hand-held evaporimeter (VapoMeter®) for the measurement of transepidermal water loss in healthy dogs. *Veterinary dermatology*, 21: 136-145.
- Lauber, B., Molitor, V., Meury, S., Doherr, M. G., Favrot, C., Tengvall, K., Bergvall, K., Leeb, T., Roosje, P., Marti, E. (2012). Total IgE and allergen-specific IgE and IgG antibody levels in sera of atopic dermatitis affected and non-affected Labrador- and Golden retrievers. *Veterinary immunology and immunopathology*, 149(1-2): 112-118.
- Lee, K. L., Blankenship, K. D., McCurry, Z. M., Esch, R. E., DeBoer, D. J., Marsella, R. (2009). Performance characteristics of a monoclonal antibody cocktail-based ELISA for detection of allergen-specific IgE in dogs and comparison with a high affinity IgE receptor-based ELISA. *Veterinary dermatology*, 20(3): 157-164.
- Leung, D. Y. M., Bieber, T. (2003). Atopic dermatitis. *Lancet*, 361: 151-160.
- Leung, D. Y. M., Boguniewicz, M., Howell, M. D., Nomura, I., & Hamid, Q. A. (2004). New insights into atopic dermatitis. *The Journal of clinical investigation*, 113(5), 651–657.

- Lian, T. M., Halliwell, R. E. W. (1998). Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 66: 203-223.
- Lloyd, D.H. (2014). The role of bacterial agents in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 51-57). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Loewenstein, C., Mueller, R.S. (2009). A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Veterinary dermatology*, 20(2): 84-98.
- Lombardi, C., Incorvaia, C., Braga, M., Senna, G., Canonica, G.W., Passalacqua, G. (2009). Administration regimens for sublingual immunotherapy to pollen allergens: What do we know?. *Allergy*, 64(6): 849-854.
- Lourenço-Martins, A.M., Peleteiro, M.C., Correia, J.H.D. & Morais-Almeida, M. (2010). Será o cão o melhor amigo de um atópico? – Considerações sobre o potencial dos modelos caninos para o estudo da dermatite atópica no homem. *Rev Port Imunoalergologia*, 18(5), 405-418.
- Lourenço-Martins, A.M. (2011). *Contribuição para o estudo da dermatite atópica canina na área metropolitana de Lisboa*. Tese de Doutoramento em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Lourenço-Martins, A.M., Delgado, E., Neto, I., Peleteiro, M.C., Morais-Almeida, M., Correia, J.H.D (2011). Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs. *Veterinary ophthalmology*, 14(4): 248-256.
- Lourenço-Martins, A.M., São-Braz, B., Schmidt, V.M., Reme, C.A., Nuttal, T. (2012). Long-term maintenance therapy of canine atopic dermatitis with 0.0584% hydrocortisone aceponate spray (Cortavance®) used on two consecutive days each week [abstract]. Acedido em Jan. 11, 2015, disponível em: <http://vectoronto.com/content/uploads/2012/12/DermatologyJournalHighlights.pdf>.
- Lue, K.H., Lin, Y.H., Sun, H.L., Lu, K.H., Hsieh, J.C., Chou, M.C. (2006). Clinical and immunologic effects of sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mites: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pediatric allergy and immunology*, 17(6): 408-415.
- Lund, E. (2011). Epidemiology of canine atopic dermatitis. *Veterinary focus*, 21(3), 32-33.
- Lynch, B. (2012). Heska licks canine allergies with sublingual drops. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://innovationews.com/advanced-manufacturing/new-products/heska-licks-canine-allergies-with-sublingual-drops/>.
- Majak, P., Rychlik, B., Stelmach, I. (2009). The effect of oral steroids with and without vitamin D3 on early efficacy of immunotherapy in asthmatic children. *Clinical and experimental allergy*, 39(12): 1830-1841.
- Malling, H.J., Lund, L., Poulsen, L. (2006). Safety and immunological changes during sublingual immunotherapy with standardized quality grass allergen tablets. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*, 16(3): 162-168.
- Marcucci, F., Sensi, L., Incorvaia, C., Di Cara, G., Moingeon, P., Frati, F. (2007). Oral reactions to sublingual immunotherapy: a bioptic study. *Allergy*, 62(12): 1475-1477.

- Marcucci, F., Incorvaia, C., Sensi, L., Di Cara, G., Cadario, G., Cavaliere, A., Moingeon, P., Puccinelli, P., Di Giocchino, M., Frati, F. (2008). Lack of inflammatory cells in the oral mucosa of subjects undergoing sublingual immunotherapy [abstract]. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 21(3): 609-613. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18831928>.
- Marogna, M., Spadolini, I., Massolo, A., Canonica, G.W., Passalacqua, G. (2004). Randomized controlled open study of sublingual immunotherapy for respiratory allergy in real-life: clinical efficacy and more. *Allergy*, 59(11): 1205-1210.
- Marogna, M., Spadolini, I., Massolo, A., Canonica, G.W., Passalacqua, G. (2010). Long-lasting effects of sublingual immunotherapy according to its duration: A 15-year prospective study. *Journal of allergy and clinical immunology*, 126(5): 969-975.
- Marsella, R., & Olivry, T. (2003). Animal models of atopic dermatitis. *Clinics in Dermatology*, 21(2), 122–133.
- Marsella, R., & Girolomoni, G. (2009). Canine models of atopic dermatitis: a useful tool with untapped potential. *The Journal of investigative dermatology*, 129(10), 2351–2357.
- Marsella, R. (2010). Tolerability and clinical efficacy of oral immunotherapy with house dust mites in a model of canine atopic dermatitis: a pilot study. *Veterinary dermatology*, 21(6): 566-571.
- Marsella (2012). Un update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Medicine: Research and reports*, 2012(3): 85-91.
- Marsella, R., Sousa, C. A., Gonzales, A. J., Fadok, V. A. (2012). Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American veterinary medical association*, 241(2): 194-207.
- Marsella, R., Ahrens, K. (2013). Clinical and immunologic effects of allergen-specific sublingual immunotherapy in a canine model of atopic dermatitis: A double blind, randomized, controlled study. *Journal of allergy & therapy*, 4(6): 1-9.
- Marsella, R. (2014). The aberrant immune system in atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 16-21). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Masuda, K., Sakaguchi, M., Fujiwara, S., Kurata, K., Yamashita, K., Odagiri, T., Nakao, Y., Matsuki, N., Ono, K., Watari, T., Hasegawa, A., Tsujimoto, H. (2000). Positive reactions to common allergens in 42 atopic dogs in Japan. *Veterinary immunology and immunopathology*, 73: 193-204.
- Mastrandrea, F., Serio, G., Minelli, M., Minardi, A., Scarcia, G., Coradduzza, G., Parmiani, S. (2000). Specific sublingual immunotherapy in atopic dermatitis. Results of a 6-year follow-up of 35 consecutive patients. *Allergologia et immunopathologia*, 28(2): 54-62.
- Matias, D.F. (2013). Avaliação de uma nova técnica em alergologia veterinária: testes cutâneos por picada em cães. Acedido em Nov. 14, 2014, disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/5285>.

- McCall, C., Hunter, S., Stedman, K., Weber, E., Hillier, A., Bozic, C., Rivoire, B., Olivry, T. (2001). Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen (Der f 15) for dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 78: 231-247.
- McCandless, E.E., Rugg, C.A., Fici, G.J., Messamore, J.E., Aleo, M.M., Gonzales, A.J. (2014). Allergen-induced production of IL-31 by canine Th2 cells and identification of immune, skin, and neuronal target cells. *Veterinary immunology and immunopathology*, 157(1-2): 42-48.
- Meury, S., Molitor, V., Doherr, M. G., Roosje, P., Leeb, T., Hobi, S., Wilhelm, S., Favrot, C. (2011). Role of the environment in the development of canine atopic dermatitis in Labrador and golden retrievers. *Veterinary dermatology*, 22: 327-334.
- Moingeon, P., Batard, T., Fadel, R., Frati, F., Sieber, J., Van Overtvelt, L. (2006). Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy. *Allergy*, 61(2): 151-165.
- Moingeon, P., Mascarell, L. (2012). Induction of tolerance via the sublingual route: Mechanisms and applications. Acedido em Nov. 13, 2014, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/623474>.
- Morris, M., DeBoer, D.J. (2014). Sublingual immunotherapy for pets: a guide for veterinarians. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: https://www.heska.com/Documents/Allergy/UPDATED-SUBLINGUAL_IMMUNOTHERAPY_FOR_PETS-001-pdf.aspx.
- Mothes, N., Heinzkill, M., Drachenberg, K.J., Sperr, W.R., Krauth, M.T., Majlesi, Y., Semper, H., Valent, P., Niederberger, V., Kraft, D., Valenta, R. (2003). Allergen-specific immunotherapy with a monophosphoryl lipid A-adjuvanted vaccine: reduced seasonally boosted immunoglobulin E production and inhibition of basophil histamine release by therapy-induced blocking antibodies. *Clinical and experimental allergy*, 33(9): 1198-1208.
- Mueller, R. S., Burrows, A., Tsohalis, J. (1999). Comparison of intradermal testing and serum testing for allergenspecific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. *Australian veterinary journal*, 77(5): 290-294.
- Mueller, R.S., Bettenay, S.V., Tideman, L. (2000). Aero-allergens in canine atopic dermatitis in south-eastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. *Australian veterinary journal*, 78(6): 392-399.
- Mueller, R.S., Veir, J., Fieseler, K.V., Dow, S.W. (2005). Use of immunostimulatory liposome-nucleic acid complexes in allergen-specific immunotherapy of dogs with refractory atopic dermatitis - a pilot study. *Veterinary dermatology*, 16(1): 61-68.
- Mueller, R. S. (2014). Allergen-specific immunotherapy. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 85-89). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Nardoni, S., Dini, M., Taccini, F., Mancianti, F. (2007). Occurrence, distribution and population size of *Malassezia pachydermatis* on skin and mucosae of atopic dogs. *Veterinary microbiology*, 122: 172-177.

- Nesbitt, G. H., Ackerman, L. J. (1998). *Canine & feline dermatology: diagnosis and treatment*. Trenton, New Jersey: Veterinary learning systems.
- Nishifuji, K. (2014). Skin barrier and its role in the pathophysiology of atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 42-50). United Kingdom: Wiley Blackwell.
- Niu, C.K., Chen, W.Y., Huang, J.L., Lue, K.H., Wang, J.Y. (2006). Efficacy of sublingual Immunotherapy with high-dose mite extracts in asthma: A multi-center, double-blind, randomized, and placebo-controlled study in Taiwan. *Respiratory medicine*, 100(8): 1374-1383.
- Nødtvedt, A., Bergvall, K., Sallander, M., Egenvall, A., Emanuelson, U., Hedhammar, A. (2007). A case-control study of risk factors for canine atopic dermatitis among boxer, bullterrier and West Highland white terrier dogs in Sweden. *Journal compilation ESVD and ACVD*, 18: 309-315.
- Novak, N. & Bieber, T. (2003). Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 112(2), 252–262.
- Novak, N. & Bieber, T. (2005). The role of dendritic cell subtypes in the pathophysiology of atopic dermatitis. *Journal of the American academy of dermatology*, 53: S171-S176.
- Novembre, E., Galli, E., Landi, F., Caffarelli, C., Pifferi, M., De Marco, E., Burastero, S.E., Calori, G., Benetti, L., Bonazza, P., Puccinelli, P., Parmiani, S., Bernardini, R., Vierucci, A. (2004). Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 114(4): 851-857.
- Nouri-Aria, K.T., Wachholz, P.A., Francis, J.N., Jacobson, M.R., Walker, S.M., Wilcock, L.K., Staple, S.Q., Aalberse, R.C., Till, S.J., Durham, S.R. (2004). Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *Journal of immunology*, 172(5): 3252-3259.
- Nuttal, T.J., Thoday, K.L., van den Broek, A.H.M., Jackson, H.A., Sture, G.H., Halliwell, R.E.W. (1998). Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. *Veterinary record*, 143(5): 139-142.
- Nuttal, T. J., Hill, P. B., Bensignor, E., Willemse, T., members of the Internacional task force on canine atopic dermatitis. (2006). House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. *European society of veterinary dermatology*, 17: 223-235.
- Nuttall, T. (2008). Management of atopic dermatitis. *Veterinary Focus*, 18(1), 32–39.
- Nuttal, T., Mueller, R., Bensignor, E., Verde, M., Noli, C., Schmidt, V., Rème, C. (2009). Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Veterinary dermatology*, 20(3): 191-198.
- Nuttal, T., McEwan, N.A., Bensignor, E., Cornegliani, L., Lowenstein, C., Rème, C.A. (2012). Comparable efficacy of a topical 0.0584% hydrocortisone aceponate spray and oral ciclosporin in treating canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 23(1): 4-10.

- Nuttal, T. (2014). The genetics of canine atopic dermatitis. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp. 32-41). United Kingdom: Wiley Blackwell
- O'Hehir, R.E., Gardner, L.M. de Leon, M.P., Hales, B.J., Biondo, M., Douglass, J.A., Rolland, J.M., Sandrini, A. (2009). House dust mite sublingual immunotherapy: the role for transforming growth factor-beta and functional regulatory T cells. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 180(10): 936-947.
- Olivry, T., Moore, P. F., Affoltera, V. K. (1996). Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Archives of dermatological research*, 288: 579-585.
- Olivry, T., Dean, G. A., Tompkins, M. B., Dow, J. L., Moore, P. F. (1999). Toward a canine model of atopic dermatitis: amplification of cytokine-gene transcripts in the skin of atopic dogs. *Experimental dermatology*, 8: 204 – 211.
- Olivry, T., Hill, P. B. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 219-225.
- Olivry, T., DeBoer, D. J., Griffin, C. E., Halliwell, R. E., Hill, P. B., Hillier, A., Marsella, R., Sousa, C. A. (2001a). The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 143–146.
- Olivry, T., Dunston, S. M., Murphy, K. M., Moore, P. F. (2001b). Characterization of the inflammatory infiltrate during IgE-mediated late phase reactions in the skin of normal and atopic dogs. *Veterinary dermatology*, 12: 49-58.
- Olivry, T., Jackson, H.A., Murphy, K.M., Tater, K.C., Roberts, M. (2005). Evaluation of a point-of-care immunodot assay for predicting results of allergen-specific intradermal and immunoglobulin E serological tests. *Veterinary dermatology*, 16(2): 117-120.
- Olivry, T., Marsella, R., Iwasaki, T., Mueller, R., International task force on canine atopic dermatitis (2007a). Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 18(2): 78-86.
- Olivry, T., DeBoer, D.J., Prélaud, P., Bensignor, E. (2007b). Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *Veterinary dermatology*, 18(6): 390-391.
- Olivry, T. (2010). New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 21(1): 123-126.
- Olivry, T., DeBoer, D.J., Favrot, C., Jackson, H.A., Mueller, R.S., Nuttal, T., Prélaud, P., International task force on canine atopic dermatitis (2010a). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 21(3): 233-248.
- Olivry, T., Foster, A.P., Mueller, R.S., McEwan, N.A., Chesney, C., Williams, H.C. (2010b). Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Veterinary dermatology*, 21(1): 4-22.
- Olivry, T. (2011). Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis?. *Veterinary immunology and immunopathology*, 144: 11-16.

- Olivry, T., Saridomichelakis, M., International Comitee on Atopic Diseases of Animals (ICADA) (2013). Evidence-based guidelines for anti-allergic drug withdrawal times before allergen-specific intradermal and IgE serological tests in dogs. *Veterinary dermatology*, 24(2): 225-e49.
- Okayama, T., Matsuno, Y., Yasuda, N., Tsukui, T., Suzuta, Y., Koyanagi, M., Sakaguchi, M., Ishii, Y., Olivry, T., Masuda, K. (2011). Establishment of a quantitative ELISA for the measurement of allergen-specific IgE in dogs using anti-IgE antibody cross-reactive to mouse and dog IgE. *Veterinary immunology and immunopathology*, 139: 99-106.
- O'Regan, G. M., Sandilands, A., McLean, W. H. I., Irvine, A. D. (2008). Filaggrin in atopic dermatitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 122(4): 689-693.
- Owczarek-Lipska, M., Lauber, B., Molitor, V., Meury, S., Kierczak, M., Tengvall, K., Webster, M. T., Jagannathan, V., Schlotter, Y., Willemse, T., Hendricks, A., Bergvall, K., Hedhammar, A., Andersson, G., Lindblad-Toh, K., Favrot, C., Roosje, P., Marti, E., Leeb, T. (2012). Two loci on chromosome 5 are associated with serum IgE levels in Labrador retrievers. *PLoS one*, 7(6): 1-8.
- Ozmen, I., Marsella, R. (2014). Sublingual immunotherapy in human and canine atopic dermatitis: A mini review. *Veterinary sciences*, 1(3): 136-149.
- Ozdemir, C., Akdis, M., Akdis, C.A. (2009). T regulatory cells and their counterparts: masters of immune regulation. *Clinical and experimental allergy*, 39(5): 626-639.
- Pajno, G.B., Caminiti, L., Vita, D., Barberio, G., Salzano, G., Lombardo, F., Canonica, G.W., Passalacqua, G. (2007). Sublingual immunotherapy in mite-sensitized children with atopic dermatitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *The journal of allergy and clinical immunology*, 120(1): 164-170.
- Palomares, O., Yaman, G., Azkur, A. K., Akkoc, T., Akdis, M., Akdis, C. A. (2010). Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European journal of immunology*, 40: 1232-1240.
- Palomares, O., Rückert, B., Jartti, T., Küçüksezer, U.C., Puhakka, T., Gomez, E., Fahrner, H.B., Speiser, A., Jung, A., Kwok, W.W., Kalogjera, L., Akdis, M., Akdis, C.A. (2012). Induction and maintenance of allergen-specific FOXP3+ Treg cells in human tonsils as potential first-line organs of oral tolerance. *Journal of allergy and clinical immunology*, 129(2): 510-520.
- Park, S., Ohya, F., Yamashita, K., Nishifuji, K., Iwasaki, T. (2000). Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *Journal of veterinary medical science*, 62(9): 983-988.
- Passalacqua, G., Albano, M., Fregonese, L., Riccio, A., Pronzato, C., Mela, G.S., Canonica, G.W. (1998). Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet*, 351(9103): 629-632.
- Passalacqua, G. (2014). Recommendations for appropriate sublingual immunotherapy clinical trials. *The world allergy organization journal*, 7(1): 2-5.
- Penagos, M., Passalacqua, G., Compalati, E., Baena-Cagnani, C.E., Orozco, S., Pedroza, A., Canonica, G.W. (2008). Metaanalysis of the efficacy of sublingual immunotherapy

in the treatment of allergic asthma in pediatric patients, 3 to 18 years of age. *Chest*, 133(8): 599-609.

- Petrova, S., Berzhets, V.M., Al'banova, V.I., Bystritskaia, T.F., Petrova, N.S. (2001). Immunotherapy in the complex treatment of patients with atopic dermatitis with sensitization to house dust mites [abstract]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, I immunobiologii*, Jan-Feb(1): 33-36. Acedido a Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11236499>.
- Picco, F., Zini, E., Nett, C., Naegeli, C., Bigler, B., Rüfenacht, S., Roosje, P., Ricklin-Gutzwiller, M. E., Wilhem, S., Pfister, J., Meng, E., Favrot, C. (2008). A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Journal compilation. ESDV and ACVD*. 19(150-155).
- Piekutowska, A., Pin, D., Rème, C. A., Gatto, H., Haftek, M. (2008). Effects of a topically applied preparation of epidermal lipids on the *stratum corneum* barrier of atopic dogs. *Journal of comparative pathology*, 138: 197-203.
- Platzer, B., Rüter, F., Mee, J., Fiebiger, E. (2011). Soluble IgE receptors – elements of the IgE network. *Immunology letters*, 141: 36-44.
- Plumb, D.C. (Ed.). (2008). *Plumb's veterinary drug handbook* (6th ed.). Iowa, U.S.A.: Blackwell Publishing.
- Pol, G., Brazis, P. (2007). Alergenos mais frequentes na dermatite atópica canina. *Veterinary medicine*, Maio/Junho: 16-19.
- Pol, G., Brazis, P. (2013). Dermatite atópica num Bulldog Francês. *Clinica animal*, 2: 18-20.
- Prélaud, P. (2014). Allergens and environmental influence. In C. Noli, A. Foster & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy*. (pp.24-31). United Kingdom: Wiley Blackwell
- Rybníček, J., Lau-Gillard, P. J., Harvey, R., & Hill, P. B. (2009). Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 115–122.
- Quirino, T., Iemoli, E., Siciliani, E., Parmiani, S., Milazzo, F. (1996). Sublingual versus injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind (double dummy) study [abstract]. *Clinical and experimental allergy*, 26(11): 1253-1261. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8955574>.
- R: A language and environment for statistical Computing (2014). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Acedido em Jan. 01, 2014, disponível em: <http://www.R-project.org/>.
- Reedy, L. M., Miller, W. H., Willemsse, T. (1997). *Allergic skin diseases of dogs and cats*. (2nd ed.). London: Saunders.
- Rees, C.A. (2001). Canine and feline atopic dermatitis: a review of the diagnostic options. *Clinical techniques in small animal practice*, 16(4): 230-232.

- Ricklin, M. E., Roosje, P., Summerfield, A. (2010). Characterization of canine dendritic cells in healthy, atopic and non-allergic inflamed skin. *Journal of clinical immunology*, 30: 845-854.
- Rook, G. A. W., Brunet L. R. (2005). Old friends for breakfast. *Clinical and experimental allergy*, 35:841-842.
- Rolinck-Werninghaus, C., Kopp, M., Liebke, C., Lange, J., Wahn, U., Niggemann, B. (2005). Lack of Detectable Alterations in Immune Responses during Sublingual Immunotherapy in Children with Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis to Grass Pollen [abstract]. *International archives of allergy and immunology*, 136(2): 134-141. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15650310>.
- Romagnani, S. (2000). The role of lymphocytes in allergic disease. *Journal of allergy and clinical immunology*, 105(3): 399-408.
- Roque, J. B., O'Leary, C. A., Kyaw-Tanner, M., Latter, M., Mason, K., Shipstone, M., Vogelnest, L., Duffy, D. (2011). High allergen-specific serum immunoglobulin E levels in nonatopic West Highland white terriers. *Veterinary dermatology*, 22(3): 257-266.
- Roque, J. B., O'Leary, C. A., Duffy, D. L., Kyaw-Tanner, M., Gharahkhani, P., Vogelnest, L., Mason, K., Shipstone, M., Latter, M. (2012). Atopic dermatitis in West Highland white terriers is associated with a 1.3-Mb region on CFA 17. *Immunogenetics*, 64: 209-217.
- Rosser, E.J. (2004). Comparison of the results of intradermal testing and aeroallergen-specific IgE serum testing in dogs with warm weather, seasonal atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 15(s1): 3-4.
- Rossi, R.E., Monasterolo, G. (2005). A pilot study of feasibility of ultra-rush (20-25 minutes) sublingual-swallow immunotherapy in 679 patients (699 sessions) with allergic rhinitis and/or asthma [abstract]. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 18(2): 277-285. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15888250>.
- Sander, I., Fleischer, C., Meurer, U., Bruning, T., Raulf-Heimsoth, M. (2009). Allergen content of grass pollen preparations for skin prick testing and sublingual immunotherapy. *Allergy*, 64(10): 1486-1492.
- Santoro, D., Marsella, R., Ahrens, K., Graves, T. K., Bunick, D. (2013). Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 24: 329-e73.
- Saporta, D. (2012). Efficacy of sublingual immunotherapy versus subcutaneous injection immunotherapy in allergic patients. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/492405>
- Saridomichelakis, M. N., Koutinas, A. F., Gioulekas, D., & Leontidis, L. (1999). Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 69(1), 61-73.
- Saridomichelakis, M. N., Marsella, R., Lee, K. W., Esch, R. E., Farmaki, R., Koutinas, A. F. (2008). Assessment of cross-reactivity among five species of house dust and storage mites. *Veterinary dermatology*, 19: 67-76.

- Sasaki, T., Shiohama, A., Kubo, A., Kawasaki, H., Ishida-Yamamoto, A., Yamada, T., Hachiya, T., Shimizu, A., Okano, H., Kudoh, J., Amagai, M. (2013). A homozygous nonsense mutation in the gene for Tmem79, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. *Journal of allergy and clinical immunology*, 132: 1111-1120.
- Savolainen, J., Nieminem, K., Laaksonen, K., Laiho, T., Jacobsen, L., Lahesmaa, R., Terho, E.O., Valovirta, E. (2007). Allergen-induced in vitro expression of IL-18, SLAM and GATA-3 mRNA in PBMC during sublingual immunotherapy. *Allergy*, 62(8): 949-953.
- Scadding, G.W., Shamji, M.H., Jacobson, M.R., Lee, D.I., Wilson, D., Lima, M.T., Pitkin, L., Pilette, C., Nouri-Aria, K., Durham, S.R. (2010). Sublingual grass pollen immunotherapy is associated with increases in sublingual Foxp3-expressing cells and elevated allergen-specific immunoglobulin G4, immunoglobulin A and serum inhibitory activity for immunoglobulin E-facilitated allergen binding to B cells. *Clinical and experimental allergy*, 40(4): 598-606.
- Scadding, G.W. & Durham, S.R. (2011). Mechanisms of sublingual immunotherapy. *Immunology and allergy clinics of North America*, 31(2): 191-209.
- Schnabl, B., Bettenay, S.V., Mueller, R.S. (2006). Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. *Veterinary records*, 158(3): 81-85.
- Scott, D. W., Paradis, M. (1990). A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1 988). *Can Vet J*, 31(830-835).
- Scott, D. W., Miller, W. H., Griffin, C. E. (1995). *Muller & Kirk's small animal dermatology* (5a ed.). Philadelphia: Saunders.
- Scott, D. W., Miller, W. H., Griffin, C. E. (2001). *Muller & Kirk's small animal dermatology* (6a ed.). Philadelphia: Saunders.
- Senti, G., Prinz Vavricka, B.M., Erdmann, I., Diaz, M.I., Markus, R., McCormack, S.J., Simard, J.J., Wuthrich, B., Cramer, R., Graf, N., Johansen, P., Kundig, T.M. (2008). Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: A randomized controlled trial. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(46): 17908-17912.
- Shaikh, W.A., Shaikh, S.W. (2012). A prospective study on the safety of sublingual immunotherapy in pregnancy. *Allergy*, 67(6): 741-743.
- Shaw, S.C., Wood, J. L., Freeman, J., Littlewood, J. D., Hannant, D. (2004). Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *American journal of veterinary research*, 65(7): 1014-1020.
- Shaw, T. E., Currie, G. P., Koudelka, C. W. & Simpson, E. L. (2011). Eczema prevalence in the United States: Data from the 2003 national survey of children's health. *J Invest Dermatol*, 131(1): 67-73.
- Shida, M., Kadoya, M., Park, S.J., Nishifuji, K., Momoi, Y., Iwasaki, T. (2004). Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 102(1-2): 19-31.

- Shimada, K., Yoshihara, T., Yamamoto, M., Konno, K., Momoi, Y., Nishifuji, K., Iwasaki, T. (2008). Transepidermal water loss (TEWL) reflects skin barrier function of dog. *Journal of veterinary medical science*, 70(8): 841-843.
- Shimada, K., Yoon, J., Yoshihara, T., Iwasaki, T., Nishifuji, K. (2009). Increased transepidermal waterloss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 20, 541-546.
- Simons, F.E., Frewm A.J., Ansotegui, I.J., Bochner, B.S., Golden, D.B., Finkelman, F.D., Leung, D.Y., Lotvall, J., Marone, G., Metcalfe, D.D., Müller, U., Rosenwasser, L.J., Sampson, H.A., Schwartz, L.B., van Hage, M., Walls, A.F. (2007). Risk assessment in anaphylaxis: current and future approaches. *Journal of allergy and clinical immunology*, 120(1 Suppl): S2-S4.
- Skoner, D., Gentile, D., Bush, R., Fasano, M.B., McLaughlin, A., Esch, R.E. (2010). Sublingual immunotherapy in patients with allergic rhinoconjunctivitis caused by ragweed pollen. *Journal of allergy and clinical immunology*, 125(3): 660-666.
- Smits, H.H., Engering, A., van der Kleij, D., de Jong, E.C., Schipper, K., van Capel, T.M., Zaat, B.A., Yazdanbakhsh, M., Wierenga, E.A., van Kooyk, Y., Kapsenberg, M.L. (2005). Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *Journal of allergy and clinical immunology*, 115(6): 1260-1267.
- Sousa, C.A., Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 153-157.
- Stedman, K., Lee, K., Hunter, S., Rivoire, B., McCall, C., Wassom, D. (2001). Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Veterinary immunology and immunopathology*, 78: 349-355.
- Steffan, J., Favrot, C., Mueller, R. (2006). A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of cyclosporin for the treatment of atopic dermatitis in dogs. *Veterinary dermatology*, 17(1): 3-16.
- Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene and household size. *Br Med J*, 299, 1258-1260.
- Takaoka, A., Arai, I., Sugimoto, M., Yamauchi, A., Tanaka, M., Nakaike, S. (2005). Expression of IL-31 gene transcripts in NC/Nga mice with atopic dermatitis. *European journal of pharmacology*, 516(2): 180-181.
- Tari, M.G., Mancino, M., Monti, G. (1990). Efficacy of sublingual immunotherapy in patients with rhinitis and asthma due to house dust mite. A double-blind study [abstract]. *Alergologia et immunopathologia*, 18(5): 277-284. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2097894>.
- Tarpataki, N., Bigler, B., Vajdovich, P., Vörös, K. (2008). Comparison between an intradermal skin test and allergen-specific IgE-ELISA for canine atopic dermatitis. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 150(3): 117-122.
- Thom, N., Favrot, C., Failing, K., Mueller, R.S., Neiger, R., Linek, M. (2010). Intra- and interlaboratory variability of allergen-specific IgE levels in atopic dogs in three

- different laboratories using the Fc- ϵ receptor testing. *Veterinary immunology and immunopathology*, 133 (2-4): 183-189.
- Tizard, I. R. (2000). *Veterinary immunology* (6a ed.). Philadelphia: Saunders company.
- Tsukui, T., Sakaguchi, M., Kurata, K., Maeda, S., Ohmori, K., Masuda, K., Tsujimoto, H., Iwabuchi, S. (2012). Measurement for canine IgE using canine recombinant high affinity IgE receptor α chain (Fc ϵ R1 α). *Journal of veterinary medical science*, 74(7): 851-856.
- Univet (2015). *Panel de alergenos Unitest*. Acedido em Jan. 8, 2014, disponível em: http://www.lab.univet.es/diagnostico_info.php?id=4.
- Van Beeck, F. A. L., Hoekstra, H., Brunekreef, B., Willemse, T. (2010). Inverse association between endotoxin exposure and canine atopic dermatitis. *The veterinary journal*, 190: 215-219.
- Vanbervliet, B., Tourdot, S., Mascarell, L., Rouzaire, P., Vocanson, M., Rozières, A., Benetière, J., Moingeon, P., Nicolas, J.F., Hennino, A. (2012). SLIT prevents the development of eczema in percutaneous allergen-sensitized mice. *The journal of investigative dermatology*, 132(1): 244-246.
- Varney, V.A., Hamid, Q.A., Gaga, M., Ying, S., Jacobson, M., Frew, A.J., Kay, A.B., Durham, S.R. (1993). Influence of Grass Pollen Immunotherapy on Cellular Infiltration and Cytokine mRNA Expression during Allergen-induced Late-Phase Cutaneous Responses. *The journal of clinical investigation*, 92(2): 644-651.
- Wassom & Grieve (1998). In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of Fc ϵ R1 α -based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Veterinary dermatology*, 9(3): 173-178.
- Weiner, H.L. (2001). Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunological reviews*, 182: 207-214.
- Wilhem, S., Kovalik, M., Favrot, C. (2011). Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology*, 22(2): 143-149.
- Willemse, T., Bardagi, M., Carlotti, D.N., Ferrer, L., Fondati, A., Fontaine, J., Leistra, M., Noli, C., Ordeix, L., Scarpella, F., Schleifer, S., Sinke, J., Roosje, P. (2009). *Dermatophagoides farinae*-specific immunotherapy in atopic dogs with hypersensitivity to multiple allergens: A randomised, double blind, placebo-controlled study. *Veterinary journal*, 180(3): 337-342.
- Wilson, D.R., Lima, M.T., Durham, S.R. (2005). Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis: systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 60(1): 4-12.
- Wong, C.K., Leung, K.M., Qiu, H.N., Chow, J.Y., Choi, A.O., Lam, C.W. (2012). Activation of eosinophils interacting with dermal fibroblasts by pruritogenic cytokine IL-31 and IL-33: Implications in atopic dermatitis. *PLoS one*, 7(1): 1-13.
- World Allergy Organization (2007). *World Allergy Organization: A world federation of allergy, asthma & clinical immunology societies*. Acedido em Maio 10, 2014, disponível em http://www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/allergic_march/.

- Wollenberg, A., & Klein, E. (2007). Current aspects of innate and adaptive immunity in atopic dermatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 33(1-2), 35–44.
- Wollenberg, A., R awer, H.-C., & Schaubert, J. (2011). Innate immunity in atopic dermatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 41(3), 272–281.
- Wood, S. H., Clements, D. N., Oller, W. E., Nuttal, T., McEwan, N. A., Carter, S. D. (2009). Gene expression in canine atopic dermatitis and correlation with clinical severity scores. *Journal of dermatological science*, 55: 27-33.
- Yukselen, A., Kendirli, S.G., Yilmaz, M., Altintas, D.U., Karakoc, G.B. (2012). Effect of one-year subcutaneous and sublingual immunotherapy on clinical and laboratory parameters in children with rhinitis and asthma: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study [abstract]. *International archives of allergy and immunology*, 157(3): 288-298. Acedido em Nov. 11, 2014, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22041501>.
- Zur, G., Ihrke, P. J., White, S. D., Kass, P.H. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992 – 1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology*. 13 (89-102).

VI. Anexos

ANEXO I – Resumo das recomendações da ITFCAD para o tratamento sintomático da DAC (Olivry et al., 2010a).

Tratamento sintomático da DAC	
Grupos de fármacos	Utilização
Antibióticos e antifúngicos	Utilizados quando os sinais clínicos e exames laboratoriais (citologia, isolamento e/ou teste de sensibilidade a antibióticos) são compatíveis com infecção bacteriana ou fúngica, na pele ou conduto auditivo.
Champôs não irritantes	Devem ser utilizados como reforço da barreira cutânea e para otimização da higiene da pele. Podem ser utilizados champôs antiseboreicos ou antibacterianos, dependendo das lesões cutâneas do animal.
Anti-histamínicos	Não conduzem por si só a reduções significativas de prurido. Podem ser utilizados juntamente com outras moléculas, para diminuição da dose necessária de GC.
Glucocorticóides	Para redução do prurido e lesões cutâneas. São utilizadas formulações tópicas em apresentações clínicas localizadas e orais para quadros mais graves e disseminados. Os GC estão associados a efeitos adversos secundários graves pelo que a sua utilização prolongada está contraindicada.
Imunomoduladores	Utilizados no maneio crónico da DAC uma vez que os seus benefícios clínicos apenas são visíveis após uma semana (Tacrolimus a 0,1%) ou um mês (Ciclosporina) de administração.
Ácidos gordos essenciais	Utilizados no maneio crónico da DAC para reforço da barreira cutânea e redução da dose necessária de GC.

ANEXO II - Questionário realizado aos donos.



Hospital Veterinário VetOeiras - HVCLC
Seguimento do tratamento com SLIT

Data ____ / ____ / ____

Nome do animal: _____ Data de nascimento: _____

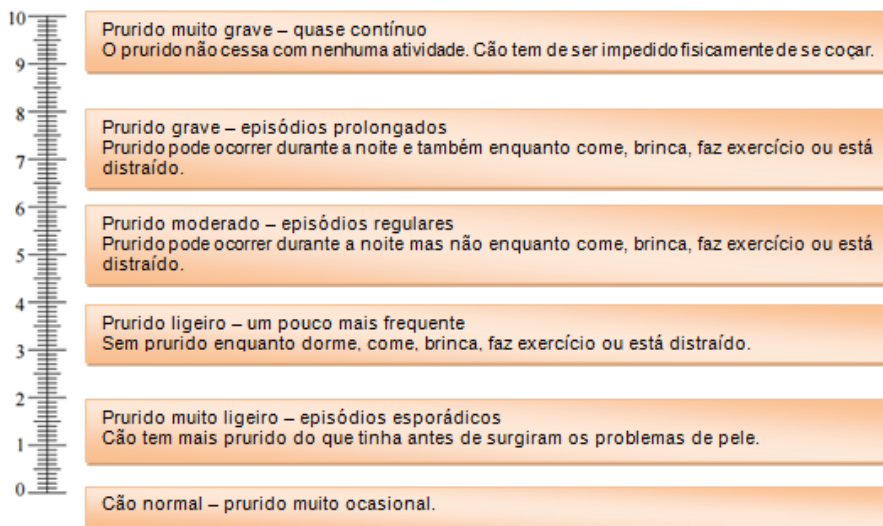
Nome do dono: _____ Telefone: _____

SECÇÃO A – Caracterização do animal

- 1- Raça: _____
- 2- Género: ____
- 3- Idade quando surgiram os primeiros sinais de doença: ____
- 4- Idade quando iniciou a SLIT: ____

SECÇÃO B – Escalas comparativas

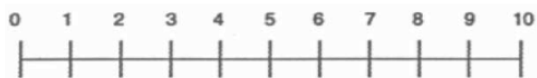
5 - Classifique de 0 a 10 o prurido do animal antes e no final da imunoterapia sublingual, utilizando a seguinte escala:



Antes de iniciar a SLIT ____

Final do tratamento com SLIT ____

6- Classifique de 0 a 10 a gravidade das lesões máculas e pápulas na pele do animal antes e no final da imunoterapia sublingual.



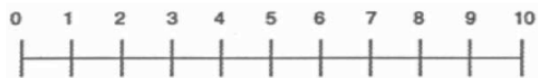
Pele sem máculas e pápulas.

Pele praticamente toda coberta com máculas e pápulas.

Antes de iniciar a SLIT ____

Final do tratamento com SLIT ____

6- Classifique de 1 a 10 o grau da lesão eritema da pele do animal antes e no final da imunoterapia sublingual.



Pele sem eritema.

Pele praticamente toda eritematosa.

Antes de iniciar a SLIT ____

Final do tratamento com SLIT ____

SECÇÃO C: Efeitos adversos e facilidade de aplicação

7- Detetou quaisquer efeitos adversos decorrentes da aplicação da imunoterapia sublingual, tais como diarreias, vômitos, prostração, prurido local na zona perioral ou angioedema?

Não ____

Sim ____

Quais? _____

Quanto tempo após a aplicação? _____

8- Como considera a vacina sublingual quanto à sua facilidade de aplicação?

Impossível ____

Complicada ____

Razoável ____

Fácil ____

SECÇÃO D: Eficácia do tratamento

9- Na sua opinião, como classifica a eficácia do tratamento 1 ano após o seu início?

Nula/Baixa__

Razoável/Boa__

Boa/Muito boa__

10- Se a sua resposta foi Razoável, Boa ou Muito boa, o animal piorou após 1 ano de tratamento?

a. Sim __

Quanto tempo após, aproximadamente? __

b. Não__

11- Comentários adicionais: