PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DÉVAKI LIEGE DE ASSUNÇÃO

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALÉRGENOS PROVENIENTES DE ÁCAROS NA PELAGEM E NA POEIRA DE DOMICÍLIOS DE CÃES (*Canis lupus familiaris*) COM DERMATITE ATÓPICA

(Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and households dust of dogs (*Canis lupus familiaris*) with atopic dermatitis)

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS
2014

DÉVAKI LIEGE DE ASSUNÇÃO

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALÉRGENOS PROVENIENTES DE ÁCAROS NA PELAGEM E NA POEIRA DE DOMICÍLIOS DE CÃES (*Canis lupus familiaris*) COM DERMATITE ATÓPICA

(Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and households dust of dogs (*Canis lupus familiaris*) with atopic dermatitis)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias.

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2014

Dados da Catalogação na Publicação

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR

Biblioteca São José dos Pinhais

Assunção, Dévaki Liege de

A851a 2014 Avaliação da concentração de alérgenos provenientes de ácaros da pelagem e na poeira de domicílios de cães (Canis lúpus familiaris) com dermatite atópica / Dévaki Liege de Assunção ; orientador, Marconi Rodrigues de Farias. – 2014.
87 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais, 2014
Bibliografia: f. 51-61

1. Cão - Doenças. 2. Dermatopatia. 3. Poeira. 4. Prurido.

I. Farias, Marconi Rodrigues de. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária. IV. Título.

CDD 20. ed. – 636.089

Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Câmpus São José dos Pinhais

ATA Nº 0056 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ALUNA DÉVAKI LIEGE DE ASSUNÇÃO

Aos doze dias do mês de agosto do ano de dois mil e quatorze, às 9:00 horas, realizou-se na sala 06, 2º andar, Bloco 01, Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, localizado no Campus de Curitiba, Rua Imaculada Conceição, nº 1155, Prado Velho – Curitiba – PR, a sessão pública de defesa da Dissertação da mestranda Dévaki Liege de Assunção, intitulada: **"AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALÉRGENOS DE ÁCAROS NA PELAGEM E NA POEIRA DE DOMICÍLIOS DE CÃES (*Canis lupus familiaris*) COM DERMATITE ATÓPICA"**. A mestranda concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pelo Professor orientador e Presidente da banca, Dr. Marconi Rodrigues de Farias (PUCPR), auxiliado pelos Professores Doutores Carlos Eduardo Larsson (USP) e Pedro Vicente Michelotto Junior (PUCPR). Procedeu-se à exposição da Dissertação, seguida de sua argüição pública e defesa. Encerrada a fase, os examinadores expediram o parecer final sobre a Dissertação, que nos termos do Artigo 53 do Regulamento deste Programa de Pós-Graduação, foi considerada Aprovada.

Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias (Presidente)
Assinatura_____

Prof. Dr. Carlos Eduardo Larsson (USP)
Assinatura_____

Prof. Dr. Pedro Vicente Michelotto Junior (PUCPR)
Assinatura_____

Proclamado o resultado, o Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos, e para que tudo conste, eu Caroline Nocera Bertton, confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

São José dos Pinhais, 12 de agosto de 2014.

Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Caroline Nocera Bertton

Caroline Nocera Bertton
Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS…….. vi

FORMATO DA DISSERTAÇÃO……... viii

RESUMO GERAL……..... ix

GENERAL ABSTRACT…….. x

LISTA DE ABREVIATURAS…… xi

LISTA DE TABELAS……..…... xiii

LISTA DE FIGURAS……... xiv

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO……..……..…… 1

2 TAXONOMIA E ECOLOGIA..... 2

3 PRINCIPAIS ALÉRGENOS DE ÁCAROS..... 5

4 PORTAS DE ENTRADA DOS ALÉRGENOS..... 8

5 RESPOSTA IMUNOLÓGICA E TECIDUAL AOS ALÉRGENOS..... 8

5.1 Resposta inata aos alérgenos dos ácaros..... 9

5.2 Apresentação antigênica, ativação da resposta Th2 e desgranulação mastocitária..... 10

5.3 Perpetuação da resposta inflamatória..... 11

6 SINTOMAS DA DERMATITE ATÓPICA *STRICTO SENSU*..... 11

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 12

CAPÍTULO 2

Resumo..... 13

Abstract..... 14

1 INTRODUÇÃO..... 15

2 OBJETIVOS..... 17

2.1 Objetivos gerais..... 17

2.2 Objetivos específicos..... 17

Página

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 17
3.1 Comitê de Ética..... 17
3.2 Tipo de estudo..... 18
3.3 Locais de colheita das amostras..... 18
3.4 Grupos experimentais..... 19
3.4.1 Critérios de Inclusão..... 19
3.4.2 Critérios de Exclusão..... 19
3.5 Avaliação epidemiológica dos domicílios..... 20
3.6 Avaliação do prurido e do escore lesional em animais do grupo GDA.... 20
3.7 Colheita das amostras..... 21
3.7.1 Colheita das amostras da poeira domiciliar..... 21
3.7.2 Colheita das amostras da pelagem dos cães..... 23
3.7.3 Acondicionamento das amostras..... 24
3.8 Preparo das amostras..... 24
3.9 Análise das concentrações de alérgenos..... 27
3.9.1 Avaliação da concentração de alérgenos *Dermatophagoides* spp. (Der p 1 e Der f 1)..... 27
3.9.2 Avaliação da concentração de alérgenos de *Blomia tropicalis* (Blo t 5) 28
3.10 Análise estatística..... 29
4 RESULTADOS..... 30
4.1 Características dos pacientes..... 30
4.2 Características dos domicílios de cães dos grupos GDA e GS 32
4.3 Temperatura e umidade do ar observadas durante o estudo..... 33
4.4 Avaliação da frequência dos alérgenos..... 34
4.4.1 Domicílios dos cães do grupo GDA..... 34
4.4.2 Avaliação da presença de Der p 1, Der f 1 e Blot 5 na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com DA..... 34
4.4.3 Domicílios dos cães do grupo GS..... 35

Página

4.4.4 Avaliação da presença de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis..... 35
4.5 Avaliação da concentração dos alérgenos..... 37
4.5.1Avaliação da concentração de alérgenos nos domicílios e na pelagem dos cães estudados..... 37
4.5.2 Avaliação dos escores lesionais e de prurido obtidos dos cães com dermatite atópica..... 42
5 DISCUSSÃO..... 43
6 CONCLUSÃO..... 49
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 49
REFERÊNCIAS..... 50
APÊNDICES..... 61
ANEXOS..... 65

“A mente que se abre a uma nova ideia,
jamais volta ao seu tamanho inicial”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, saúde e proteção concedidas a mim, pela força e coragem para enfrentar os obstáculos e por permitir que eu sempre alcançasse os meus objetivos.

Aos meus pais, Luiz e Eleni, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando, dando suporte e fazendo grandes esforços para que eu pudesse realizar mais este sonho. Espero que esta etapa, que agora termino, possa de alguma forma retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que constantemente me oferecem. Vocês são os meus maiores exemplo de vida!

Aos meus irmãos, Débora, Duaya e Darwin, meu agradecimento especial pelo companheirismo, amizade, alegria, carinho e pela confiança que sempre depositaram em mim durante todos esses anos de convivência. Amo todos vocês!

Ao meu orientador, professor Dr. Marconi Rodrigues de Farias, pela orientação e apoio incondicionais que muito elevaram os meus conhecimentos científicos e sem dúvida estimularam o meu desejo de querer sempre saber mais e a vontade constante de querer fazer melhor. Agradeço também a oportunidade de poder acompanhá-lo nos atendimentos clínicos e pela confiança que depositou em mim desde o início.

A Dra. Michelle Rodrigues Barbosa, pela orientação e colaboração na execução deste projeto e principalmente pelo apoio e amizade.

Ao professor Dr. Saulo Henrique Weber, professora Dra. Cláudia Turra Pimpão e ao Dr. Fabiano Montiani Ferreira, agradeço pela dedicação e auxilio na parte estatística da dissertação.

Aos meus amigos do mestrado, agradeço pela amizade, companheirismo e pelos momentos divididos juntos. Principalmente à Juliane Possebom, Graziele Vandresen, Jennifer Bellio, Luciana Wancura e Jorge Bárcena Barriuso, que de alguma maneira ajudaram a realizar o meu projeto, por me darem força tornando o meu trabalho mais leve e principalmente pela amizade sincera e espontânea. Ao colega Rafael Rodrigues Ganho, que participou do começo ao fim do projeto, sempre disposto a me ajudar, fica meu sincero agradecimento. Saibam que estarei à disposição sempre que precisarem!

As colegas Polyanne Schmidlin e Suzana Bahr Solomon, pela oportunidade de acompanhá-las nos atendimentos clínicos, pela colaboração com a pesquisa, ensinamentos e conselhos durante esse período de mestrado.

A todos os professores e médicos veterinários residentes da Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), agradeço por todo o carinho, dedicação, conhecimento compartilhado, e por tornarem esse período de trabalho agradável e de grande aprendizado.

A Caroline Nocera, pela dedicação prestada junto à secretaria de Pós-graduação.

A empresa farmacêutica Virbac, que apoiou e financiou parte do projeto, facilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Aos proprietários dos animais, que prontamente aceitaram a participar da pesquisa tornando todo esse trabalho possível.

E finalmente, aos animais por serem exemplos de carinho, fidelidade, amizade, afeto e doação.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos, a metodologia aplicada nos mesmos foi de acordo com as normas de Vancouver Modificada.

O capítulo 1 trata-se de revisão de literatura, abordando Alérgenos de Ácaros da Poeira Doméstica como Fatores Extrínsecos da Dermatite Atópica canina.

O capítulo 2 refere-se à Avaliação da Concentração de Alérgenos Provenientes de Ácaros na Pelagem e na Poeira de Domicílios de Cães (*Canis lupus familiaris*) com Dermatite Atópica.

As referências de todos os capítulos se encontram em lista única ao final da dissertação.

RESUMO GERAL

A dermatite atópica (DA) é uma genodermatose inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente, de alta incidência em cães. A presença de alérgenos provenientes de ácaros na poeira doméstica é uma causa comum de sensibilização e desenvolvimento de doença alérgica respiratória, oftálmica e tegumentar, tanto nos seres humanos como nos cães. A sensibilidade aos alérgenos dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae* é aceita como sendo a causa mais comum de rinite e asma alérgicas em humanos e, também, é considerada como um importante fator extrínseco da dermatite atópica em cães. Além disso, alérgenos do ácaro *Blomia tropicalis* também têm sido incriminados como causa de sensibilização em crianças. O presente estudo teve como objetivo avaliar a concentração de alérgenos Der p 1, Der f 1 e Blo t 5, na pelagem e no ambiente domiciliar de cães com DA, e sua relação com os escores lesionais e de prurido. Para tal, foram selecionados 20 cães com DA e 20 cães saudáveis, e seus domicílios. O diagnóstico de DA foi baseado nos critérios de Favrot et al. (2010), e seus escores de prurido e lesional estabelecidos a partir das escalas de Rybnicek et al. (2009) e CADLI (Plant et al., 2012), respectivamente. As amostras de poeira foram colhidas com um aspirador de pó doméstico. Para cada local de colheita, foi aspirado $1m^2$ por dois minutos. As amostras foram recolhidas em filtros separadamente, transferidas para envelopes plásticos, seladas e mantidas congeladas até serem analisadas pelo método de ELISA, sendo todos os dados analisados estatisticamente e considerado o nível de significância mínimo de 5%. Na pelagem dos cães com DA, a concentração média de Der p 1 foi de 0,25±1,03 $\mu g.g^{-1}$ de poeira e nos cães saudáveis foi de 0,03±0,06 $\mu g.g^{-1}$. No ambiente de cães com DA, o Der p 1 foi encontrado em maior concentração média no tapete (2,18±2,25 $\mu g.g^{-1}$), seguido pelo sofá (1,53±1,96 $\mu g.g^{-1}$), cama (1,14±1,63 $\mu g.g^{-1}$) e roupa de cama dos cães (0,64±1,09 $\mu g.g^{-1}$), e chão (0,14±0,20 $\mu g.g^{-1}$). As concentrações de Der p 1 no tapete, sofá e cama dos cães foram significativamente maiores que na pelagem de cães com dermatite atópica ($p<0,05$). Enquanto que, não houve diferença estatística quando comparadas as concentrações de Der f 1 e Blo t 5 nos diferentes ambientes avaliados ($p>0,05$). As concentrações de alérgenos Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 se equivaleram em ambientes de cães com DA e saudáveis ($p>0,05$), à exceção do tapete, que apresentou maior concentração de Der p 1 nos domicílios de cães com dermatite atópica ($p<0,05$). Não houve relação significativa entre os níveis de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 e os escores de prurido e lesionais dos cães com DA ($p>0,05$). Entre os alérgenos estudados, o Der p 1 foi o mais comumente encontrado, prevalecendo no tapete, no sofá e na cama dos cães.

Palavras-chave: Dermatopatia. Hipersensibilidade. Poeira. Prurido.

GENERAL ABSTRACT

Atopic dermatitis is an inflammatory, itchy, chronic, recurrent, and highly incidence skin disease in dogs. The allergens from the house dust mites are the main responsible for the sensitization and the development of clinical symptoms of allergic diseases in domestic environments. This study evaluated the concentration of Der p 1, Der f 1 and Blo t 5, in dog's fur and their households, determining their relationship with lesional and pruritus scores. Twenty dogs with atopic dermatitis (AD) and 20 healthy dogs were selected as well as their households. The diagnosis of AD was clinical based on Favrot's et al. (2010) criteria and its pruritus and lesional scores were established using Rybnicek et al. (2009) and CADLI (Plant et al., 2012) scales, respectively. Dust samples were collected with a domestic vacuum cleaner. For each collection site, $1m^2$ was vacuumed for two minutes; samples were collected in separate filters transferred into plastic containers, sealed and kept frozen until analyzed by the ELISA method. All the data were statistically analyzed, considering the minimum significance level of 5%. In the fur of atopic dogs, the average concentration of Der p 1 was 0.25±1.03 $\mu g.g^{-1}$, while in healthy dogs was 0.03±0.06 $\mu g.g^{-1}$. In atopic dogs households, Der p 1 was found in higher concentration on carpet (2.18±2.25 $\mu g.g^{-1}$), followed by couch (1.53±1.96 $\mu g.g^{-1}$), bed (1.14±1.63 $\mu g.g^{-1}$), dog´s bed linen (0.64±1.09 $\mu g.g^{-1}$) and floor (0.14±0.20 $\mu g.g^{-1}$). Average concentration of Der p 1 on the couch, carpet and dog´s bed was significantly higher than in the fur of dogs with atopic dermatitis ($p<0.05$). There was no statistical difference when comparing the concentrations of Der f 1 and Blo t 5 in different environments of atopic dogs ($p>0.05$). The concentrations of Der p 1, Der f 1 and Blo t 5 were equivalent in atopic and non-atopic dog's households. Except the carpet, that had higher concentration of Der p 1 in the households of dogs with atopic dermatitis ($p<0.05$). There was no evident correlation with levels of allergens and pruritus/lesional scores of dogs with AD ($p>0.05$). Among the allergens studied, Der p 1 was the most commonly found, prevailing on carpet, couch and dog´s bed.

Keywords: Dermatopathy. Hypersensitivity. Dust. Pruritus.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP - Adenosina trifosfato

Blo t 5 – Alérgeno do ácaro *Blomia tropicalis* grupo 5

°C – Grau Celsius

CADLI - Canine Atopic Dermatitis Lesion Index

CCL20 – Ligante de quimiocina 20

CD - Células dendríticas

CLR - Receptor de lectina tipo C

DA – Dermatite atópica

DAMPs - Moléculas associadas ao dano

Der f – Alérgeno do ácaro *Dermatophagoides farinae* grupo 1

DNA - ácido desoxirribonucleico

Der p 1 - Alérgeno do ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* grupo 1

g - Grama

GM-CSF – Fator de estimulação dos granulócitos e macrófagos

IgE – Imunoglobulina E

IL- Interleucina

ILC2s - Células linfóides de grupo-2

kDa - Kilodalton

OMS - Organização Mundial de Saúde

OX40L – Ligante oxalato 40

PAR–2 - Receptor ativado por protease 2

PRRs – *Receptores* de *reconhecimento* de *padrões*

PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná

RCAA - Reação cutânea adversa aos alimentos

Th0 – linfócito T precursor

Th1 – linfócito T tipo 1

Th2 – linfócito T tipo 2

TNFα– Fator de necrose tumoral alpha

TSLP - *linfopoietina estromal* tímica

UISI - União internacional de Sociedades de Imunologia

µm – Micrometro

URA - Umidade relativa do ar

USA – United States of America (Estados Unidos)

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 **Página**

Tabela 1. Origem e atividade biológica dos alérgenos de ácaros da poeira doméstica……..... 6

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Características epidemiológicas dos 20 cães com DA e dos 20 cães saudáveis..... 32

Tabela 2. Características físicas e de manejo dos domicílios de cães com DA e de cães saudáveis…..... 33

Tabela 3. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der p 1 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com DA..... 37

Tabela 4. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der f 1 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com DA..... 37

Tabela 5. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com DA..... 37

Tabela 6. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der p 1 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis..... 39

Tabela 7. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der f 1 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis..... 39

Tabela 8. Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis..... 39

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Distribuição dos bairros de Curitiba dos domicílios avaliados..... 18

Figura 2. Termo-higrômetro; Aspirador; Adaptador e Filtro, utilizados para colheita e acondicionamento da amostra da poeira domiciliar..... 22

Figura 3. Aspiração para posterior avaliação das concentrações de alérgenos: do colchão; da cama; chão da sala e do sofá, dos domicílios incluídos no estudo..... 23

Figura 4. Cães devidamente contidos e submetidos à aspiração de sua pelagem para recuperação da poeira e posterior avaliação dos níveis de alérgenos..... 24

Figura 5. Poeira retirada do filtro e acondicionada em malha com 0,3 mm de diâmetro; Pá de plástico utilizada para friccionar a poeira contra a malha; Poeira fina acondicionada em placa de Petri e em detalhe a amostra de poeira utilizada para avaliação dos níveis de alérgenos..... 25

Figura 6. Amostras acondicionadas em tubo de ensaio, re-suspendidas em agitador (TS-2000 VDRL SHAKER) por 24 horas a 4ºC..... 26

Figura 7. Sobrenadante da amostra identificado e acondicionado em Eppendorf e mantido a -20ºC para posterior análise..... 26

Figura 8. Leitor de ELISA e Microplacas de ELISA com reatividade positiva para Der p 1 a partir da amostra da poeira doméstica..... 28

Página

Figura 9. Distribuição racial de cães com DA selecionados para o estudo..... 30

Figura 10. Aspecto geral do ambiente onde os cães eram mantidos em dois dos domicílios visitados..... 31

Figura 11. Aspecto geral de dois dos domicílios incluídos no estudo..... 32

Figura 12. Frequência relativa de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com DA..... 35

Figura 13. Frequência relativa de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis..... 36

Figura 14. Distribuição de Der p 1 ($\mu g.g^{-1}$) nos vários ambientes avaliados do grupo GDA..... 38

Figura 15. Distribuição de Der f 1 ($\mu g.g^{-1}$) nos vários ambientes avaliados do grupo GDA..... 38

Figura 16. Distribuição de Der p 1 ($\mu g.g^{-1}$) nos vários ambientes avaliados do grupo GS..... 40

Figura 17. Distribuição de Der f 1 ($\mu g.g^{-1}$) nos vários ambientes avaliados do grupo GS..... 40

Figura 18. Concentração mediana de Der p 1 ($\mu g.g^{-1}$) no tapete de domicílios de cães com dermatite atópica e cães saudáveis..... 41

CAPÍTULO 1

ALÉRGENOS DE ÁCAROS DA POEIRA DOMÉSTICA COMO FATORES EXTRÍNSECOS DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES – REVISÃO

(House dust mites as extrinsic factors of canine atopic dermatitis a literature review)

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma dermatite crônica e recorrente, de cunho alérgico e inflamatório, com predisposição genética, cujas manifestações clínicas estão associadas à produção de anticorpos da classe IgE (Olivry et al., 2010). É considerada uma síndrome de caráter multifatorial e sua fisiopatologia está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da queratinização terminal e da função de barreira tegumentar, o que favorece a penetração transepidérmica de inúmeros alérgenos ambientais, antígenos microbianos e irritantes primários, além de hiper-reatividade da resposta imunológica (Hillier, 2002; Akdis et al., 2006; Cork et al., 2006; Farias, 2007; Olivry et al., 2010), o que conduz ao eczema atópico (Akdis et al., 2006; Cork et al., 2006; Morar et al., 2006).

Entretanto, em uma revisão de nomenclatura, a dermatite atópica foi subdividida em quatro grupos: “dermatite atópica *lato sensu*” que se enquadra na mesma definição citada anteriormente de Olivry et al. (2010); “dermatite atópica *stricto sensu*” que está relacionada especificamente a sensibilização à alérgenos ambientais; “dermatite atópica *simile*” assim designada pelo fato de alguns cães apresentarem os sintomas da DA, mas não demonstrarem IgE alérgeno-específicos e a “dermatite atópica induzida por alimentos” pois, sugere-se que alguns casos de reação cutânea adversa a alimentos desencadeiam crises de dermatite atópica que melhoram com exclusão dietética (Favrot et al., 2010; Olivry et al., 2010).

A presença de alérgenos de ácaros na poeira doméstica é uma causa comum de sensibilização e desenvolvimento de doença alérgica respiratória, oftálmica e tegumentar, tanto nos seres humanos como nos cães (Jackson et al., 2005), e a sensibilização a estes atinge mais de 15-20% da população nos países industrializados (Arshad, 2010). Sua importância como fatores extrínsecos de doenças alérgicas foi descrita pela primeira vez por Dekker em 1928, que encontrou

um grande número de ácaros na poeira do colchão de pessoas asmáticas, e sugeriu que estes eram capazes de gerar sintomas respiratórios (Jackson et al., 2005).

A sensibilidade ao *Dermatophagoides pteronyssinus* (*D. pteronyssinus*) e *Dermatophagoides farinae* (*D. farinae*) é aceita como sendo a causa mais comum de rinite e asma em humanos, e a hipersensibilidade ao *Dermatophagoides* spp. também é considerada como fator importante na patogênese da dermatite atópica em cães (Jackson et al., 2005).

Em adição, alérgenos pertencentes ao ácaro *Blomia tropicalis* (Blo t 5) têm sido incriminados como uma frequente causa de sensibilização em crianças com rinite e asma alérgicas (Farias, 2007).

Os cães, assim como as crianças, passam a maior parte do tempo dentro de casa e, provavelmente, estão mais expostos aos ácaros (Marsella e Samuelson, 2009). Sendo assim, para orientação adequada do proprietário em relação ao paciente com dermatite atópica, é necessário o conhecimento dos principais alérgenos ambientais, seus principais reservatórios, nível de exposição do paciente em seu domicílio e nos ambientes que frequenta (Souza e Rosário Filho, 2012).

Esta revisão tem como objetivo avaliar a importância relativa dos alérgenos de ácaros e a imunopatogênese relacionada a estes, na precipitação e exacerbação do eczema atópico.

2. TAXONOMIA E ECOLOGIA

Os ácaros são artrópodes pertencentes ao subfilo Chelicerata, classe Arachnida, ordem Acari, subordem Astigmata e fazem parte de um grupo muito diversificado de organismos que exploraram vários tipos de microambientes. São seres aeróbicos e aparentemente fazem suas trocas gasosas através da superfície corporal. Algumas espécies habitam as vias aéreas de aves e mamíferos, traquéia de insetos, folículos pilosos e pele de seres humanos e outros mamíferos, penas de pássaros e escamas de répteis. Além disso, muitas espécies são parasitas de plantas e de ectoparasitas de aves, mamíferos e répteis. Outros vivem no solo, atuando como predadores, fungívoros, e detritívoros (Arlian e Platts-Mills, 2001).

O termo ácaros domésticos é utilizado para denominar os ácaros de vida livre que habitam os domicílios humanos. Dentre eles, estão os ácaros da poeira doméstica (família Pyroglyphidae), os ácaros de estoque (famílias Acaridae,

Glycyphagidae e Chortoglyphidae) e os ácaros predadores (família Cheyletidae). Com exceção da Cheyletidae, todas estas famílias são derivadas da subordem Astigmata. Os gêneros *Tyrophagus* e *Acarus* pertencem a família Acaridae, enquanto os gêneros *Lepidoglyphus*, *Blomia e Austroglycyphagus* fazem parte da família Glycyphagidae (Nuttall et al., 2006).

Os ácaros da família Pyroglyphidae são considerados os mais prevalentes no ambiente domiciliar, possuem em geral 0,3 mm e vivem em roupas de cama, travesseiros, colchões, carpetes, tapetes e outros materiais têxteis do domicílio (Zavadniak, 2000; Arlian e Platts-Mills, 2001). Esta família está dividida nas subfamílias Pyroglyphynae (com os gêneros *Gymnoglyphus, Euroglyphus* e *Hughesiella*) e Dermatophagoidae, que inclui os gêneros *Malayoglyphus*, *Sturnophagoides*, *Hirstia* e *Dermatophagoides* (Nuttall et al., 2006).

Os ácaros domésticos têm adaptado suas exigências ecológicas ao habitat humano, vivem e se multiplicam com sucesso nos domicílios, e desempenham papel benéfico como recicladores biológicos e redutores de resíduos humanos. Estes ácaros preferem substâncias ricas em proteínas, como alimento (Nuttall et al., 2006). Cereais, queijo, frutos secos e alimentos derramados são alguns dos principais nutrientes para os ácaros de estoque, enquanto que outras espécies preferem escamas e secreções do epitélio humano e de animais, fungos, bactérias e detritos orgânicos, além de possuírem hábitos coprofágicos, e se alimentarem de materiais têxteis dos domicílios (Zavadniak, 2000; Nuttall et al., 2006; Platts-Mills, 2009). O Dermatophagoidae tem preferência por esporos fúngicos, mas sua dieta também é composta por escamas epidérmicas (Nuttall et al., 2006).

Para a maioria dos ácaros domésticos, temperaturas entre 20°C-30°C, e umidade relativa do ar (URA) entre 80 e 90% são ótimas para seu desenvolvimento (Nuttall et al., 2006). Para o *D. pteronyssinus*, estudos laboratoriais relatam que o maior crescimento populacional ocorre a 25°C e URA de 65 a 75%, com taxas de crescimento mais lentas a temperaturas inferiores a 10°C, 15°C ou 20°C, e a temperaturas mais altas que 30°C e 35°C (Arlian e Platts-Mills, 2001; Jackson et al., 2005). Em comparação, os ácaros do *D. farinae* se desenvolvem melhor em temperaturas entre 25°C e 30°C e URA entre 50 e 60% (Jackson et al., 2005). Devido às temperaturas não serem uniformes nas áreas onde estes ácaros são encontrados, a taxa de reprodução, desenvolvimento e crescimento da população de ácaros podem variar. Por exemplo, as populações de ácaros que ficam em carpete,

sobre piso frio, se desenvolvem mais lentamente do que as populações que habitam colchões ou sofás (Arlian e Platts-Mills, 2001).

Entre os ácaros existentes, os da família Pyroglyphidae são os mais comuns. As principais espécies em áreas de clima temperado são o *Dermatophagoides farinae* e o *Dermatophagoides pteronyssinus*. O primeiro é predominante em regiões de clima continental seco e o segundo é vulnerável a flutuações de umidade e é mais comum em locais úmidos (Arlian e Morgan, 2003). Em áreas de clima tropical e subtropical o *Blomia tropicalis* (família Glycyphagidae) e o *D. pteronyssinus* são as espécies mais frequentes, enquanto que o *D. farinae* é raramente encontrado (Terra et al., 2004).

Em apenas alguns países, há predominância de *D. pteronyssinus* ou *D. farinae* na poeira doméstica (Thomas, 2010). Na Austrália (Tovey et al., 2000), Nova Zelândia (Pike e Wickens, 2008), Inglaterra (Zock et al., 2006) e em São Diego, nos Estados Unidos, (Rose apud Thomas, 2010), há maior prevalência de *D. pteronyssinus*. Em Cingapura existe uma propensão maior para *D. pteronyssinus*, mesmo havendo infestações por *B. tropicalis* (Chew apud Thomas, 2010). Na Coreia do Sul (Ree apud Thomas, 2010) e na Itália (Zock et al., 2006) o *D. farinae* é predominante. Já, as regiões da China continental têm populações de ácaros mistas (Li et al., 2009).

O *D. pteronyssinus* é abundante nas Américas do Sul e Central (Thomas, 2010). No Brasil, este é dominante em São Paulo (Arruda et al., 1991) e Salvador (Medeiros et al., 2002). No entanto em regiões mais secas dos estados de São Paulo (Demite et al., 2007) e Belo Horizonte (Rosa apud Thomas, 2010) há predominância do *D. farinae*.

Como não conseguem ingerir água pelo seu aparelho bucal, os ácaros absorvem água a partir de substâncias higroscópicas estruídas nos seus espaços articulares, dependendo estritamente da umidade e da temperatura do ar para sobreviverem (Colloff et al., 1991; Platts-Mills, 2009). Por isso, acredita-se que a umidade relativa do ar e a temperatura sejam os principais fatores ecológicos que regulam a presença ou ausência de ácaros Pyroglyphidae no ambiente, com diminuição da sua população em climas frios e de baixa umidade, o que explica as variações sazonais de suas populações em regiões de clima temperado e continental (Nuttall et al., 2006).

Embora os ácaros dos gêneros *Acarus* e *Tyrophagus* sejam encontrados na poeira doméstica em número reduzido com bastante frequência, eles não são residentes permanentes, e geralmente invadem os domicílios a partir de alimentos que foram armazenados infestados (Colloff e Spieksma, 1992).

3. PRINCIPAIS ALÉRGENOS DE ÁCAROS

Os alérgenos dos ácaros da família Pyroglyphidae são predominantes na poeira domiciliar, se originam de seu epitélio ou de seu material fecal, e estão envoltos por uma membrana quitinosa peritrófica, associado a alimento parcialmente digerido, com média de 10-35 µm de diâmetro (Arlian e Platts-Mills, 2001; Platts-Mills, 2009). Esta membrana é hidrossolúvel, o que favorece sua dissolução com o aumento da umidade, e a dispersão dos alérgenos no ambiente (Platts-Mills, 2009).

Até o momento, pode-se considerar que mais de vinte alérgenos diferentes do *D. farinae* e *D. pteronyssinus* provocam respostas IgE específicas em pacientes sensibilizados (Tabela 1) (Bessot e Pauli, 2011).

Estes alérgenos de ácaros foram classificados de acordo com o sistema de nomenclatura linear, que é mantido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela União Internacional de Sociedades de Imunologia (UISI). Os alérgenos de ácaros são nomeados pelas três primeiras letras do gênero, a primeira letra das espécies, e um número que representa a ordem na qual eles foram purificados ou classificados (Chapman et al., 2007).

Tabela 1- Origem e atividade biológica dos alérgenos de ácaros da poeira doméstica

Grupo	Função	Grupo	Função
1	Cisteína protease	12	Quitinase
2	Proteína ligadora de lipídio	13	Lipocalina
3	Proteína semelhante a tripsina	14	Proteína semelhante à vitelogenina e lipoforina
4	Amilase	15	Quitinase
5	Proteína ligadora de lipídio	16	Gelsolina
6	Quimotripsina	17	Proteínas ligadoras de cálcio
7	Proteína ligadora de lipídio	18	Quitinase
8	Glutationa-S-transferase	19	Peptídeo antimicrobiano
9	Serina protease colagenolítica	20	Arginina quinase
10	Tropomiosina	21	Proteína ligadora de lipídio
11	Paramiosina	22	Proteína ligadora de lipídio

Adaptado de: JACQUET, A. Innate Immune Responses in House Dust Mite Allergy. ISRN Allergy. 2013; 2013:1-18.

É conhecido que os alérgenos de *D. pteronyssinus* e *D. farinae* exibem sequências homólogas, assim como atividades biológicas semelhantes, e constituem grupos de alérgenos que abrangem não só as espécies *pteronyssinus* e *farinae*, mas também a *siboney* e *microceras*, juntamente com membros de outros gêneros como *Blomia* ou *Euroglyphus* (Thomas, 2002).

Embora a função biológica dos alérgenos de ácaros não esteja totalmente elucidada, podemos classificar estas proteínas alergênicas em quatro famílias principais: proteases, proteínas com afinidade lipídica, enzimas não proteolíticas, e componentes não enzimáticos (Thomas, 2002). Deve ser salientado que, dependendo da concentração de alérgeno no ácaro, a identificação e caracterização de seus diferentes grupos são feitas através da versão natural das proteínas, ou através de clonagem molecular e produção de proteína recombinante (Thomas, 2002).

O Grupo 1 de alérgenos de ácaros (Der p 1 e Der f 1) é considerado como uma cisteína protease semelhante a papaína, enquanto que os Grupos 3, 6 e 9 são proteínas semelhantes a tripsina, quimotripsina, e serina protease colagenolítica, respectivamente. Estas proteinases provavelmente desempenham função digestiva, sendo que foram detectadas no intestino, e nas fezes dos ácaros (Thomas, 2002).

De acordo com sua estrutura e sequência homóloga, os Grupos 2, 5, 7, 13, 14, 21 e 22 podem ser descritos como ácidos graxos ou proteínas de ligação de lipídios, mas sua função ainda é desconhecida (Thomas, 2002). Outros alérgenos de ácaros exibem atividades enzimáticas, como os dos Grupos 4, 8 e 20, que são amilases, glutationa-S-transferases e arginina quinases, respectivamente, enquanto os Grupos 12, 15 e 18 representam as quitinases (O'Neil et al., 2006; Lake apud Jacquet, 2013). As proteínas dos músculos derivadas da tropomiosina e paramiosina constituem os Grupos 10 e 11 dos alérgenos de ácaros, respectivamente (Tsai et al., 2005; Kyoung et al., 2006). Os Grupos 16, 17 e 19 foram identificados como a proteína gelsolina, proteínas ligadoras de cálcio e peptídeos antimicrobianos (Kawamoto et al., 2002ab).

Os alérgenos de ácaros de estoque também são importantes fatores extrínsecos envolvidos na precipitação ou exacerbação da dermatite atópica (Kawamoto et al., 2002b). Os principais ácaros que constituem esse grupo são o *Tyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro* e *Lepidoglyphus destructor*. Estes ácaros estão presentes nos produtos armazenados (cereais, legumes, sementes), especialmente nos alimentos com alto teor de gordura e/ou proteína. Sugere-se que o alimento seco (ração) seja uma fonte de contato do cão com esses ácaros, que podem estar presentes de forma eventual na poeira doméstica e na cama destes animais. Desta forma, além do contato tegumentar e absorção percutânea, os alérgenos destes ácaros podem ser ingeridos ou inalados pelos cães (Pol e Brazis, 2007).

Além disso, alérgenos pertencentes ao ácaro *Blomia tropicalis* (Blo t 5) têm sido incriminados como uma frequente causa de sensibilização em crianças com rinite e asma alérgicas (Farias, 2007). São encontrados em locais de clima tropical e a sensibilização a estes alérgenos também é comum em cães com dermatite atópica que vivem nestas áreas (Cunha et al., 2012).

Os cães, assim como as crianças, passam mais tempo dentro de casa, e provavelmente estão mais expostos aos ácaros. A utilização de tapetes, em especial nos quartos, favorece o aumento da concentração de ácaros na poeira doméstica e aumenta o risco de exposição (Marsella e Samuelson, 2009).

Em um estudo, cujo objetivo era quantificar a densidade de *D. farinae* e *D. pteronyssinus* e a concentração de seus alérgenos no microambiente de cães, se observou que porões, casas sem ar-condicionado central e camas de cães, com

mais de um ano de uso, apresentavam altas concentrações de Der f 1, Der p 1 e alérgenos do Grupo 2 (Marsella e Samuelson, 2009).

4. PORTAS DE ENTRADA DOS ALÉRGENOS

Em cães com dermatite atópica, acredita-se que a via epicutânea seja a principal via de penetração dos alérgenos na pele. Além da via epicutânea, os alérgenos ambientais, trofoalérgenos, alérgenos microbianos e irritantes podem penetrar no organismo através da inalação ou por via oral, e causar sintomas clínicos associados à doença (Farias, 2007; Marsella e Samuelson, 2009; Miller et al., 2013).

5. RESPOSTA IMUNOLÓGICA E TECIDUAL AOS ALÉRGENOS

Estudos demonstraram que a exposição a um grande número de ácaros aumenta a frequência de dermatite atópica (DA) em seres humanos, e que há uma forte correlação positiva entre a magnitude da exposição e a frequência da doença (Marsella e Samuelson, 2009).

Sabe-se que os alérgenos de ácaros estão presentes na pele, e que os indivíduos com dermatite atópica têm uma maior prevalência de ácaros do que indivíduos normais, o que pode levar à estimulação constante dos queratinócitos e desempenhar um papel importante na exacerbação da doença (Marsella e Samuelson, 2009).

Extratos de *D. pteronyssinus* e *D. farinae* contêm aproximadamente 30 kDa de proteínas séricas, incluindo a tripsina, quimotripsina e elastase que podem modular a produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias em queratinócitos normais (Marsella e Samuelson, 2009).

A tripsina e quimotripsina, correspondente ao Grupo 3 e Grupo 4 dos alérgenos de ácaros, são potentes proteases, e agem através da ativação de receptores que levam a liberação de quimiocinas e a expressão de selectinas P e E nas células endoteliais, o que conduz a quimiotaxia de células inflamatórias. Além do mais, estas enzimas podem facilitar a penetração de outros alérgenos através de sua ação sobre os desmossomos (Marsella e Samuelson, 2009).

Em um estudo foi relatado que doses baixas de *D. farinae* foram capazes de estimular os queratinócitos a produzirem oncogenes relacionados ao crescimento, os quais são quimiotáticos para leucócitos (eosinófilos e macrófagos) na derme. Assim, mesmo doses baixas de *D. farinae* podem desencadear uma reação inflamatória, mesmo na ausência de sensibilização alérgica (Marsella e Samuelson, 2009).

5.1 Resposta inata aos alérgenos dos ácaros

Na última década, avanços substanciais foram feitos para identificar o papel da ativação da resposta inata por alérgenos de ácaros da poeira doméstica. O ácaro da poeira doméstica pode ser considerado como um organismo complexo, não só carreando alérgenos com propriedades biológicas, mas também contendo contaminação microbiana adjacente. Estas “formulações” de alérgenos e adjuvantes se combinam de forma eficiente para estimular as vias de resposta inata no epitélio, células dendríticas e células inflamatórias (Jacquet, 2013).

A maioria dos alérgenos de ácaros apresenta atividade enzimática e pode interferir na resposta inata através dos receptores *toll-like*. A indução de resposta Th2 pelos alérgenos de ácaros da poeira doméstica advém da estimulação de diferentes vias da resposta inata. Proteases dos alérgenos dos ácaros clivam especificamente os receptores proteases-sensíveis, como o receptor ativado por protease 2 (PAR–2), e podem interromper a barreira epitelial, para ganhar acesso às células dendríticas, e causar lesões do tecido por libertar moléculas associadas ao dano (DAMPs), tais como ATP e ácido úrico. A ativação das células dendríticas pelos ácaros da poeira doméstica é mediada pela ligação do receptor de lectina tipo C (CLR). Estas vias de sinalização resultam na regulação maciça de citocinas e quimiocinas inatas como a IL-1β, IL-6, TSLP, IL-25, IL-33, GM-CSF, ou CCL20 que recrutam e ativam as células inflamatórias e induzem a diferenciação para Th2. Notavelmente, a *linfopoietina estromal* tímica (TSLP) medeia à expressão de OX40L e IL-4 em células dendríticas e basófilos, respectivamente, para iniciar e polarizar a resposta Th2. A IL-25, bem como a IL-33 são fortes ativadoras de células linfoides de Grupo 2 (ILC2s) as quais, semelhantes as células Th2 alérgeno-específicas, fornecem grande quantidade de citocinas IL4, IL-5 e IL-13, e estabelecem as características principais da inflamação epitelial alérgica, tais como a secreção de

IgE pelas células B, recrutamento de eosinófilos e o remodelamento epitelial (Jacquet, 2013).

5.2 Apresentação antigênica, ativação da resposta Th2 e desgranulação mastocitária

Os antígenos dos alérgenos difundidos por via percutânea são reconhecidos, fagocitados e apresentados pelas células de Langerhans aos linfócitos Th0, que se transformam em Th2, e estimulam a proliferação de linfócitos B, formação de plasmócitos e produção de IgE alérgenos-específicos (Alberts et al., 2004).

A IgE se liga aos mastócitos e basófilos teciduais o que resulta em sua desgranulação e consequente liberação de mediadores inflamatórios. Estas substâncias podem estar presentes nos grânulos mastocitários ou serem sintetizadas após a sua ativação. Entre estas estão a histamina, serotonina, heparina, proteases neutras, citocinas, e os derivados do ácido araquidônico. Este último é ativado por uma entre duas vias, a lipoxigenase, que leva à formação de leucotrienos, ou a cicloxigenase, que leva à formação das prostaglandinas. A combinação dos mediadores inflamatórios pré-formados e derivados do ácido araquidônico resulta no desenvolvimento de sinais de inflamação (Marsella, 2006; Farias, 2007).

Além do mais, DNA, bactérias e endotoxinas têm sido isoladas a partir do material fecal de ácaros, o que os torna capazes de ativar e hiperestimular receptores *toll-like*, e potencializar seus efeitos antigênicos e inflamatórios (Platts-Mills, 2009).

5.3 Perpetuação da resposta inflamatória

A perpetuação da resposta imunoalérgica e a cronificação da dermatite atópica estão intimamente relacionadas à presença da IL-5 e IL13, a qual aumenta a sobrevida e estimula a migração e ativação de eosinófilos para a pele. Com a cronicidade, observa-se uma inversão do perfil da resposta imunológica de Th2 para a produção de citocinas Th1, como a TNFα de GM-CSF, as quais estimulam a infiltração de células T, macrófagos e eosinófilos, conduzem a uma sub-regulação

de queratinócitos e inibem a apoptose de monócitos, o que gera hiperqueratose, liquenificação, e o aumento da deposição de colágeno e fibrose tegumentar (Farias, 2007).

Uma vez que a sensibilização alérgica tenha ocorrido e a função de barreira tenha sido interrompida (quer seja por um defeito primário, quer seja como consequência de inflamação ou de noxas ambientais), ocorre uma piora progressiva desta, e ciclos repetitivos de sensibilização alérgica e inflamação se sucedem (Marsella e Samuelson, 2009).

6. SINTOMAS DA DERMATITE ATÓPICA *STRICTO SENSU*

O principal sintoma associado à dermatite atópica é o prurido, de caráter primário, que pode se manifestar pelo ato de coçar, lamber, mordiscar ou roçar as áreas afetadas (Farias, 2007; Lucas et al., 2007; Olivry et al., 2010; Miller et al., 2013). Este geralmente começa de forma moderada e se intensifica com a cronicidade da doença (Miller et al., 2013). Pode-se observar a intensificação do prurido de acordo com as condições climáticas e da exposição à alérgenos em determinadas épocas do ano (Olivry et al., 2010), porém este geralmente é contínuo e diuturno (Lucas et al., 2007).

As áreas envolvidas costumam ser os condutos auditivos e pavilhões auriculares, a face (especialmente as regiões perioculares, perilabiais e mentonianas), região axilar, abdômen, região inguinal, porção distal dos membros, áreas flexurais e a região perineal (Hillier, 2002; Favrot et al., 2010; Miller et al., 2013).

A lesão inicial consiste em eritema em lençol. As lesões mais evidentes, que geralmente ocorrem devido ao prurido, são a alopecia ou hipotricose autoinduzida, escoriações, ulcerações, pápulas e crostas. Com a cronicidade e desenvolvimento de infecções secundárias, a pele com dermatite atópica fica eritrodérmica e disqueratótica, sendo caracterizada pela presença de xerose, hiperqueratose, hiperpigmentação, liquenificação tegumentar e descamação (Marsella e Girolomoni, 2009; Favrot et al., 2010).

A piodermite estafilocócica acomete em torno de 68% dos cães com dermatite atópica, evidenciada por pápulas, pústulas e colarinhos epidérmicos, envoltos por intenso eritema, além de crostas e erosões (Farias, 2007). É comum as

infecções tornarem-se crônicas ou de repetição, o que agrava o processo alérgico (Deboer e Marsella, 2001).

A otite externa está presente em 86% dos cães com dermatite atópica, sendo geralmente caracterizada em fase aguda, por eritema, hiperplasia e exsudação ceruminosa nos pavilhões auriculares e condutos auditivos, e na fase crônica, por hiperplasia, estenose, hiperqueratose ou liquenificação, sendo comum a presença de infecção bacteriana ou fúngica. associada ao quadro (Hillier, 2002). Em alguns indivíduos rinite alérgica, conjuntivite, dermatite de lambedura acral e hiperidrose podem ser observadas em conjunto com as manifestações mais comuns da dermatite atópica em cães (Marsella e Girolomoni, 2009).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora os alérgenos façam parte de um grupo diversificado de moléculas, sua antigenicidade provavelmente reside na capacidade de ativar várias vias da resposta inata. Até o momento, pode-se considerar que mais de vinte alérgenos diferentes do *D. farinae* e *D. pteronyssinus* podem provocar respostas IgE específicas em pacientes sensibilizados. O conhecimento molecular dos alérgenos de ácaros pode oferecer uma melhor compreensão das reações cruzadas, e trazer esperança para melhoria no diagnóstico e na imunoterapia.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALÉRGENOS PROVENIENTES DE ÁCAROS NA PELAGEM E NA POEIRA DE DOMICÍLIOS DE CÃES (Canis lupus familiaris) COM DERMATITE ATÓPICA

(Evaluation of the concentration of allergens from mites in coat and households dust of dogs (Canis lupus familiaris) with atopic dermatitis)

RESUMO

A dermatite atópica é uma genodermatose inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente, de alta incidência em cães. Os alérgenos provenientes dos ácaros da poeira doméstica são os principais responsáveis pela sensibilização e pelo desenvolvimento dos sintomas de doenças alérgicas em ambiente intradomiciliar. O presente estudo avaliou a concentração de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5, na pelagem e no ambiente domiciliar de cães com dermatite atópica (DA), e sua relação com os escores lesionais e de prurido. Para tal, foram selecionados 20 cães com DA e 20 cães saudáveis, e seus domicílios. O diagnóstico de DA foi baseado nos critérios de Favrot et al. (2010), e seus escores de prurido e lesional estabelecidos a partir das escalas de Rybnicek et al. (2009) e CADLI (Plant et al., 2012), respectivamente. As amostras de poeira foram colhidas com um aspirador de pó doméstico. Para cada local de colheita, foi aspirado $1m^2$ por dois minutos. As amostras foram recolhidas em filtros separadamente, transferidas para envelopes plásticos, seladas e mantidas congeladas até serem analisadas pelo método de ELISA, sendo todos os dados analisados estatisticamente e considerado o nível de significância mínimo de 5%. Na pelagem dos cães com DA, a concentração média de Der p 1 foi de 0,25±1,03 $\mu g.g^{-1}$ de poeira e nos cães saudáveis foi de 0,03±0,06 $\mu g.g^{-1}$. No ambiente de cães com DA, o Der p 1 foi encontrado em maior concentração média no tapete (2,18±2,25 $\mu g.g^{-1}$), seguido pelo sofá (1,53±1,96 $\mu g.g^{-1}$), cama (1,14±1,63 $\mu g.g^{-1}$) e roupa de cama dos cães (0,64±1,09 $\mu g.g^{-1}$), e chão (0,14±0,20 $\mu g.g^{-1}$). As concentrações de Der p 1 no tapete, sofá e cama dos cães foram significativamente maiores que na pelagem de cães com dermatite atópica ($p<0,05$). Enquanto que, não houve diferença estatística quando comparadas as concentrações de Der f 1 e Blo t 5 nos diferentes ambientes avaliados ($p>0,05$). As concentrações de alérgenos Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 se equivaleram em ambientes de cães com DA e saudáveis ($p>0,05$), à exceção do tapete, que apresentou maior concentração de Der p 1 nos domicílios de cães com dermatite atópica ($p<0,05$). Não houve relação significantiva entre os níveis de alérgenos e os escores de prurido e lesionais dos cães com DA ($p>0,05$). Entre os alérgenos estudados, o Der p 1 foi o mais comumente encontrado, prevalecendo no tapete, no sofá e na cama dos cães.

Palavras-chave: Dermatopatia. Hipersensibilidade. Poeira. Prurido.

ABSTRACT

Atopic dermatitis is an inflammatory, itchy, chronic, recurrent, and highly incidence skin disease in dogs. The allergens from the house dust mites are the main responsible for the sensitization and the development of clinical symptoms of allergic diseases in domestic environments. This study evaluated the concentration of Der p 1, Der f 1 and Blo t 5 in dog's fur and their households, determining its relationship with lesional and pruritus scores. Twenty dogs with atopic dermatitis (AD) and 20 healthy dogs were selected as well as their households. The diagnosis of AD was clinical based on Favrot's et al. (2010) criteria and its pruritus and lesional scores were established using Rybnicek et al. (2009) and CADLI (Plant et al., 2012) scales, respectively. Dust samples were collected with a domestic vacuum cleaner. For each collection site, $1m^2$ was vacuumed for two minutes; samples were collected in separate filters transferred into plastic containers, sealed and kept frozen until analyzed by the ELISA method. All the data were statistically analyzed, considering the minimum significance level of 5%. In the fur of atopic dogs, the average concentration of Der p 1 was 0.25±1.03 $\mu g.g^{-1}$, while in healthy dogs was 0.03±0.06 $\mu g.g^{-1}$. In atopic dogs households, Der p 1 was found in higher concentration on carpet (2.18±2.25 $\mu g.g^{-1}$), followed by couch (1.53±1.96 $\mu g.g^{-1}$), bed (1.14±1.63 $\mu g.g^{-1}$), dog's bed linen (0.64±1.09 $\mu g.g^{-1}$) and floor (0.14±0.20 $\mu g.g^{-1}$). Average concentration of Der p 1 on the couch, carpet and dog´s bed was significantly higher than in the fur of dogs with atopic dermatitis ($p<0.05$). There was no statistical difference when comparing the concentrations of Der f 1 and Blo t 5 in different environments of atopic dogs ($p>0.05$). The concentrations of Der p 1, Der f 1 and Blo t 5 were equivalent in atopic and non-atopic dog's households. Except the carpet, that had higher concentration of Der p 1 in the households of dogs with atopic dermatitis ($p<0.05$). There was no evident correlation with levels of Der p 1, Der f 1 and Blo t 5 and pruritus/lesional scores of dogs with AD ($p>0.05$). Among the allergens studied, Der p 1 was the most commonly found, prevailing on carpet, couch and dog´s bed.

Keywords: Dermatopathy. Hypersensitivity. Dust. Pruritus.

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma genodermatose inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente, de alta incidência em cães (Olivry et al., 2010). Embora de etiologia multifatorial, sua fisiopatologia está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da queratinização terminal e da função de barreira tegumentar, o que favorece a penetração transepidérmica de inúmeros alérgenos ambientais, antígenos microbianos e irritantes primários, além de hiper-reatividade da resposta imunológica (Hillier, 2002; Akdis et al., 2006; Cork et al., 2006; Farias, 2007; Olivry, 2010), o que conduz ao eczema atópico (Akdis et al., 2006; Cork et al., 2006; Morar et al., 2006).

A via epicutânea é a principal porta de entrada dos alérgenos na pele (Olivry et al., 2010; Marsella et al., 2012). Além desta, os alérgenos ambientais, trofoalérgenos, antígenos microbianos e irritantes podem ser absorvidos pelas mucosas respiratória e intestinal, e causar prurido em cães (Marsella, 2006; Farias, 2007).

Embora não haja dados epidemiológicos fidedignos, estima-se que 3% a 15% da população canina seja afetada pela dermatite atópica (Hillier, 2002), a qual acomete animais de ambos os gêneros sexuais e, mormente de raças definidas, dentre elas: Boxer, Bullterrier, Yorkshire terrier, Lhasa apso, Shih tzu, Pug, Beagle, Dálmata, Shar-pei, Chow chow, Cocker spaniel, Bulldog francês, Fox terrier, Golden retriever, Labrador retriever, Poodle e West highland white terrier (Griffin e Deboer, 2001; Jaeger et. al., 2009; Miller et al., 2013).

Em relação a seus sintomas, a DA caracteriza-se por prurido crônico, perene, "*sine materia"*, responsivo a corticoides, com início antes de três anos de idade, geralmente na superfície distal dos membros, em pavilhões auriculares, condutos auditivos e superfícies ventrais, com ausência de prurido nas bordas auriculares e região lombossacral (Favrot et al., 2010).

Em uma revisão de nomenclatura, a dermatite atópica canina foi subdividida em: "dermatite atópica *lato sensu*", "dermatite atópica *stricto sensu*", "dermatite atópica induzida por alimentos" e "dermatite atópica *simile*". A DA *lato sensu* se enquadra na mesma definição citada anteriormente de Olivry et al. (2010), enquanto que a DA *stricto sensu* está relacionada especificamente a sensibilização à alérgenos ambientais. Além disso, alguns trofoalérgenos podem desencadear crises

de dermatite atópica em cães, que melhoram após a exclusão dietética (dermatite atópica induzida por alimentos). Já, a dermatite atópica *simile* é assim designada pelo fato dos cães apresentarem os sintomas da DA, mas não demonstrarem IgE alérgeno-específicos (Favrot et al., 2010; Olivry et al., 2010).

Os alérgenos provenientes dos ácaros da poeira doméstica são os principais responsáveis pela sensibilização e pelo desenvolvimento dos sintomas de doenças alérgicas em humanos, no ambiente intradomiciliar (Zavadniak, 2000). Destes, destacam-se os alérgenos dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (*D. pteronyssinus*) e o *Dermatophagoides farinae* (*D. farinae*), os quais se originam do epitélio ou de suas enzimas digestivas (Arlian, 2001).

Estes estão contidos em partículas relativamente grandes, sendo seus alérgenos maiores os do Grupo 1 (Der p 1 e Der f 1) e do Grupo 2 (Der p 2 e Der f 2) (Madhurantakam, 2010). A exposição a níveis de Der p 1 superiores a 2 $\mu g.g^{-1}$ de poeira são fatores de risco para sensibilização (Eggleston, 2003) e, a exposição a níveis superiores a 10 $\mu g.g^{-1}$ pode desencadear sintomas clínicos de doenças alérgicas em humanos (Upham, 2005). Ademais, alérgenos pertencentes ao ácaro *Blomia tropicalis* (Blo t 5) têm sido incriminados como uma frequente causa de sensibilização em indivíduos suscetíveis (Dutra et al., 2001).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado a importância do ambiente domiciliar no desenvolvimento da DA em cães (Prélaud, 2014). Em um estudo retrospectivo realizado na Suécia demonstrou-se que os cães com DA estudados passavam mais tempo dentro de casa (Nodtvedt et al., 2007). Meury et al. (2011), em um estudo com Labradores e Golden retrievers, identificaram fatores ambientais que predispõe a DA em cães, como a adoção destes animais com idade entre 8 e 12 semanas, a permanência destes cães em galpões quando filhotes e banhos frequentes. O que sugere novamente a importância do ambiente domiciliar no desenvolvimento da doença. Outra forma de explorar a importância dos alérgenos ambientais na DA em cães é avaliar a presença desses alérgenos no ambiente domiciliar de cães alérgicos e não alérgicos (Prélaud, 2014). A presença de ácaros e seus alérgenos, tais como Der f 1, Der p1 e alérgenos do Grupo 2, na roupa de cama, pele, pelo, e em alimentos secos de cães clinicamente saudáveis foi confirmada em estudos pregressos (Eaton et al., 1985; Randall et al., 2003; Brazis et al., 2008). Entretanto, estudos demonstrando a concentração de alérgenos de ácaros na pelagem de cães com dermatite atópica e em seu microambiente

domiciliar, bem como sua relação com a sensibilização e eczema atópico inexistem na literatura brasileira.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo avaliar a concentração de alérgenos provenientes dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1), *Dermatophagoides farinae* (Der f 1) e *Blomia tropicalis* (Blo t 5) na pelagem e no microambiente de cães com dermatite atópica.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar as concentrações de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 no microambiente e na pelagem de cães com e sem dermatite atópica;
- Avaliar e comparar as concentrações dos alérgenos de ácaros nos locais mais frequentados pelo cão como: cama dos cães, roupa de cama do cão, sofá, chão e tapete;
- Relacionar as concentrações dos alérgenos de ácaros na pelagem e no microambiente de cães com os escores lesionais definidos pela escala CADLI (Plant et al. 2012), e com o nível de prurido, estabelecidos pela escala de Rybnicek et al. (2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Comitê de Ética

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), sob o registro de número 728 A (Anexo A).

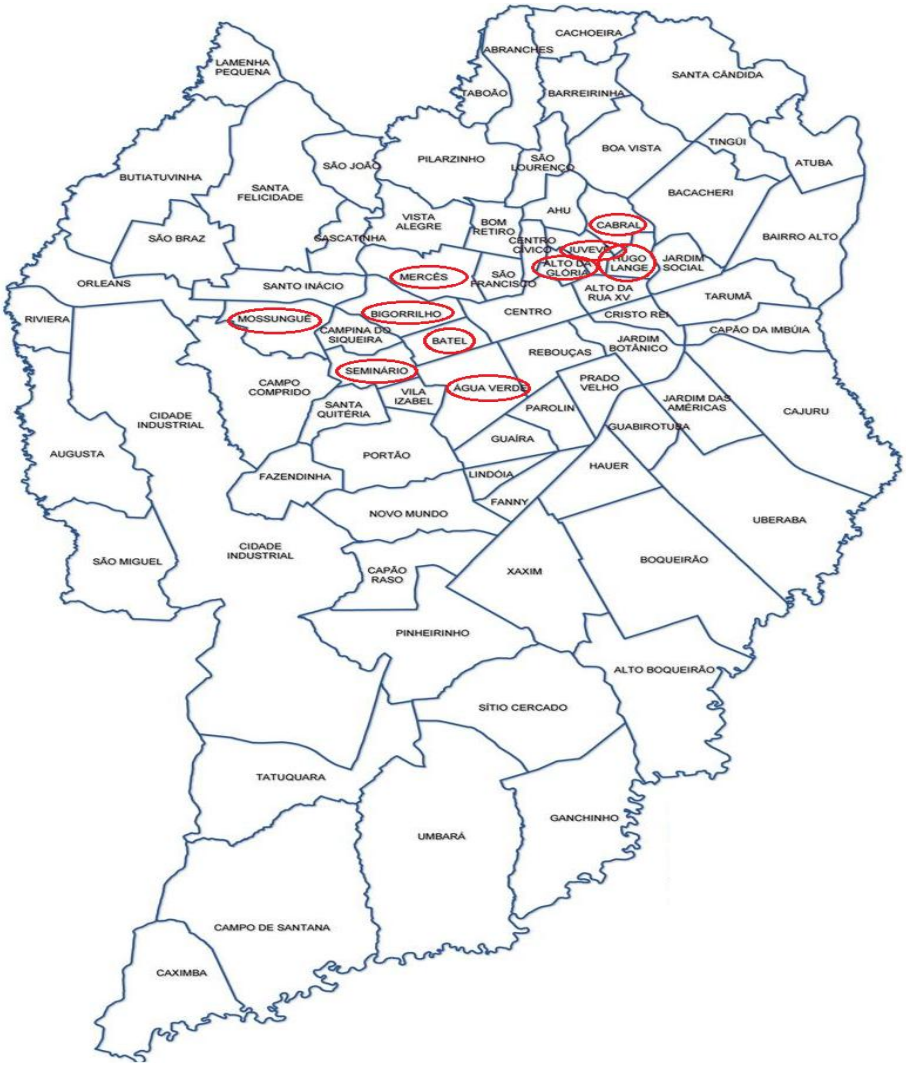
3.2 Tipo de estudo

Foi desenvolvido um estudo experimental, transversal e não randomizado.

3.3 Locais de colheita das amostras

Os animais com dermatite atópica incluídos no projeto foram triados a partir da rotina de atendimento da Clínica Dermatovet, Batel-Curitiba (PR), especializada em dermatologia e alergologia veterinária. Todos estes eram intradomiciliados, em sua grande maioria de raças definidas, vacinados e vermifugados regularmente e provenientes dos seguintes bairros dispostos na figura 1.

Figura 1– Distribuição dos bairros de Curitiba dos domicílios avaliados.



Fonte: Guia Geográfico Curitiba (Adaptado) (2014).

Os animais saudáveis incluídos no projeto obedeceram aos mesmos perfis epidemiológicos e padrões de manejo dos cães com DA.

3.4 Grupos experimentais

GDA– Grupo de cães com dermatite atópica.
GS– Grupo de cães saudáveis.

3.4.1 Critérios de inclusão

Os cães e domicílios somente foram incluídos mediante a anuência dos responsáveis, os quais eram integralmente esclarecidos sob os critérios e objetivos do estudo, e assinavam um termo de consentimento de inclusão de seu animal (Apêndice A).

O grupo de estudo foi composto por 20 cães e seus respectivos domicílios com diagnóstico de dermatite atópica *stricto sensu* (GDA), e por 20 cães saudáveis e seu ambiente domiciliar (GS). O diagnóstico de dermatite atópica foi baseado no histórico, exame clínico e pelos critérios estabelecidos por Favrot et al., (2010) (Anexo B), os quais verificaram que a dermatite atópica geralmente acomete cães intradomiciliados, com início antes de três anos de idade, e se caracteriza por prurido *sine materia*, responsivo a corticoides, geralmente na superfície distal dos membros, condutos auditivos, sem afetar as bordas dos pavilhões auriculares e região lombossacral. Foram incluídos no projeto cães que obedeceram pelo menos seis desses oito critérios.

3.4.2 Critérios de Exclusão

Não eram incluídos no estudo: fêmeas gestantes e animais com menos de seis meses de idade, animais com prurido evidente em borda dos pavilhões auriculares, com indícios de escabiose, e na região lombossacral, com indícios de dermatite alérgica à saliva de pulgas.

Além disso, foram excluídos os animais que melhoravam o escore de prurido de forma significativa após dieta de exclusão com proteína original, por seis a oito semanas (dermatite atópica induzida por alimentos).

3.5 Avaliação epidemiológica dos domicílios

Em todos os domicílios dos cães incluídos no estudo foi preenchida uma ficha específica, na qual constavam dados sobre presença de tapetes, carpetes, estofados, cortinas, tipo de piso, frequência e métodos de higienização ambiental. Em relação aos cães, foi avaliado se estes eram de pelo médio ou longo (superior a dois centímetros) ou curto (inferior a dois centímetros), a idade de início dos sinais clínicos, raça, gênero sexual e particularidades de seu manejo, como: **a-** se estes tinham acesso a todos os ambientes; **b-** quais os locais em que permaneciam a maior parte do tempo durante o dia; **c-** onde dormiam e se eram escovados periodicamente; **d-** qual a frequência de banhos; **e-** qual xampu utilizado; **f-** se tomavam banho em casa ou no pet shop e **g-** qual a periodicidade do uso de substâncias acaricidas e para controle de ecto e endoparasitos.

3.6 Avaliação do prurido e do escore lesional em animais do grupo GDA

Na primeira avaliação os animais passaram por exame clínico e seus proprietários foram questionados com relação ao prurido e a saúde geral de seu animal (Apêndice C). Em seguida foram instruídos a marcar um valor na tabela de escore de prurido padronizado por Rybnicek et al. (2009), conforme Anexo C.

Para cada paciente, as informações relativas às lesões tegumentares comuns da dermatite atópica como eritrodermia, liquenificação, prurido, escoriações e alopecia autoinduzida foram anotadas na tabela de escore CADLI (Canine Atopic Dermatitis Lesion Index), elaborada e validada por Plant et al. (2012) para avaliação da gravidade da doença (Anexo D).

3.7 Colheita das amostras

3.7.1 Colheita das amostras da poeira domiciliar

A colheita das amostras foi realizada nos domicílios dos dois grupos experimentais entre os meses de maio e agosto de 2013 (outono e inverno).

Todos os domicílios dos cães selecionados para participar do estudo foram visitados pela mesma equipe de pesquisadores responsáveis pela colheita da poeira doméstica. As visitas foram realizadas conforme a disponibilidade de horários dos responsáveis pelos pacientes. Os proprietários foram contactados previamente e orientados quanto à manutenção das roupas de cama sem troca, assim como a não utilização de aerossóis, aspirador e produtos de limpeza antes da colheita por pelo menos sete dias antes da visita.

Antes da colheita foi utilizado um termo-higrômetro (Figura 2A) para medir a temperatura e a umidade relativa do ar no local. Logo após, para colheita das amostras, foi utilizado o aspirador de pó portátil (MODELO ELECTROLUX INGENIO) (Figura 2B) ao qual foi acoplado um adaptador[1] junto ao sifão de sucção (Figura 2C). Entre as duas partes do adaptador foi acondicionado um filtro[2] específico (Figura 2D), cuja função era a de reter o material aspirado.

[1] Dustream collection- Indoor Biothecnologies- Charlottesville, USA
[2] Dustream filters- Indoor Biothecnologies- Charlottesville, USA

Figura 2- A. Termo-higrômetro (Inconterm- 7663.02.0.00); B. Aspirador (Electrolux Ingenio); C. Adaptador (Dustream collection- Indoor Biothecnologies) e D. Filtro (Dustream filters- Indoor Biothecnologies), utilizados para colheita e acondicionamento das amostras da poeira domiciliar.

De cada domicílio foram colhidas amostras isoladas de poeira do local mais frequentado pelo cão, como: cama do cão, roupa de cama do cão, sofá, chão e quando presentes eram aspirados os tapetes e/ou carpete.

Antes da aspiração de cada microambiente o sifão era devidamente higienizado com solução de álcool 70%, para remoção de qualquer resíduo de alérgenos.

Da cama dos cães foram aspiradas as almofadas, cobertores e colchão, com posterior remoção das mesmas e aspiração direta da cama (Figura 3A e B). Da sala

eram aspirados o chão e o sofá (Figura 3C a D). Em cada local mantinha-se a aspiração por dois minutos de uma área de um metro quadrado.

Figura 3– Aspiração de cada microambiente frequentado pelo cão por um período de dois minutos/m^2, para posterior avaliação das concentrações de alérgenos por grama de poeira. A. colchão; B. cama; C. chão da sala e D. sofá, de um dos domicílios incluídos no estudo.

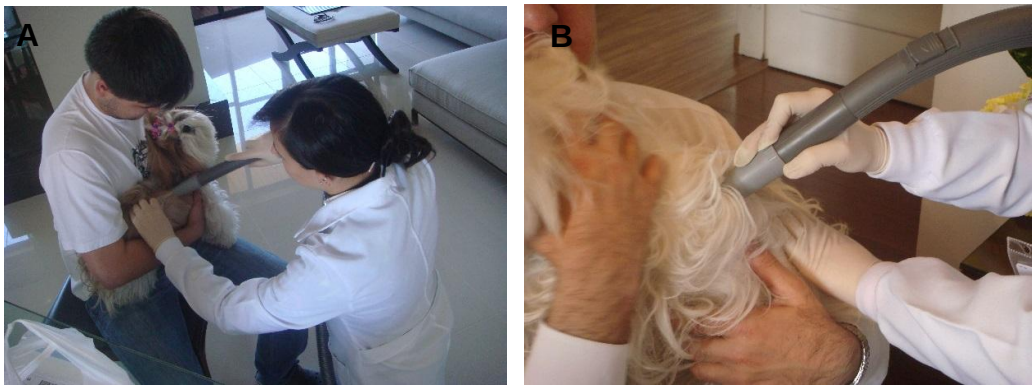
3.7.2 Colheita das amostras da pelagem dos cães

A amostra de poeira presente na pelagem de cada cão foi colhida de maneira semelhante ao processo realizado na colheita da poeira ambiental. Os responsáveis pelos cães foram contactados previamente e orientados a não banharem ou escovarem o animal, por no mínimo sete dias antes da colheita das amostras, bem como não tosarem o animal.

O animal era devidamente contido e o aspirador era passado em toda a extensão de seu corpo (região cervical, tronco, abdômen, região inguinal, região axilar, cauda e períneo) durante o período de dois minutos (Figura 4A e B). A área

aspirada de cada cão era padronizada em metro quadrado de acordo com seu peso (Anexo E).

Figura 4– A. e B. Cães devidamente contidos e submetidos à aspiração de sua pelagem para recuperação da poeira e posterior avaliação dos níveis de alérgenos.



3.7.3 Acondicionamento das amostras

Após a colheita de cada amostra, o filtro contendo a poeira era acondicionado em um envelope plástico e devidamente identificado com fita adesiva, sendo mantido congelado em freezer, para manter o estado físico normal dos ácaros e, ao mesmo tempo, inibir seu metabolismo, impedindo sua proliferação.

Em todas as amostras foram avaliadas as concentrações de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5.

3.8 Preparo das amostras

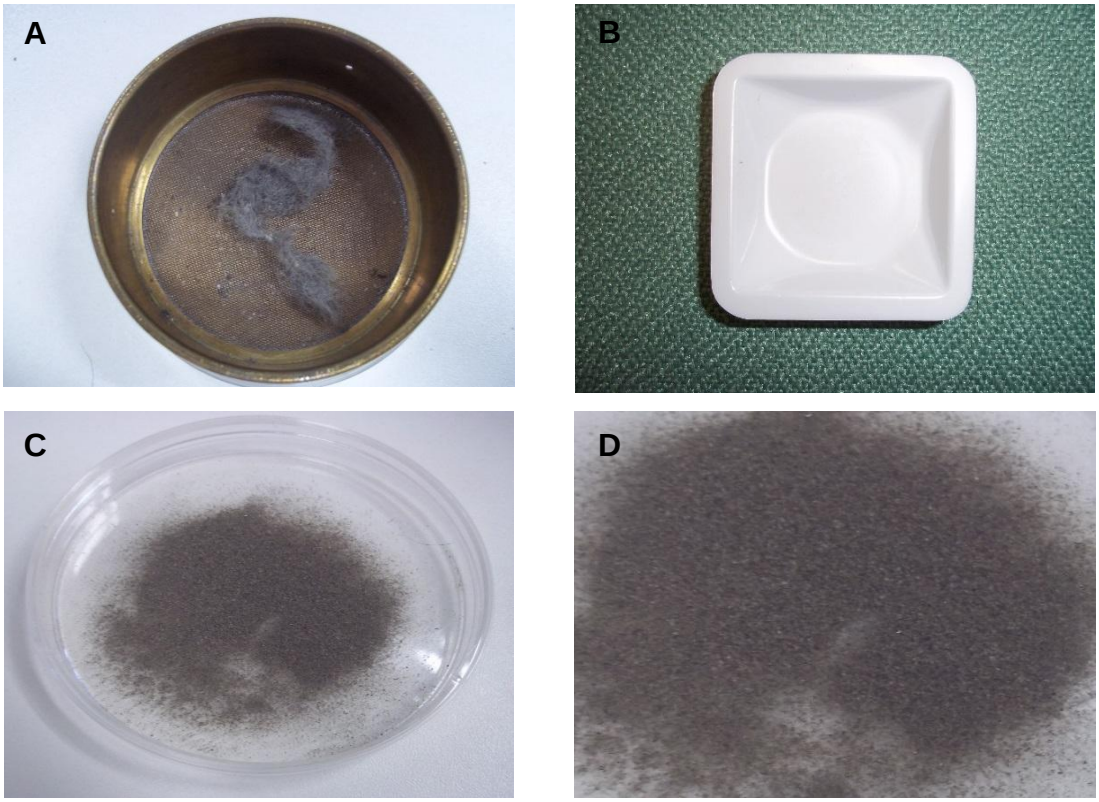
Todo o processo de preparo e avaliação das concentrações de alérgenos presentes nas amostras foi realizado no Laboratório de Alergia e Imunologia Clínica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Todas as amostras de poeira colhidas a partir do domicílio e da pelagem dos cães foram retiradas do filtro, acondicionadas e peneiradas utilizando uma pá de plástico[3] para a fricção, através de malha[4] de 0,3 mm de diâmetro, para reter

[3] Pá de plástico (Weighing Boats– Heathrow Scientific LLC, USA)
[4] Malha de 0,3 mm de diâmetro (Standard Sieve Series A.S.T.M, USA)

partículas maiores, permanecendo em placa de Petri apenas a poeira fina (Figura 5A a D).

Figura 5– A. Poeira colhida a partir do domicílio e da pelagem dos cães retirada do filtro (Dustream filters- Indoor Biothecnologies) e colocada em malha (Standard Sieve Series A.S.T.M- EUA) com 0,3 mm de diâmetro; B. Pá de plástico (Weighing Boats– Heathrow Scientific LLC) utilizada para friccionar a poeira contra a malha; C. Poeira fina acondicionada em placa de Petri e D. Em detalhe a amostra de poeira utilizada para avaliação dos níveis de alérgenos.



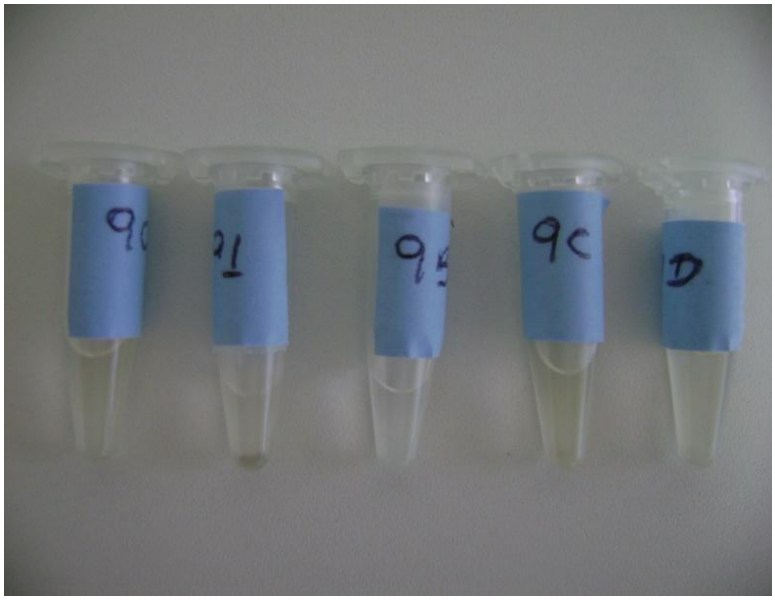
Para preparação dos extratos, 100 mg de poeira fina foram colocados em tubo de ensaio, onde foram adicionados 2 mL de PBS-T (Solução Salina Tamponada com Fosfato, pH 7,4, contendo 0,05% de Tween 20). Para amostras abaixo de 50 mg foi adicionado 1 mL, e para amostras entre 50 e 100 mg foi adicionada quantidade proporcional de PBS-T. Posteriormente, as amostras foram re-suspendidas com agitador TS-2000A VDRL[5] por 24 horas, a 4°C (Figura 6).

[5] Agitador tipo TS-2000A VDRL SHAKER

Figura 6– Amostras acondicionadas em tubo de ensaio, re-suspendidas em agitador (TS-2000A VDRL SHAKER) por 24 horas a 4ºC.

Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm, a 4ºC por 20 minutos. O sobrenadante (aproximadamente 1,5 mL) era removido com auxílio de pipeta Pasteur e acondicionado a -20ºC, em Eppendorf[6] , devidamente identificado, para posterior análise (Figura 7).

Figura 7– Sobrenadante da amostra identificado e acondicionado em Eppendorf e mantido a -20ºC para posterior análise



[6] Tubos Eppendorf Lobind

3.9 Análise das concentrações de alérgenos

3.9.1 Avaliação da concentração de alérgenos de *Dermatophagoides* spp. (Der p 1 e Der f 1)

Níveis de alérgenos dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1) e *Dermatophagoides farinae* (Der f 1) foram determinados por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA), descrito por Luczynska et al. (1989).

Placas de microtitulação[7] foram sensibilizadas com anticorpo monoclonal 5H8 (anti-Der p 1) (EL-DP1 Indoor Biothecnologies- Charlottesville, USA) ou 6A8 (anti-Der f 1) (EL-DF1 Indoor Biothecnologies- Charlottesville, USA) em concentração de 1 μg/poço. Os anticorpos foram diluídos em tampão carbonato-bicarbonato, 50 mM, pH 9,6, e as placas foram mantidas a 4ºC por 18 horas.

Após três lavagens com PBS-T, as placas foram bloqueadas usando 0,1 mL de BSA 1% (albumina sérica bovina), à temperatura ambiente, por uma hora.

Após duas lavagens com PBS-T foram adicionados 0,1 mL do extrato de poeira domiciliar a ser testado, usando BSA PBS-T 1% como diluente. De maneira geral, as amostras de poeira foram testadas em diluições de 1:500, 1:250 e 1:125. As placas foram mantidas por uma hora à temperatura ambiente. Uma curva controle foi estabelecida para cada alérgeno, utilizando diluições seriadas de extrato de *D. pteronyssinus* e *D. farinae*, em duplicata, contendo 250-0,25 $ng.mL^{-1}$ de Der p 1 ou Der f 1, respectivamente. Após cinco lavagens com PBS-T, foram adicionados 0,1 mL do anticorpo biotinilado 4C1 diluídos em BSA PBS-T 1%, por uma hora a temperatura ambiente. Este anticorpo reconhece um epítopo comum em Der p 1 e Der f 1, e é usado como segundo anticorpo nos ensaios para medir ambos os alérgenos.

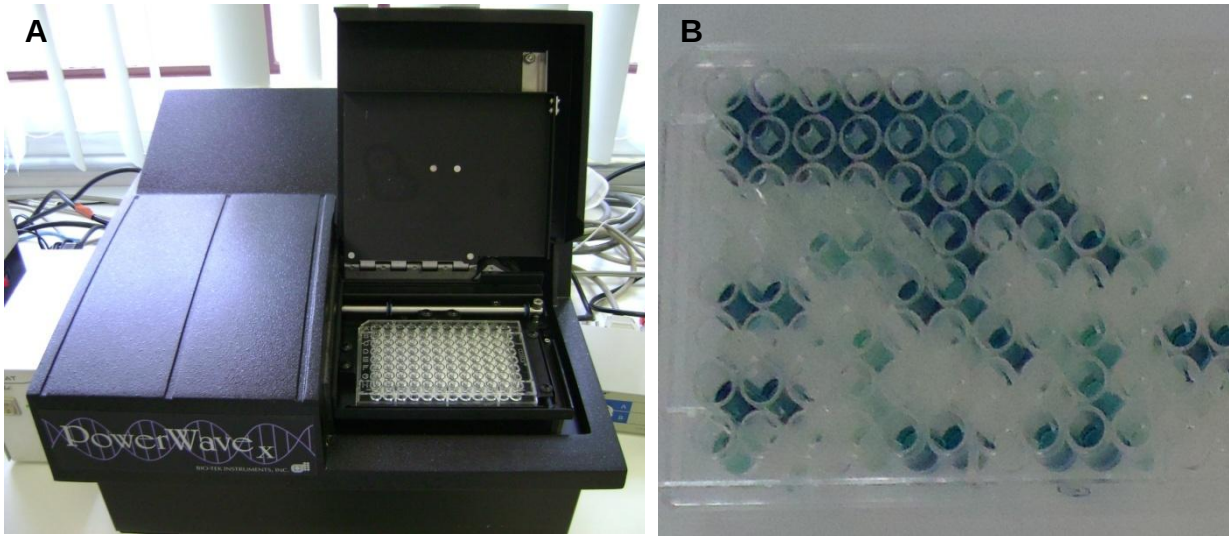
Após cinco lavagens com PBS-T foram adicionados 0,1 mL de Streptavidina-Peroxidase (Sigma, USA) diluídos em BSA PBS-T 1%, por 30 minutos à temperatura ambiente. Após cinco lavagens com PBS-T, foram adicionados 0,1 mL de 1 mM ABTS (2,2´-azino-di-(3 ácido sulfônico etilbenzitiazolina) (Sigma, USA) em tampão Citrato-Fosfato 70 mM pH 4,2, contendo 0,03% de H_2O_2 (ABTS/H_2O_2), para desenvolver a reação.

[7] Placas de microtitulação Immunolon II Dynatech, USA

A leitura das placas, para avaliar os níveis de alérgenos, foi realizada em leitor de microplacas de ELISA quando a absorbância do topo da curva controle alcançou 2,0-2,4 (λ=405 nM) e os níveis de alérgenos foram quantificados a partir das respectivas curvas controle. O padrão de Der p 1 (UVA 93/03) contém 2500 ng.mL^{-1} de Der p 1 e foi sub-padronizado contra a referência de *D. pteronyssinus* da "World Health Organization (WHO)/Intenatinal Union of (Immulon II Dynatech, USA) Immunological Societies (IUIS)" ("National Institute of Biological Sciences NIBSC" 82/518), que contém 12,5 μg.mL^{-1} de Der p 1.

O padrão de Der f 1 ("University of Virginia UVA" 93/02) contém 2500ng.mL^{-1} de Der f 1 e foi sub-padronizado utilizando a referência de *D. pteronyssinus* da WHO/IUIS, por meio de radioimunoensaio com reatividade cruzada (não existe uma preparação de referência internacional de *D. farinae*) (Figura 8A e B).

Figura 8– A. Leitor de ELISA e B. Microplacas de ELISA com reatividade positiva para Der p 1 a partir da amostra da poeira doméstica e da pelagem de cães.



3.9.2 Avaliação da concentração de alérgenos de *Blomia tropicalis* (Blo t 5)

Níveis de alérgenos de *Blomia tropocalis* (Blo t 5) foram determinados através de ensaio imunoenzimático (ELISA), descrito por Luczynska et al. (1989).

Placas de microtitulação (Immulon II Dynatech, USA) foram sensibilizadas com anticorpo monoclonal 4G9 (anti-Blo t 5) (EL-BT5 Indoor Biothecnologies-Charlottesville, USA) em concentração de 1 μg/poço. Os anticorpos foram diluídos

em Tampão Carbonato-Bicarbonato, 50 mM, pH 9,6, e as placas foram mantidas a 4^{o}C por 18 h. Após três lavagens com PBS-T, as placas foram bloqueadas usando 0,1 mL de BSA 1% (albumina sérica bovina), à temperatura ambiente, por uma hora.

Após duas lavagens com PBS-T, foram adicionados 0,1 mL do extrato de poeira domiciliar a ser testado, usando BSA PBS-T 1% como diluente. De maneira geral, as amostras de poeira foram testadas em diluições de 1:500. As placas foram mantidas por uma hora à temperatura ambiente. Uma curva controle foi estabelecida para o alérgeno, utilizando diluições seriadas de extrato de *Blomia tropicalis* (r Blo t 5 Standart, 2500 ng.mL^{-1}) em duplicata, contendo 250-0,25 ng.mL^{-1} de Blo t 5. Após cinco lavagens com PBS-T, foram adicionados 0,1 mL do anticorpo biotinilado 4D9 diluídos em BSA PBS-T 1%, por uma hora a temperatura ambiente.

Após cinco lavagens com PBS-T foram adicionados 0,1 mL de Streptavidina-Peroxidase (Sigma, USA) diluídos em BSA PBS-T 1%, por 30 minutos a temperatura ambiente. Após cinco lavagens com PBS-T, foram adicionados 0,1 mL de 1 mM ABTS (2,2´-azino-di-(3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid) (Sigma, USA) em tampão Citrato-Fosfato 70 mM pH 4,2, contendo 0,03% de H_2O_2 (ABTS/H_2O_2), para desenvolver a reação.

A leitura das placas foi realizada em leitor de microplacas de ELISA com absorbância (λ=405 nM), e os níveis de alérgenos foram quantificados a partir das respectivas curvas controle.

3.10 Análise estatística

Todos os dados foram representados em médias, medianas, desvio e erro padrão. Para comparação da concentração de alérgenos entre locais, foi utilizado o teste de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn´s, para comparações entre medianas.

Para análise de correlação foi utilizado o teste de Spearman. Foram considerados significativos valores de $p \leq 0,05$.

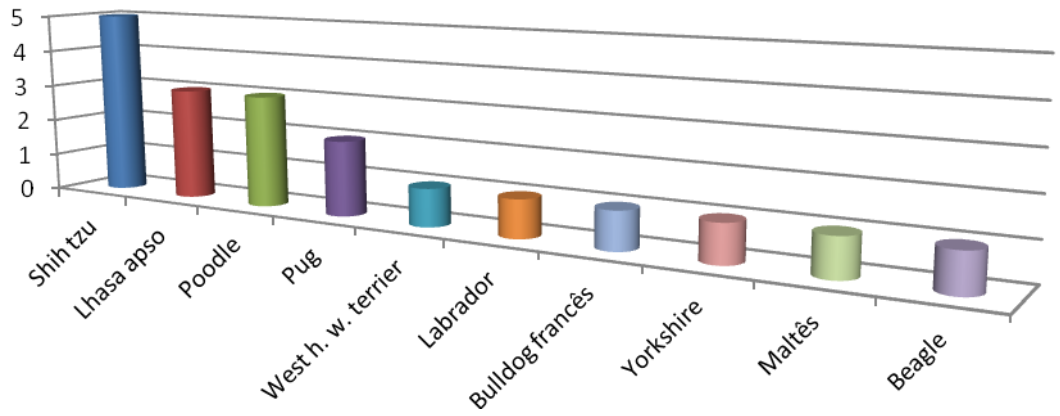
Todos os dados estatísticos foram analisados utilizando o Software estatístico- GraphPad Prism® v.5.0, San Diego, California.

4. RESULTADOS

4.1 Características dos pacientes

Dos 20 cães atópicos selecionados para o projeto 15 (75%) eram fêmeas e cinco (25%) eram machos. Dentre os animais selecionados 18 (90%) eram castrados. Entre as raças dos cães avaliados, cinco eram Shih tzu, três eram cães das raças Poodle e Lhasa apso, dois eram Pug e havia um cão das raças West highland white terrier, Beagle, Bulldog francês, Maltês, Labrador, Yorkshire terrier (Figura 9). E um cão era sem raça definida (SRD).

Figura 9– Distribuição racial de cães com dermatite atópica selecionados para o estudo.



Doze cães apresentavam pelagem de comprimento longo (60%) e oito apresentavam pelagem curta (40%). Todos os cães eram banhados semanalmente, sendo que três eram banhados em casa (15%) e 17 em pet shop (85%). Dez cães eram escovados periodicamente (50%). O xampu utilizado em 17 dos cães (85%) era terapêutico, e três deles tomavam banho com xampu neutro. Dezesseis cães (80%) eram submetidos ao tratamento com pulicida e acaricida regularmente e apenas quatro (20%) não mantinham regularidade na aplicação da medicação.

A mediana de idade dos animais foi de três anos (variou de 01 a 15 anos) e a mediana do início dos sintomas clínicos foi de um ano (variou de seis meses a três

anos). Todos os cães estudados apresentavam hábitos predominantemente intradomiciliares, 13 (65%) moravam em apartamento e sete (35%) em casa, e tinham contato contínuo com nichos ecológicos de ácaros, como tapetes, sofás, caminhas de pano, ou superfícies estofadas (Figura 10A e B).

Figura 10 A e B- Aspecto geral de dois ambientes onde cães com dermatite atópica eram mantidos nos domicílios visitados em Curitiba.

Os dados epidemiológicos dos cães com dermatite atópica e saudáveis estão expostos na tabela 1.

Tabela 1– Características epidemiológicas dos 20 cães com dermatite atópica e 20 cães saudáveis

	GDA	GS
Gênero– Macho	5 (25%)	6 (30%)
Fêmea	15 (75%)	14 (70%)
Idade (Mediana)	3 anos	5,5 anos
Idade do início dos sintomas (Mediana)	1 ano	---------
Castrado (♂♀)	18 (90%)	14 (70%)
Comprimento da pelagem– Curta	8 (40%)	8 (40%)
Longa	12 (60%)	12 (60%)
Frequência de banho– Semanal	20 (100%)	20 (100%)
Xampu utilizado– Neutro	3 (15%)	20 (100%)
Terapêutico	17 (85%)	---------
Uso periódico de pulicida/acaricida	16 (80%)	14 (70%)
Escovação periódica	10 (50%)	5 (25%)
Habitat- Intradomiciliar	20 (100%)	20 (100%)

Todos os 40 cães selecionados se alimentavam de ração seca, e recebiam eventualmente pão, carne bovina, carne de frango ou legumes.

4.2 Características dos domicílios de cães dos grupos GDA e GS

As características físicas e de manejo dos domicílios de cães com dermatite atópica e saudáveis estão expostas na tabela 2. A Figura 11A e B ilustra o aspecto geral de dois dos domicílios visitados durante o projeto.

Figura 11 A e B**–** Aspecto geral de dois dos domicílios incluídos no estudo.

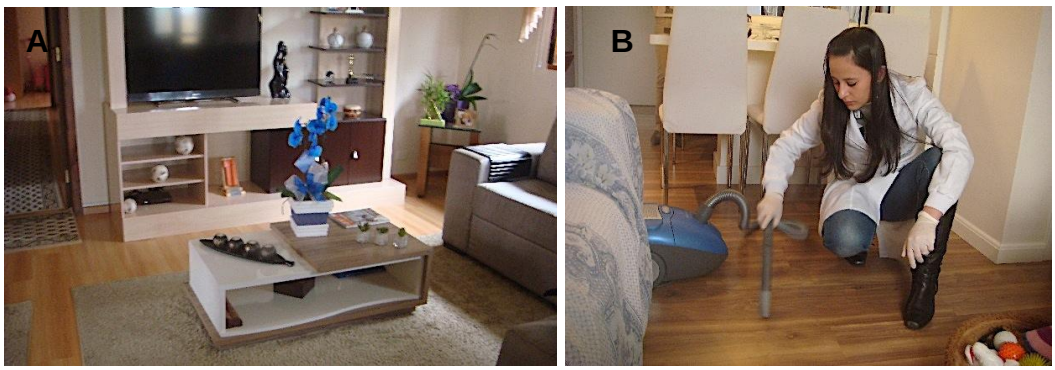


Tabela 2– Características físicas e de manejo dos domicílios de cães com dermatite atópica e de cães saudáveis

		GDA	GS
Número de habitantes (Mediana)		03 (02-05)	04 (01-05)
Número de cômodos (Mediana)		11 (10-14)	09 (07-12)
Tipo de piso -	Laminado de madeira	12 (60%)	6 (30%)
	Frio	6 (30%)	11 (55%)
	Paviflex	00	2 (10%)
	Taco	1 (5%)	00
	Carpete	1 (5%)	1 (5%)
Estofados, Cortinas ou Tapetes		20 (100%)	20 (100%)
Frequência de limpeza			
Diária		1 (5%)	1 (5%)
Duas vezes por semana		8 (40%)	2 (10%)
Três vezes por semana		4 (20%)	00
Quatro vezes por semana		1 (5%)	00
Semanal		6 (30%)	14 (70%)
A cada dez dias		00	1 (5%)
Quinzenal		00	2 (10%)
Troca de roupa de cama dos cães			
Semanal		20 (100%)	20 (100%)
Limpeza da cama dos cães		00	00

4.3 Temperatura e umidade do ar observadas durante o estudo

Durante o período de estudo, a temperatura ambiental variou de 15,8ºC (Tº Mínima) a 24,3ºC (Tº Máxima), com uma média de temperatura de 18,8ºC±2,28. A umidade relativa do ar durante as colheitas variou de 47% a 94%, com média de 72%±7,96 de umidade.

4.4 Avaliação da frequência dos alérgenos

4.4.1 Domicílios dos cães do grupo GDA

Nos 20 domicílios de cães com DA foram avaliados a presença de alérgenos em 20 amostras da cama do cão, 13 amostras do sofá, 12 amostras do chão, nove amostras da roupa de cama do cão e oito amostras do tapete. Os alérgenos foram também medidos na pelagem dos 20 cães.

4.4.2 Avaliação da presença de Der p 1, Der f 1 e Blot 5 na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com dermatite atópica

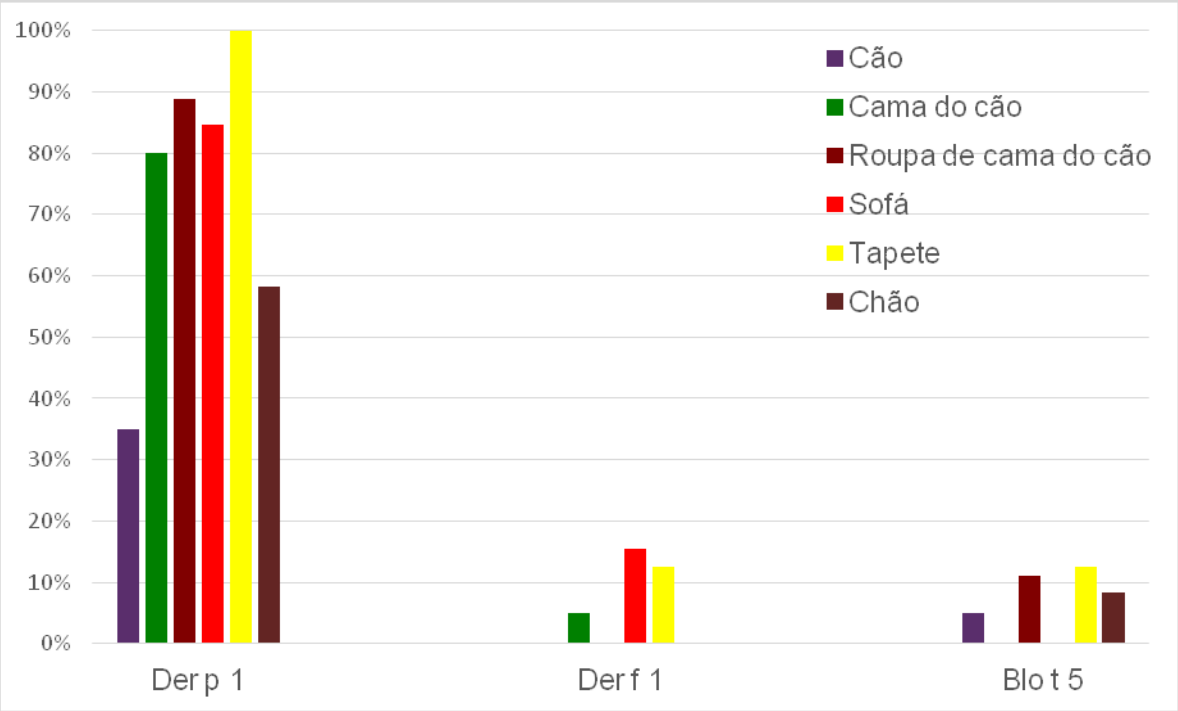
Em relação ao Der p 1, de 20 cães avaliados, sete (35%) apresentaram índices positivos em sua pelagem. Dos 20 domicílios visitados, oito amostras foram colhidas do tapete e todas foram positivas para Der p 1; nove amostras foram colhidas da roupa de cama do cão e oito (88,8%) foram positivas; das 13 do sofá, 11 (84,6%) foram positivas, das 20 colhidas da cama do cão, 16 (80%) foram positivas e das 12 amostras colhidas do chão, sete (58,3%) foram positivas.

Em relação ao Der f 1, das 20 amostras provenientes da pelagem dos cães, nenhuma foi positiva para o alérgeno. Já entre as amostras de poeira intradomiciliar, índices positivos de Der f 1 só foram observados em duas amostras das 13 colhidas do sofá (15,4%), em uma das 20 (5%) amostras colhidas da cama do cão, e em uma amostra das oito colhidas do tapete (12,5%).

Em relação ao Blo t 5, das 20 amostras avaliadas a partir da pelagem dos cães, apenas em uma (5%) observou-se positividade. Já, com relação às amostras avaliadas a partir da poeira domiciliar, em uma amostra de tapete (1/8) (12,5%), uma da roupa de cama do cão (1/9) (11,1%), e em uma amostra do chão (1/12) (8,3%), houve positividade.

A figura 12 sintetiza o percentual de positividade dos alérgenos Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 nos locais pesquisados.

Figura 12- Frequência relativa de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com dermatite atópica.



4.4.3 Domicílios dos cães do grupo GS

Nos 20 domicílios de cães saudáveis foi avaliada a presença de alérgenos em 18 amostras da cama do cão, 12 amostras do sofá, cinco amostras do chão, oito amostras do tapete e duas amostras da roupa de cama do cão. Os alérgenos foram também medidos na pelagem dos 20 cães.

4.4.4 Avaliação da presença de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis

Em relação ao Der p 1, de 20 cães avaliados, seis (30%) apresentaram índices positivos em sua pelagem. Dos 20 domicílios visitados, nove amostras foram colhidas do tapete e oito (88,8%) foram positivas para Der p 1; 18 amostras foram colhidas da cama do cão e 15 (83,3%) foram positivas; das 12 do sofá, dez (83,3%) foram positivas, das cinco colhidas do chão, quatro (80%) foram positivas e das duas amostras colhidas da roupa de cama do cão, nenhuma foi positiva.

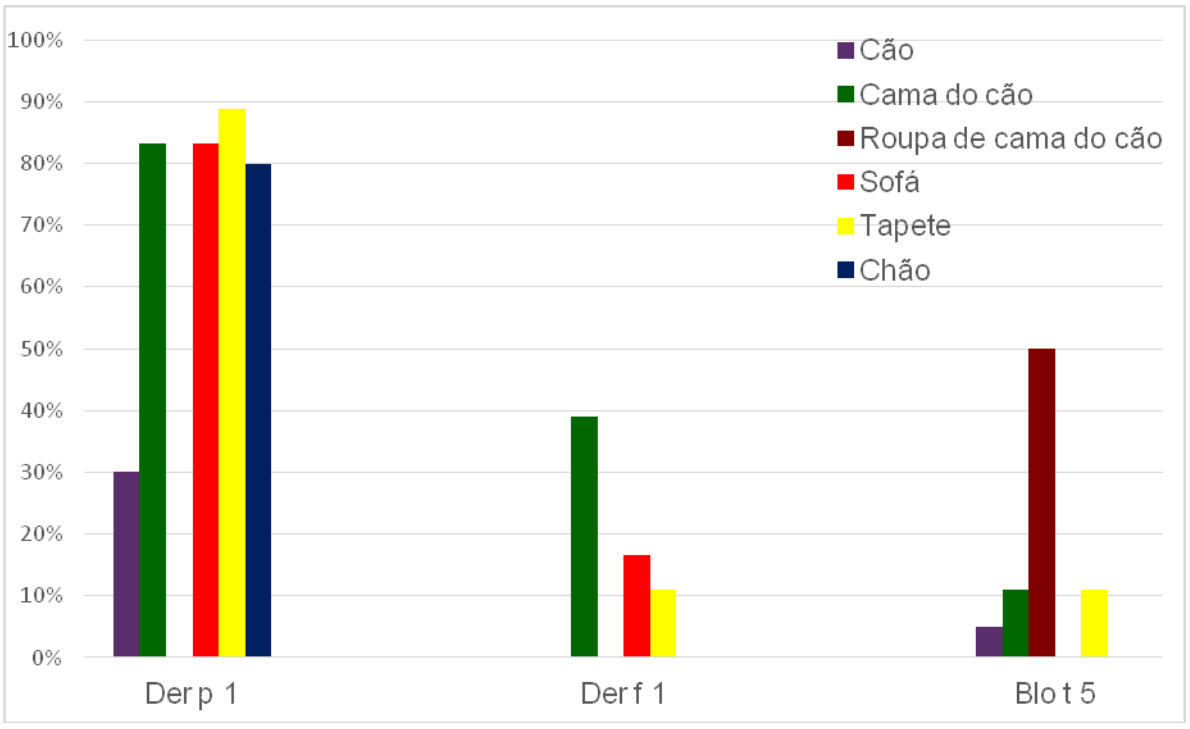
Em relação ao Der f 1, das 20 amostras provenientes da pelagem dos cães,

nenhuma foi positiva para o alérgeno. Já entre as amostras de poeira intradomiciliar, índices positivos de Der f 1 foram observados em sete das 18 (38,8%) amostras colhidas da cama do cão, em duas amostras das 12 colhidas do sofá (16,6%) e em uma amostra das nove colhidas do tapete (11,1%).

Em relação ao Blo t 5, das 20 amostras avaliadas a partir da pelagem dos cães, em apenas uma (5%) observou-se positividade. Já, com relação às amostras avaliadas a partir da poeira domiciliar, em duas amostras da cama do cão (2/18) (11,1%), uma amostra da roupa de cama do cão (1/2) (50%) e em uma amostra do tapete (1/9) (11,1%) houve positividade.

A figura 13 sintetiza o percentual de positividade dos alérgenos Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 nos locais pesquisados.

Figura 13- Frequência relativa de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis.



4.5. Avaliação da concentração dos alérgenos

4.5.1 Avaliação da concentração de alérgenos nos domicílios e na pelagem dos cães estudados

Nas tabelas de três a cinco estão expostas as médias, medianas e medidas de dispersão das concentrações de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5, respectivamente, na pelagem de cães com dermatite atópica e na poeira intradomiciliar avaliadas.

Tabela 3- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der p 1, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com dermatite atópica.

	Média	**DP**	**Mediana**	**Mínimo**	**Máximo**
Tapete	2,18	2,25	1,29	0,09	6,07
Sofá	1,53	1,96	0,86	0,00	6,19
Cama do cão	1,14	1,63	0,17	0,00	4,84
Roupa de cama do cão	0,64	1,09	0,08	0,00	3,38
Cão	0,25	1,03	0,00	0,00	4,64
Chão	0,14	0,20	0,06	0,00	0,06

Tabela 4- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der f 1, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com dermatite atópica.

	Média	**DP**	**Mediana**	**Mínimo**	**Máximo**
Tapete	0,07	0,20	0,00	0,00	0,58
Sofá	0,02	0,09	0,00	0,00	0,33
Cama do cão	0,001	0,006	0,00	0,00	0,02
Roupa de cama do cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 5- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Blo t 5, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães com dermatite atópica.

	Média	**DP**	**Mediana**	**Mínimo**	**Máximo**
Tapete	0,06	0,17	0,00	0,00	0,50
Sofá	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cama do cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Roupa de cama do cão	0,05	0,14	0,00	0,00	0,45
Cão	0,01	0,13	0,00	0,00	0,33
Chão	0,03	0,07	0,00	0,00	0,45

As figuras 14 e 15 sintetizam de forma comparada as concentrações em $\mu g.g^{-1}$ de Der p 1 e Der f 1, na cama do cão, cão, chão, roupa de cama do cão, sofá e tapete dos domicílios de cães com dermatite atópica.

As concentrações de Der p 1 no tapete, sofá e cama foram

significativamente maiores que na pelagem de cães com dermatite atópica (p<0,05). Enquanto que, não houve diferença estatística quando comparadas as concentrações de Der f 1 e Blo t 5 nos diferentes ambientes avaliados (p>0,05).

Figura 14– Distribuição da concentração de Der p 1 (µg.g^{-1}) nos vários microambientes avaliados do grupo GDA. Letras iguais nas barras p>0,05; Letras diferentes nas barras p<0,0001. As barras indicam as medianas e erro padrão.

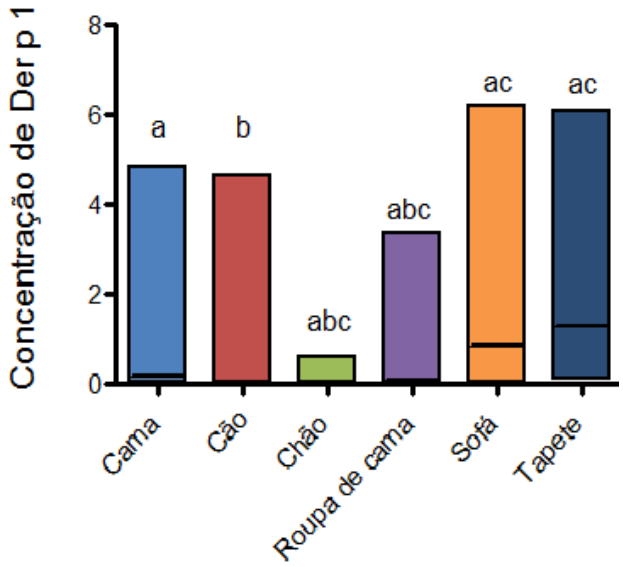
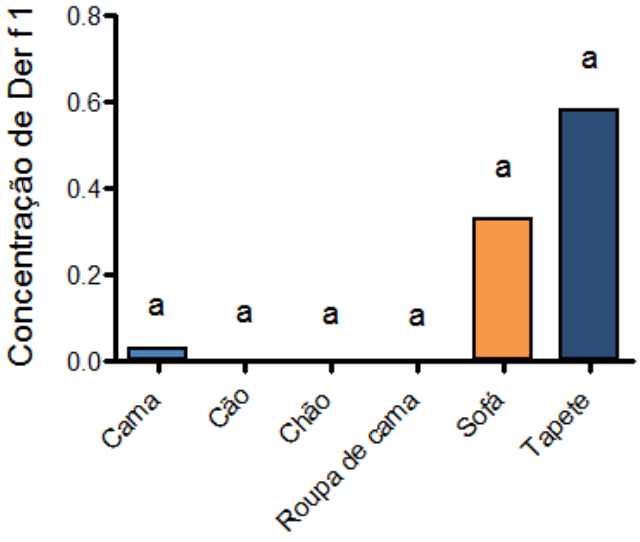


Figura 15– Distribuição da concentração de Der f 1 (µg.g^{-1}) nos vários microambientes avaliados do grupo GDA. Letras iguais nas barras p>0,05; Letras diferentes nas barras p<0,0001. As barras indicam as medianas e erro padrão.



Nas tabelas de seis a oito estão expostas as médias, medianas e medidas de dispersão das concentrações de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5, respectivamente, na pelagem de cães saudáveis e na poeira intradomiciliar avaliadas.

Tabela 6- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der p 1, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis.

	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Tapete	0,42	0,52	0,15	0,00	1,63
Sofá	1,24	0,05	0,92	0,00	3,84
Cama do cão	1,82	1,72	1,71	0,00	5,59
Roupa de cama do cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cão	0,03	0,06	0,00	0,00	0,20
Chão	0,72	1,10	0,07	0,00	2,57

Tabela 7- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Der f 1, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis.

	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Tapete	0,01	0,05	0,00	0,00	0,15
Sofá	0,04	0,11	0,00	0,00	0,31
Cama do cão	0,05	0,11	0,00	0,00	0,39
Roupa de cama do cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 8- Médias, Medianas e Medidas de dispersão da concentração ($\mu g.g^{-1}$) de Blo t 5, encontrados na poeira intradomiciliar e na pelagem de cães saudáveis.

	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Tapete	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sofá	0,05	0,20	0,00	0,00	0,70
Cama do cão	0,07	0,24	0,00	0,00	1,01
Roupa de cama do cão	0,23	0,33	0,00	0,00	0,47
Cão	0,01	0,06	0,00	0,00	0,30
Chão	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

As figuras 16 e 17 sintetizam de forma comparada as concentrações em $\mu g.g^{-1}$ de Der p 1 e Der f 1, na cama do cão, cão, chão, roupa de cama do cão, sofá e tapete dos domicílios de cães saudáveis.

As concentrações de Der p 1 no sofá e na cama dos cães foram significativamente maiores que na pelagem de cães saudáveis ($p<0,05$). Enquanto que, a concentração de Der f 1 na cama dos cães foi significativamente maior que na pelagem de cães saudáveis ($p<0,05$).

Nenhuma diferença estatística foi encontrada quando comparadas as

concentrações de Blo t 5 nos diferentes ambientes avaliados (p>0,05).

Figura 16– Distribuição da concentração de Der p 1 (µg.g^{-1}) nos vários microambientes avaliados do grupo GS. Letras iguais nas barras p>0,05; Letras diferentes nas barras p<0,0001. As barras indicam as medianas e erro padrão.

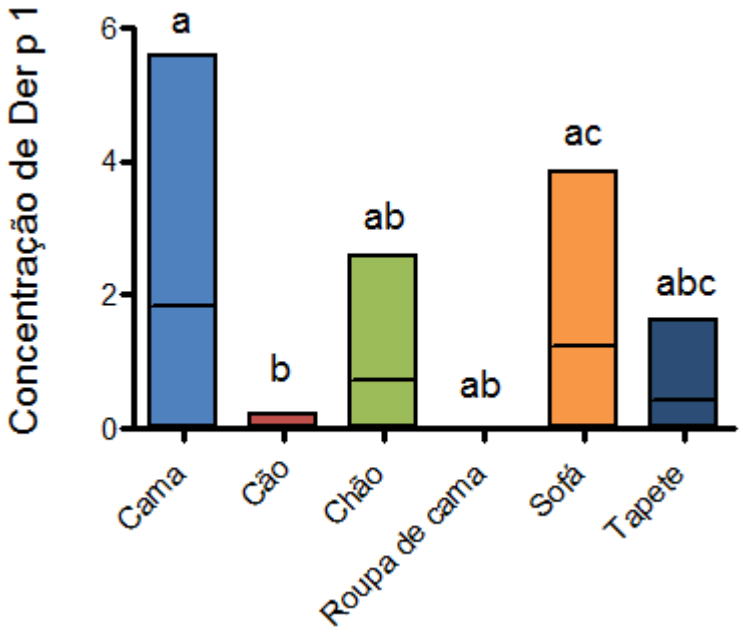
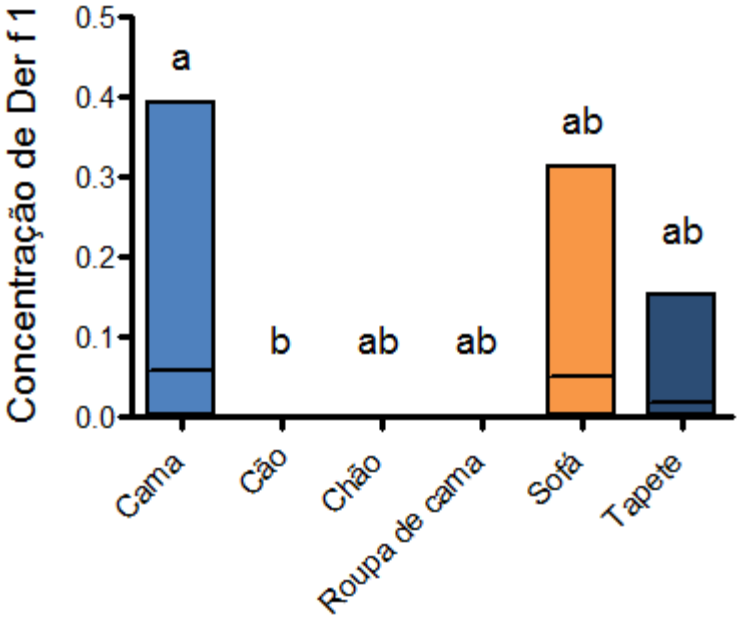


Figura 17– Distribuição da concentração de Der f 1 (µg.g^{-1}) nos vários microambientes avaliados do Grupo GS. Letras iguais nas barras p>0,05; Letras diferentes nas barras p<0,0001. As barras indicam as medianas e erro padrão.

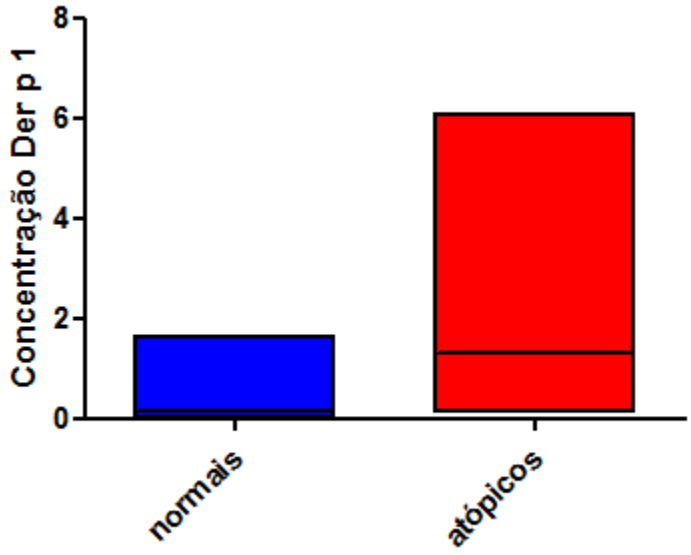


Quando correlacionada a concentração do alérgeno Der p 1 na pelagem e no microambiente dos cães com dermatite atópica foi observado que quanto maior a concentração deste na cama do cão e no sofá, maior a concentração na pelagem do cão ($p<0,05$) e quanto maior a concentração do alérgeno no tapete, maior sua concentração no sofá ($p<0,05$).

Quanto a correlação entre a concentração de alérgenos de ácaro Der p 1 na pelagem e no microambiente de cães saudáveis notou-se correlação linear apenas quando comparados a cama do cão e o sofá ($p<0,05$).

No tapete de domicílios de cães com dermatite atópica foi encontrado maior concentração de Der p 1 em relação aos domicílios de cães saudáveis ($p<0,05$) (Figura 18). Nos demais microambientes estudados, a concentração de alérgenos (Der p 1, Der f 1 e Blo t 5) se equivaleu em ambientes de cães com dermatite atópica e saudáveis ($p>0,05$).

Figura 18– Concentração mediana de Der p 1 ($\mu g.g^{-1}$) no tapete de domicílios de cães com dermatite atópica e de cães saudáveis.



4.5.2 Avaliação dos escores lesionais e de prurido obtidos dos cães com dermatite atópica

A mediana do escore lesional encontrada foi de 10,5 pontos em um total de 50 pontos. Enquanto que, a mediana do índice de prurido foi de 7,5 na escala de Rybnicek et al. (2009).

Quando correlacionados o escore de lesão e o de prurido, com a concentração de alérgenos de ácaros na pelagem do cão, na cama do cão, sofá, roupa de cama do cão e tapete observou-se que não há correlação linear, ou seja, os índices de lesão e de prurido independeram da quantidade de alérgenos presentes no ambiente ou na pelagem do cão ($p>0,05$).

5. DISCUSSÃO

A partir do século XX, o padrão comportamental habitual das famílias mudou para uma maior permanência em ambientes internos. Este novo padrão de vida, favorece ao desenvolvimento de morbidades alérgicas, devido ao aumento da exposição aos alérgenos da poeira doméstica (Platts-Mills, 2009). Este padrão comportamental pode também ser extrapolado para os cães, que cada vez mais vivem em apartamentos e dentro das casas, e passam a maior parte do tempo junto com o proprietário, aderindo ao seu estilo de vida.

Strachan (2000), sugeriu que as infecções na infância e o contato com ambientes pouco higienizados poderia conferir proteção contra o desenvolvimento de doenças alérgicas. Anos mais tarde, esta hipótese foi expandida para incluir a exposição reduzida a microrganismos, entre outros, como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas (hipótese da higiene) (Vasconcelos et al., 2011). Nesta hipótese, o desequilíbrio da resposta linfocítica Th1/Th2 justifica o aumento de doenças alérgicas crônicas em sociedades desenvolvidas, cujas famílias com maior renda apresentam maiores condições de higiene (Patki, 2007).

No presente estudo, a maioria dos cães era de raça definida (95%), intradomiciliados, vacinados, vermifugados, eram banhados constantemente e viviam em ambientes limpos, o que segundo a hipótese da higiene favorece a uma tendência à resposta Th2 (imunidade humoral) e ao desenvolvimento de doenças alérgicas.

Os alérgenos de ácaros são onipresentes e capazes de causar reações alérgicas em humanos, em cães e em várias espécies de animais (Randall et al., 2003; Gehring et al., 2005; Raffan et al., 2005; Alan e Novak, 2006).

A sensibilização e precipitação dos sintomas da dermatite atópica em cães, no hemisfério norte, têm sido comumente associada à exposição aos alérgenos do *D. farinae* (Nuttall et al., 2006). Estudos com Western blot revelaram que 80-90% dos cães com dermatite atópica, sensibilizados a extratos de *D. farinae*, continham anticorpos IgE específicos para proteínas de peso molecular entre 60 e 98 kDa deste ácaro, o que sugeriu que alérgenos de alto peso molecular, como o Der f 15 e o Der f 18, sejam os mais importantes na exacerbação dos sintomas clínicos desta morbidade (McCall et al.,

2001; Weber et al., 2003). Infelizmente, ensaios para a avaliação da concentração destes alérgenos no ambiente e para testes intradérmicos não estão disponíveis, e não existe informação sobre a correlação das suas concentrações em amostras da poeira doméstica.

Como o clima, geografia e a ecologia dos ácaros no Brasil são diferentes dos países onde as pesquisas foram realizadas, estudos que comprovem a importância do Der f 15 e do Der f 18 na dermatite atópica em cães no Brasil se fazem necessários. O *D. farinae* e seus alérgenos têm o pico de sua população em temperaturas entre 25 e 30ºC e URA de 50 a 60% (Arlian e Platts-Mills, 2001; Jackson et al., 2005), o que pode justificar parcialmente sua menor ocorrência em Curitiba, quando comparado aos níveis encontrados em outros estados do Brasil, e registrados em países de clima temperado continental.

Além disso, relatos anteriores mostraram baixa frequência do *D. farinae* em diferentes regiões do Brasil, e o alérgeno Der f 1 indetectável ou encontrado em níveis muito baixos (Zavadniak, 2000; Rego, et al., 2003; Justino, 2005; Rullo, et al., 2005), o que corrobora com o estudo atual, que encontrou Der f 1 em apenas 14 das 147 amostras de poeira colhidas (9,5%) e em concentração média de 0,01 $\mu g.g^{-1}$ de poeira.

Somente em regiões mais secas dos estados de São Paulo (Demite et al., 2007) e de Minas Gerais, especificamente Uberlândia (Sopelete, 2000) e Uberaba (Terra et al., 2004) é que há predominância do *D. farinae*. Sugerindo que, os alérgenos deste ácaro possam ser pouco importantes na sensibilização de cães atópicos em Curitiba.

Em dois estudos conduzidos na Grécia, observou-se que o *D. pteronyssinus* é mais comum que o *D. farinae* em ambientes de pacientes humanos asmáticos (Pechlivanidis et al., 1997), fato também observado na Inglaterra, Nova Zelândia, Austrália, Chile, Venezuela e Colômbia (Thomas, 2010).

O *D. pteronyssinus* é abundante nas Américas do Sul e Central (Thomas, 2010). Estudos anteriores realizados em São Paulo (SP) (Rullo et al., 2005), Fortaleza (CE) (Rego et al., 2003), Rio de Janeiro (Geller, 1996), e Salvador (BA) (Medeiros et al., 2002) mostraram que o *D. pteronyssinus* e a *B. tropicalis* são causas importantes de sensibilização entre os pacientes humanos asmáticos no Brasil.

Em Curitiba, as duas espécies de ácaros que prevalecem na poeira domiciliar também são o *D. pteronyssinus*, encontrado em 93% das amostras de poeira, principalmente nas camas, e o *Blomia tropicalis* (30%) (Souza e Rosário Filho, 2012). No presente estudo, o Der p 1, alérgeno maior do *D. pteronyssinus* foi encontrado em 100 das 147 amostras de poeira colhidas (68%), e o Blo t 5, alérgeno maior do ácaro *Blomia tropicalis*, em nove (6,1%).

Para o *D. pteronyssinus*, o maior crescimento populacional ocorre a 25°C e URA acima de 60%. Ressalta-se que a colheita das amostras foi realizada entre os meses de maio a agosto de 2013, período em que as temperaturas médias em Curitiba foram baixas e a média da umidade do ar foi em torno de 72%. O outono e inverno de Curitiba, por serem úmidos, podem ter favorecido a manutenção de populações ambientais de *D. pteronyssinus* e prolongado o tempo de viabilidade de seus alérgenos, fazendo com que estes tivessem um comportamento quase que perene, mesmo que em concentrações baixas. Por prevalecerem na poeira domiciliar em Curitiba, sugere-se que os alérgenos deste ácaro possam ser os mais importantes na sensibilização de cães com dermatite atópica.

As concentrações de Der p 1, Der f 1 e Blo t 5 foram baixas nos domicílios avaliados, quando comparados a outros trabalhos (Zavadniak, 2000; Dutra et al., 2001; Farias, 2012). Isto pode ser explicado pela conjunção de fatores como limpeza ambiental adequada (a maioria dos domicílios eram limpos semanalmente), troca frequente da roupa de cama dos animais, pisos que facilitavam a limpeza (maior frequência de piso frio e laminado de madeira), presença de poucos tapetes e carpetes no ambiente, boa distribuição das mobílias, concentração baixa de moradores e animais nos domicílios, áreas amplas e arejadas. Assim, a boa condição socioeconômica se mostrou um fator importante.

O tapete e o sofá foram os locais que apresentaram as maiores concentrações do alérgeno Der p 1 nos domicílios de cães com DA. Enquanto que, nos domicílios de cães saudáveis foram a cama dos cães e o sofá. Isto pode ser explicado pela maior dificuldade de higienização desses locais, e também pelos proprietários afirmarem não terem o costume de aspirar ou lavar a cama dos cães com receio de estragá-las, deixando-as apenas no sol. Outro fator importante é que as famílias, para tornar o

ambiente mais aconchegante e com maior conforto térmico, preferem manter tapetes e estofados em seus domicílios, os quais são reservatórios de ácaros e seus alérgenos, e facilita sua manutenção e o aumento periódico de suas concentrações.

Nos demais microambientes estudados, a concentração de alérgenos de ácaros equivaleu àqueles ambientes de cães com dermatite atópica e saudáveis. Ou seja, estes cães se expõem aos alérgenos de ácaros de maneira semelhante, entretanto, o cão com dermatite atópica desenvolve sintomas clínicos pelo fato de apresentarem defeitos genéticos na barreira epidérmica e na codificação das proteínas de adesão (Cork et al., 2006; Marssela e Samuelson, 2009). A barreira epidérmica defeituosa facilita o contato dos alérgenos ambientais e microbianos com células de defesa da epiderme, e estimulam a reação inflamatória tegumentar (Olivry et al., 2010). As mudanças microestruturais da epiderme de cães com dermatite atópica levam à sensação de prurido e iniciam um incremento da resposta inflamatória (Homey et al., 2006).

Quando correlacionada a concentração do alérgeno Der p 1 na pelagem e no microambiente dos cães com dermatite atópica, notou-se que quanto maior a concentração deste alérgeno na cama do cão e no sofá, maior a concentração desses na pelagem, fato que pode ser explicado por esses animais permanecerem a maior parte do tempo nesses locais, e pelos alérgenos poderem ser transferidos passivamente para a pelagem desses cães. Assim, o ambiente pode ter sido uma fonte de alérgenos de ácaros para o cão, e estes podem ser encontrados em sua pelagem, após frequentarem seus nichos ecológicos.

Apesar da maioria dos cães estudados apresentarem pelagem longa, o que possivelmente favoreceria a proliferação acariana e a manutenção de seus alérgenos, estes obtiveram índices de positividade e concentrações destes alérgenos em sua pelagem inferiores às observadas em estudos pregressos.

Jackson et al. (2005), avaliaram a quantidade de ácaros e os níveis de Der p 1 e Der f 1 na pelagem de cães no sudeste da Inglaterra, e verificaram a presença de ácaros em 22% das amostras, sendo que o *Dermatophagoides pteronyssinus* foi o ácaro mais observado (11,8% das amostras). Em 60,3% das amostras foi observado que o Der p 1 possuía concentrações médias superiores a 40 $\mu g.g^{-1}$ de poeira.

Ressalta-se que estes cães não eram banhados de forma regular e moravam em sua maioria dentro de casa.

Em contraste, Farias (2012), ao avaliar a concentração de alérgenos de ácaros na pelagem de cães e na poeira a partir de domicílios de crianças com rinite ou asma alérgicas, encontrou índices de positividade de Der p 1 na pelagem de cães em 37,5%, e concentração média de 0,4 $\mu g.g^{-1}$ de poeira. A maioria dos cães avaliados por Farias (2012) era mantida pelos proprietários em ambiente extradomiciliar e utilizados para atividades de vigia em quintais e canis, estando fora do contato contínuo com os principais nichos ecológicos dos ácaros.

No estudo atual, um baixo índice de Der p 1 e concentração média de 0,25 $\mu g.g^{-1}$ foi observado. No Guidelines de 2010 para o tratamento da dermatite atópica em cães, Olivry et al. (2010), relatam que banhos semanais com xampu neutro e água morna são capazes de remover alérgenos ambientais, bactérias e fungos da pelagem dos cães e auxiliam na minimização dos defeitos da barreira epidérmica e do prurido. Isto pode ser uma explicação para a baixa concentração de alérgenos de ácaros observada na pelagem dos cães estudados, que eram banhados semanalmente, eram mantidos pelos proprietários em ambientes limpos e eram escovados de forma regular.

Além disso, 75% dos cães estudados utilizavam produtos pulicidas e acaricidas periodicamente, e é provável que o uso destes tenha efeito sobre os ácaros da poeira doméstica e a concentração de seus alérgenos, como sugerido no estudo de Swinnen e Vroom (2004).

As partículas fecais do *D. pteronyssinus*, por apresentarem baixo peso molecular, facilitam à aerossolubilização do alérgeno Der p 1, o que o torna responsável pela precipitação ou exacerbação dos sintomas de rinite e asma em seres humanos. Contudo, essas partículas só se tornam disponíveis para inalação após a manipulação ambiental associada a atividades de limpeza doméstica, como aspiração e organização do ambiente, ou quando as pessoas descansam ou deitam sobre os nichos dos ácaros (sofás, colchões, roupas de cama e travesseiros) (Platts-Mills, 2009).

O Der p 1, por apresentar atividade proteolítica, está relacionado com a piora na perda da função da barreira epidérmica e na exacerbação da DA em humanos

(Nakamura et al., 2006). A importância dessas proteases em cães com DA ainda é desconhecida (Prélaud, 2014).

A exposição a níveis de Der p 1 superiores a 2 $\mu g.g^{-1}$ de poeira são fatores de risco para sensibilização alérgica (Eggleston, 2003), e a exposição a níveis superiores de 10 $\mu g.g^{-1}$ pode desencadear sintomas clínicos de rinite e asma em humanos (Upham, 2005).

No presente estudo, o alérgeno de ácaro Der p 1 no microambiente de cães com DA teve concentração superior a 2 $\mu g.g^{-1}$ de poeira apenas no tapete, e este pode ser uma fonte para sensibilização desses animais. No entanto, as concentrações de Der p 1 capazes de sensibilizar ou desencadear sintomas da dermatite atópica em cães não foram estabelecidos. Entretanto, talvez uma concentração inferior de alérgenos de ácaros seja necessária para a sensibilização e para o desenvolvimento dos sintomas clínicos, já que os defeitos na barreira epidérmica, inerentes à dermatite atópica, permitem o contato direto com os alérgenos, sua pronta absorção percutânea, e estimula à hiper-reatividade inflamatória tegumentar e o prurido.

No presente estudo, a maioria dos cães com dermatite atópica avaliados tinham prurido "*sine materia"* (primário), e quando comparados os índices de lesão e de prurido com a quantidade dos alérgenos estudados, no ambiente ou na pelagem do cão, não se observou diferença estatística ($p>0,05$). Entretanto, para avaliar a importância desses alérgenos na precipitação do eczema atópico em cães, estudos mais específicos devem ser realizados, como à exposição ao alérgeno específico e avaliação dos níveis de lesão e prurido após esta, e a avaliação com teste intradérmico específico aos alérgenos avaliados.

Como os domicílios visitados tinham um bom padrão de higienização, outras origens para precipitação e exacerbação dos sintomas de DA nos cães avaliados deveriam ser investigados, assim como a pesquisa de outros alérgenos não avaliados no presente trabalho.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir que:

a- O Der p 1 foi o alérgeno de ácaro mais frequente e com maiores concentrações nos domicílios dos cães com dermatite atópica;

b- As amostras de tapete, sofá e cama dos cães apresentaram as concentrações mais elevadas deste alérgeno;

c- Os alérgenos de ácaros se equivaleram em ambientes de cães com DA e saudáveis, com exceção do tapete, que nos domicílios de cães atópicos, apresentou concentração de Der p 1 superior aos domicílios de cães saudáveis;

d- Não houve relação significativa entre os níveis de alérgenos e os escores de prurido e de lesão dos cães com dermatite atópica.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Der p 1 é o principal alérgeno encontrado no microambiente dos cães, porém, nos locais estudados, oriundos de populações com melhores condições sócio econômicas, à exposição a estes é baixa.

O sofá, cama do cão e tapete são os locais onde as concentrações foram mais significativas, e podem ter relevância clínica. Portanto, é recomendado o uso de cobertura impermeável na cama dos cães e nos sofás, a lavagem periódica da roupa de cama com água quente, e sua troca frequente, além da remoção de tapetes ou minimização do seu contato pelos cães com DA.

Os cães estudados não representam uma fonte importante de alérgenos de ácaros para seus proprietários, entretanto podem eles carregar alérgenos em pequena quantidade, possivelmente após a exposição aos seus nichos ecológicos. Portanto, para que se tornem baixos reservatórios de ácaros e baixa fonte de risco de precipitação alérgicas em seus proprietários, é recomendado que os cães sejam banhados semanalmente e sejam escovados com frequência.

REFERÊNCIAS

Akdis CA, Akdis M, Bieber T, Bindslev-Jensen C, Boquniewicz M, Eigenmann P, Hamid Q, Kapp A, Leung DY, Lipozencic J, Luger TA, Muraro A, Novak N, Platts-Mills TA, Rosenwasser L, Scheynius A, Simons FE, Spergel J, Turjanmaa K, Wahn U, Weidinger S, Werfel T, Zuberbier T. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/Practall Consensus Report. 2006; 61:969-987.

Alberts B, Gray O, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Biologia Molecular da Célula. Porto Alegre: Artes Médicas. 2004; 1394-1396.

Allan JP, Novak N. The pathophysiology of atopic eczema. Clinical and Experimental Dermatology. 2006; 31: 89–93.

Arlian LG, Platts-Mills TAE. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2001; 107:406-413.

Arlian LG, Morgan MS. Biology, ecology, and prevalence of dust mites. Immunology and Allergy Clinics of North America. 2003; 23:443–468.

Arruda LK, Rizzo MC, Chapman MD, Fernandez-Caldas E, Baggio D, Platts-Mills TA. Exposure and sensitization to dust mite allergens among asthmatic children in Sao Paulo, Brazil. Clinical & Experimental Allergy. 1991; 21:433-9.

Arshad SH. Does exposure to indoor allergens contribute to the development of asthma and allergy? Current Allergy and Asthma Reports. 2010; 10:49–55.

Bessot JC, Pauli G. Mite allergens: an overview. European Annals of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 43:141–156.

Brazis P, Serra M, Selle´s A, Dethioux F, Biourge V, Puigdemont A. Evaluation of storage mite contamination of commercial dry dog food. Veterinary Dermatology. 2008; 19:209–214.

Colloff MJ, Stewart GA, Thompson PJ. House dust acarofauna and Der p 1 equivalent in Australia: the relative importance of Dermatophagoides pteronyssinus and Euroglyphus maynei. Clinical and Experimental Allergy. 1991; 21:225-230.

Colloff MJ, Spieksma FTM. Pictorial keys for the identification of domestic mites. Clinical and Experimental Allergy. 1992; 22:823–830.

Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006; 118:3-21.

Cunha VES, Silva MH, Faccini JLH. Serological identification of house dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2012; 32:917-921.

Chapman MD, Pom'es A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2007; 119:414–420.

Chew FT, Zhang L, Ho TM, Lee BW. House dust mite fauna of tropical Singapore. Clinical & Experimental Allergy. 1999; 29: 201-6 apud Thomas WR. Geography of house dust mite allergens: Review article. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2010; 28:211-224.

Deboer DJ, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2001; 81:239-249.

Demite PR, Isa LS, Feres RJF. House dust mites in Sao Jose do Rio Preto, State of Sao Paulo, Brazil. Biociencias. 2007; 15:154-156.

Dutra B.M, Rosário NA, Zavadniak, AF. Alérgenos inaláveis em Curitiba: uma revisão de sua relevância clínica**.** Revista brasileira de Alergia e Imunopatologia. 2001; 24:189-195.

Eaton KK, Downing FS, Griffiths DA, Hockland S, Lynch S. Housedust mites (D. pteronyssinus) in pets' beds and their relation to dust allergy. Clinical Allergy. 1985; 15: 151–154.

Eggleston PA, Arruda LK. Ecology and elimination of cockroaches and allergens in the home. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2003; 107:422-429.

Farias MR. Dermatite atópica canina: da fisiopatologia ao tratamento. Clínica Veterinária. 2007; 48-62.

Farias MR. Avaliação da concentração de aeroalérgenos na pelagem de cães (Canis familiaris) e na poeira a partir de domicílios de crianças com rinite ou asma alérgicas (Tese de Doutorado) Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná; 2012.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco FA. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. Veterinary Dermatology. 2010; 21:23-31.

Gehring U, Brunekreef B, Fahlbusch B, Wichmann HE, Heinrich J; INGA Study Group. Are house dust mite allergen levels influenced by cold winter weather? Allergy. 2005; 60:1079–82.

Geller, M. Alergia aos ácaros no Rio de Janeiro. Jornal Brasileiro de Medicina. 1996; 71:164-169.

Griffin CE, Deboer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2001; 81:255-269.

Hillier A. Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. Veterinary Medicine. 2002; 97:198–208.

Homey B, Steinhoff M, Ruzicka T, Leung DY. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006; 118:178-189.

Jackson PA, Foster PA, Hart JB, Helps RC, Shaw ES. Prevalence of house dust mites and *dermatophagoides* group 1 antigens collected from bedding, skin and hair coat of dogs in south-west England.Veterinary Dermatology. 2005;16:32–38.

Jacquet A. Review Article:Innate Immune Responses in House Dust Mite Allergy. ISRN Allergy. 2013; 2013:1-18.

Jaeger K, Linek M, Power HT, Bettenay SV, Zabel S, Rosychuk RAW, Mueller RS. Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. Veterinary Dermatology. 2009; 21:119–123.

Justino CM, Pereira FL, Segundo GR, Sopelete MC, Silva DA, Sung SJ, Taketomi EA. Exposição alergênica em veículos privados de passeio e transporte escolar em Uberlândia, MG. Revista brasileira de alergia e imunopatologia. 2005; 28:94-8.

Kawamoto S, Suzuki T, Aki T, Der f 16: A novel gelsolin related molecule identified as an allergen from the house dust mite, Dermatophagoides farinae. FEBS Letters. 2002; 516:234-238. (a)

Kawamoto S, Aki T, Yamashita M, Toward elucidating the full spectrum of mite allergens-state of the art. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2002; 94:285-298. (b)

Kyoung Y, Hong CS, Yong TS. Allergenic tropomyosins and their cross-reactivities. Protein and Peptide Letters. 2006; 13:835–845.

Lake FR, Ward LD, Simpson RJ, Thompson PJ, Stewart GA. House dust mite-derived amylase: alergenicity and physicochemical characterization, Journal of Allergy and Clinical Immunology.1991; 87:1035–1042 apud Jacquet A. Review Article: Innate Immune Responses in House Dust Mite Allergy. ISRN Allergy. 2013; 2013:1-18.

Li J, Sun B, Huang Y, Lin X, Zhao D, Tan Gl. A multicentre study assessing the prevalence of sensitizations in patients with asthma and/or rhinitis in China. China Alliance of Research on Respiratory Allergic Disease. 2009; 64: 1083-92.

Lucas R, Cantagallo K, Beviani D. Diagnóstico diferencial das principais dermatopatias Alérgicas parte II: Atopia: Diagnóstico e estratégias terapêuticas. Nosso Clínico. 2007; 10:6–14.

Madhurantakam C, Nilsson OB, Konradsen J, Saarne T, Hogbom E.Crystal Structure of the Dog Lipocalin Allergen Can f 2: Implications for Cross-reactivity to the Cat Allergen Fel d 4. Journal of Molecular Biology. 2010; 401:68-83.

Marsella R. Atopy: New targets and new terapies. Veterinary Clinics Small Animal Practice, Philadelphia. 2006; 36:161-174.

Marsella R, Samuelson D. Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. Veterinary Dermatology. 2009; 20:533-538.

Marsella R, Girolomoni G. Canine Models of Atopic Dermatitis: A Useful Tool with Untapped Potential.Journal of Investigative Dermatology. 2009; 129:2351-2357.

Marsella R, Souza CA, Gonzales AJ, Fadok VA. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2012; 241:194-207.

Medeiros Jr. M, Figueiredo JP, Almeida MC, Almeida MC, Atta AM, Taketomi EA, Silva DA, Terra SA, Amorim WW, Pinho RS, Araujo MI, Carvalho EM. Association between mite allergen (Derp 1, Der f 1, Blo t 5) levels and microscopic identification or skin prick test in asthmatic subjects. International Archives of Allergy and Immunology. 2002; 129:237-41.

Meury S, Molitor V, Doherr MG, Roosje P, Leeb T, Hobi S, Wilhelm S, Favrot C. Role of the environment in the development of canine atopic dermatitis in Labrador and Golden retrievers. Veterinary Dermatology. 2011; 22:327-334.

Miller WH, Griffin GE, Campbell KL.Small animal dermatology. 7th ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Inc.; 2013.

Morar N, Willis-Owen SAG, Moffatt MF, Cookson WOCM. The genetics of atopic dermatitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006; 118:24-34.

McCall C, Hunter S, Stedman K, Weber E, Hillier A, Bozic C, Rivoire B,. Olivry T. Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen (Der f 15) for dogs. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2001; 78: 231–247.

Nakamura T, Hirasawa Y, Takai T, Reduction of the skin barrier function by proteolytic activity of a recombinant house dust mite major allergen Der f 1. Journal of Investigative Dermatology. 2006; 126:2719-2723.

Nodtvedt A, Bergvall K, Sallander M, Egenvall A, Emanuelson U, Hedhammar A. A case-control study of risk factors for canine atopic dermatitis among boxer, bullterrier and West Highland white terrier dogs in Sweden. Veterinary Dermatology. 2007; 18:309-315.

Nuttall TJ, Pter BH, Bensignor E, Willemse T. and the members of the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. European Society of Veterinary Dermatology. 2006; 17:223–235.

Olivry T, Deboer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Veterinary Dermatology. 2010; 21:233-248.

O´Neil SE, Heinrich TK, Hales BJ. The chitinase allergens Der p 15 and Der 18 from Dermatophagoides pteronyssinus. Clinical and Experimental Allergy. 2006; 36:831–839. Patki A. Eat dirt and avoid atopy: the hygiene hypothesis revisited. Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology. 2007; 73:2-4.

Plant JD, Gortel K, Kovalik M, Polissar NL, Neradilek MB. Development and validation of the Canine Atopic Dermatitis Lesion Index, a scale for the rapid scoring of lesion severity in canine atopic dermatitis. Veterinary Dermatology. 2012; 23:515-e103.

Platts-Mills TA. Indoor allergens. In: Middlenton's allergy. 7thed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2009.

Pechlivanidis T. Bronchial asthma and house dust mites (HDM): Thesis, Aristotles University of Thessaloniki. 1991 [in Greek with English abstract].

Pechlivanidis T, Mitsios A, Papazachariadou M. Detection and identification of house dust mites in Larisa, central Hellas. In Proceedings XVI International Congress of Allergology and Clinical Immunology. 1997; 80.

Pike AJ, Wickens K. The House Dust Mite and Storage Mite fauna of New Zealand dwellings. New Zealand Entomologist. 2008; 31: 17-22.

Pol G, Brazis P. Alérgenos mais frequentes na dermatite atópica canina. Veterinary Medicine. 2007; 16-19.

Prélaud P. Allergens and environmental influence. In: Veterinary Allergy. 1st ed. John Wiley & Sons, Ltd; 2014.

Raffan E, Lawrence H, Henderson T, Nelson S, Isherwood D, McArdle C, Nuttall T. Prevalence of the group I Dermatophagoides allergens Der p 1 and Der f 1 in homes with no dogs, healthy dogs and Dermatophagoides-sensitized atopic dogs in Liverpool. Veterinary Dermatology. 2005; 16: 253–260.

Randall A, Hillier A, Cole LK, Kwochka KW, Needham G, Wassom DL. Quantitation of house dust mites and house dust mite allergens in the microenvironment of dogs. American Journal Veterinary Research. 2003; 64:1580–1588.

Ree HI, Jeon SH, Lee IY, Hong CS, Lee DK. Fauna and geographical distribution of house dust mites in Korea. Korean Journal of Parasitology. 1997; 35:9-17 apud Thomas WR. Geography of house dust mite allergens: Review article. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2010; 28:211-224.

Rego FX, Barros MT, Matos G, Kalil J, Bruim PFC, Tobias KR, Chapman MD, Arruda LK. Hammocks as important source of exposure to mite allergen in northeast Brazil. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2003;111(2):S239.

Rosa AE, Flechtmann CHW. Mites in house dust from Brazil. International Journal of Acarology. 1979; 5: 1975-198 apud Thomas WR. Geography of house dust mite allergens: Review article. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2010; 28:211-224.

Rose G, Arlian L, Bernstein D, Grant A, Lopez M, Metzger J. Evaluation of household dust mite exposure and levels of specific IgE and IgG antibodies in asthmatic patients enrolled in a trial of immunotherapy. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1996; 97: 1071-8 apud Thomas WR. Geography of house dust mite allergens: Review article. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2010; 28:211-224.

Rullo VE, Solé D, Arruda LK, Nakamura C, Valente V, Nóbrega FJ, Naspitz CK. Exposição a alérgenos e a endotoxina, sensibilização e expressão clínica da doença alérgica: Estudo de coorte. Revista Brasileira de alergia e imunopatologia. 2005; 28:292-7.

Rybnicek J, Lau-Gillard PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. Veterinary Dermatology. 2009; 20:115-122.

Sopelete MC, Silva DA, Arruda LK, Chapman MD, Taketomi EA. Dermatophagoides farinae (Der f 1) and Dermatophagoides pteronyssinus (Der p 1) allergen exposure among subjects living in Uberlandia, Brazil. International Archives of Allergy Immunology. 2000; 122:257-63.

Souza CCT, Rosário Filho NA. Perfil de aeroalérgenos intradomiciliares comuns no Brasil: revisão dos últimos 20 anos. Revista brasileira de alergia e imunopatologia. 2012; 35:47-52.

Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the 'hygiene hypothesis'. Thorax. 2000; 55(Suppl 1):S2–S10.

Swinnen C, Vroom M. The clinical effect of environmental control of house dust mites in 60 house dust mite-sensitive dogs. Veterinary Dermatology. 2004; 15: 31–6.

Terra SA, Silva DAO, Sopelete MC, Mendes J, Sung SJ, Taketomi EA. Mite allergen levels and acarologic analysis in house dust samples in Uberaba, Brazil. Journal of Investional Allergology and Clinical Immunology. 2004; 14:232-237.

Tovey ER, McDonald LG, Peat JK, Marks GB. Domestic Mite Species and Der p 1 Allergen Levels in Nine Locations in Australia. Allergy and Clinical Immunology International. 2000; 12: 226-231.

Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, Mills KL, O´Brien RM. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. International Archives of Allergy and Immunology. 2002; 129:1–18.

Thomas WR. Geography of house dust mite allergens: Review article. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2010; 28:211-224.

Tsai LC, Peng HJ, Lee CS. Molecular cloning and characterization of full-length cDNAs encoding a novel highmolecular-weight Dermatophagoides pteronyssinus mite allergen, Der p 11. Allergy. 2005; 60:927–937.

Upham JW, Holt PG. Environment and development of atopy. Current Opinion in Immunology. 2005; 5:167-172.

Vasconcelos ACLF, Rosa GMA, Mass PO, Pinto JHPP. Prevalência de fatores associados a doenças alérgicas em crianças e adolescentes com relação à Hipótese da Higiene. Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia. 2011; 34:49-54.

Zavadniak AF. Verificação da potência de extratos alergênicos e da exposição à alérgenos domiciliares: contribuição ao tratamento de doenças alérgicas (Dissertação de Mestrado). Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná; 2000.

Zock JP, Heinrich J, Jarvis D, Verlato G, Norbäck D, Plana E. Distribution and determinants of house dust mite allergens in Europe: the European Community Respiratory Health Survey II. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006; 118: 682-90.

Weber E, Hunter S, Stedman K, Dreitz S, Olivry T, Hillier A, McCall C. Identification, characterization, and cloning of a complementary DNA encoding a 60-kd house dust mite allergen (Der f 18) for human beings and dogs. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2003; 112:79–86.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO DE USO ANIMAL

Eu,_____Nacionalidade_____,estado civil_____,idade _____, profissão_____
Endereço,_____
RG_____,permito a participação do meu animal no estudo denominado: **Avaliação da concentração de alérgenos provenientes de ácaros na pelagem e na poeira de domicílios de cães (*Canis lupus familiaris*) com dermatite atópica**,cujos objetivos e justificativas são: **avaliar a sensibilização de cães com dermatite atópica aos alérgenos de ácaros da poeira doméstica, suas concentrações na pelagem e no microambiente aonde vivem, verificando assim se estes são importantes fatores extrínsecos na precipitação do eczema atópico em cães.**

A participação do meu animal no referido estudo será no sentido de **contribuir para o melhor entendimento da participação de alérgenos ambientais provenientes de ácaros na precipitação da inflamação e do prurido (eczema) em cães com dermatite atópica.** Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos e negativos somente serão obtidos após a sua realização.

Estou ciente de que meu animal será atendido, respeitado e receberá os cuidados necessários, como qualquer outro elemento submetido da mesma forma a procedimentos onde não estejam sendo utilizados para fins de pesquisa.

Também fui informado que posso recusar a participação do meu animal no estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que recebe o meu animal.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são **Prof. Dr. Marconi Rodrigues Farias, Mestranda Dévaki Liege de Assunção e Aluno Rafael Guilherme Rodrigues Ganho** e com eles poderão manter contato pelo telefone **(41) 9702-7863.**

É assegurada à assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da participação da pesquisa com o meu animal.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em permitir a participação do mesmo, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, pela participação do meu animal.

Curitiba,

Proprietário:

Prof. Dr. Marconi Rodrigues Farias:
MV. Dévaki Liege de Assunção:
Aluno Rafael Guilherme Rodrigues Ganho:

APÊNDICE B

FICHA CLÍNICA DE ALERGOLOGIA VETERINÁRIA

Ficha Clínica nº:_____ Data:_____Espécie:_____ Nome do Animal:_____
Raça:_____Idade:_____Sexo:_____
Peso:_____Proprietário:Endereço:_____
Telefone:_____

ANAMNESE

Qual a queixa principal?_____
Quando iniciou os sintomas?_____
Há prurido? _____ ( ) Leve ( ) Moderado ( ) Intenso ( ) Grave ( ) Diurno ( ) Sazonal ( ) Perene ( ) Diuturno ( ) Noturno
Quando iniciou o prurido? _____

O prurido está presente em quais locais?

( ) Região periocular ( ) Região perioral ( )Axila ( ) Abdômen ( )Região inguinal ( ) Extremidades dos Membros pélvicos ( ) Extremidades dos Membros torácicos ( ) Flexura anticubital ( ) Flexura carpiana
( ) Flexura tíbio-társica ( ) Borda de orelha ( ) Região lombossacral ( )Flancos ( ) Interdígitos
( ) Região perianal/perigenital ( ) Pavilhão auricular ( ) Tórax
Antecede às lesões dermatológicas? ( ) Sim ( ) Não

O prurido responde à:

( ) Antibiótico: Qual?_____( ) Anti-histamínico: Qual?_____
( ) Corticóide: Qual?_____( ) Ciclosporina:_____

Já foram utilizados ácidos graxos? ( ) Sim ( ) Não **O animal é eutrófico?** ( ) Sim ( ) Não

Histórico Alimentar:

O animal se alimenta do que? _____
Qual a alimentação pregressa?_____

O animal se expõe a:

( ) carne bovina ( ) carne de frango ( ) peixe ( ) laticínios ( ) embutidos ( ) biscoito canino ( ) couro comestível
Outro?_____
Há histórico de vômito e diarreia? ( ) Sim ( ) Não Qual frequência?_____
Há histórico de piora do prurido com exposição a alguma dieta?
( ) Sim ( ) Não Comentário: _____
Há histórico de dor abdominal, flatulência?
( ) Sim ( ) Não Comentário: _____
Qual a frequência defecatória? _____
Idade que iniciou a ração:_____

Fatores ambientais:

O animal mora em habitação: ( ) Urbana ( ) Rural ( ) Casa ( ) Apartamento ( ) Intradomiciliar ( ) Extradomiciliar
Onde o animal fica mais tempo? _____

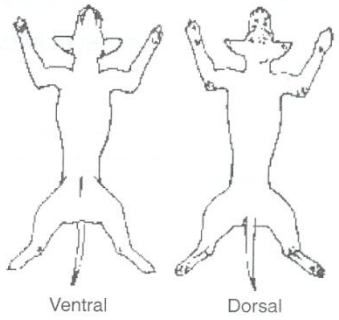
Exposição a alérgenos e inalantes

Intradomiciliares: ( ) pó doméstico ( ) pelo de animais ( ) pena ( ) mofo ( ) insetos
Extradomiciliares: ( ) pólen de gramíneas ( )pólen de arbustos Inalantes irritantes: ( ) perfume ( ) cigarro ( ) poluição ambiental
Irritante primário de contato:
( ) carpete ( ) tapete ( ) lã ( ) papel impresso ( ) cera ( ) sabão em pó ( ) desinfetantes ( ) cimento( ) tinta ( ) grama ( ) roupinha
Histórico pregresso de infecções?
Piodermite: ( ) sim. Quantas crises ao ano? _____ ( ) Não
Malasseziose: ( ) Sim. Quantas crises ao ano? _____ ( ) Não
Há presença de ectoparasitos? ( ) Pulga ( ) carrapato ( ) Não

Faz uso de medições pulicidas ou acaricidas regularmente? ( ) Sim ( ) Não
Há contactantes? ( ) Sim ( ) Não ( ) Cão ( ) gato ( ) Sintomáticos ( )Assintomáticos
Histórico pregresso de otite? ( ) Não ( ) Sim Quantos episódios por ano?_____
Há otite crônica? ( ) Sim ( ) Não
( ) Persistente ( ) Intermitente ( ) Unilateral ( ) Bilateral
Frequência de banhos:_____
Qual xampu é utilizado?_____
Presença de co-morbidades:
Oftálmico: ( ) prurido ( ) congestão ( ) lacrimejamento
Respiratório: ( ) prurido ( ) espirro ( ) tosse ( ) secreção ( ) obstrução
Endócrino: ( ) Obesidade ( ) Poliúria ( ) Polidipsia ( ) termofilia ( ) face trágica ( ) artralgia
( ) mialgia ( ) sonolência ( ) letargia

Exame Clínico Dermatológico

1- Descreva detalhadamente todas as lesões de pele e identifique ao lado suas distribuições



Observações _____
Diagnósticos presuntivos _____

Exames complementares e/ou subsidiários:

Raspado de pele:_____
Lâmpada de Wood: ( ) positivo ( ) negativo
Cultivo fúngico: ( ) positivo ( ) negativo
Identificação:_____
Cultivo Bacteriano e antibiograma: ( ) positivo ( ) negativo
Identificação:_____
Exame citopatológico: ( ) Aspirativo ( ) Esfoliativo ( ) Decalque
Locais:_____
Exame histopatológico: ( ) Saca-bocado ( ) Elíptica
Locais:_____
Outros_____
Dieta de exclusão:_____

ANEXOS

ANEXO A

Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação
Comitê de Ética em Pesquisa

PUCPR
GRUPO MARISTA

Curitiba, 12 de Setembro de 2012.

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

REGISTRO DO PROJETO: 728A (CARTA)

TÍTULO DO PROJETO: *AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALÉRGENOS PROVENIENTES DE ÁCAROS NA PELAGEM E NA POEIRA DE DOMICÍLIOS DE CÃES (CANIS FAMILIARIS) COM DERMATITE ATÓPICA.*

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Marconi Rodrigues de Farias

EQUIPE DE PESQUISA: Marconi Rodrigues de Farias, Dévaki Liege Assunção.

INSTITUIÇÃO

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

ESCOLA / CURSO:

Escola de Ciências Agrarias e Medicina Veterinária / Medicina Veterinária

ESPÉCIE DE ANIMAL	SEXO	IDADE / PESO	CATEGORIA	QUANTIDADE
Canis familiaris	M / F	Indeterminado	B / Imediato	40 (20 animais já liberados no parecer 728 1ª versão)

O colegiado do CEUA em reunião no dia 12/09/2012, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO.**

Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar um relatório ao CEUA-PUCPR descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não inicia-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.

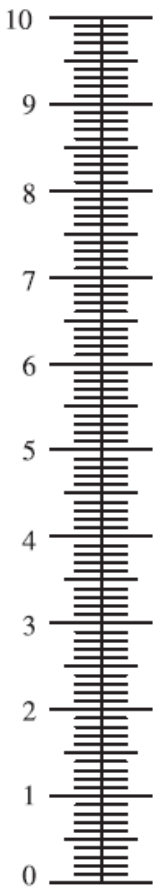
Lembramos ao pesquisador que é obrigatório encaminhar o relatório anual parcial e relatório final da esquisa a este CEUA.

ANEXO B

Critérios de Favrot 2010 para o diagnóstico de dermatite atópica em cães
1. Início dos sintomas antes de três anos de idade;
2. Cães habitam normalmente ambientes internos;
3. Prurido responsivo a corticosteroides;
4. Prurido como sintoma inicial (“*sine materia*”);
5. Extremidades distais dos membros torácicos afetadas;
6. Condutos auditivos afetados;
7. Bordas dos pavilhões auriculares não afetadas;
8. Região lombossacral não afetada.

Fonte: FAVROT et al., 2010 (Adaptado).

ANEXO C



Prurido extremamente grave/quase contínuo. Prurido não cede, mesmo no consultório (precisa ser fisicamente contido para parar de coçar).

Prurido grave/episódios prolongados podem ocorrer à noite e também durante a alimentação, brincadeiras e exercícios.

Prurido moderado/episódios regulares podem ocorrer à noite, mas não enquanto come, brinca, se exercita ou é distraído

Prurido leve/um pouco mais frequente. Não se coça enquanto dorme, come, brinca se exercita ou é distraído.

Prurido muito leve/apenas episódios ocasionais. Prurido discretamente maior do que antes de apresentar o problema de pele.

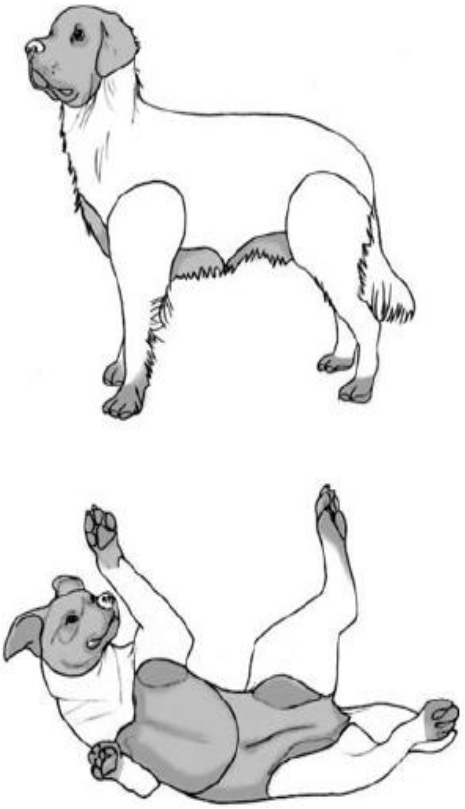
Cão normal- Não acho que prurido seja um problema.

Fonte: RYBNICEK et. al., 2009.

ANEXO D

Índice de lesão da dermatite atópica canina (CADLI)

Avaliar cada uma das regiões do corpo indicadas, integrando a severidade e a extensão da lesão (s).
(0 = nenhuma, 1 = leve; 2,3 = moderada; 4,5 = lesões graves e extensas)

Região do corpo	Eritema Escoriação Erosão 0-5	Alopecia Liquenificação Hiperpigmentação 0-5	
Cabeça e Pavilhão auricular			
Extremidades distais dos membros torácicos			
Extremidades distais dos membros pélvicos			
Tórax e Axila			
Abdômen e região inguinal			
Sub-totais 0-25			
Total 0-50			

Fonte: PLANT et al., 2012.

ANEXO E

Relação entre peso e superfície corporal em cães

kg	m^2	kg	m^2	kg	m^2	kg	m^2	kg	m^2	kg	m^2
0,5	0,06	11	0,49	22	0,78	33	1,03	44	1,25	60	1,55
1	0,10	12	0,52	23	0,81	34	1,05	45	1,26	62	1,58
2	0,15	13	0,55	24	0,83	35	1,07	46	1,28	64	1,62
3	0,20	14	0,58	25	0,85	36	1,09	47	1,30	66	1,65
4	0,25	15	0,60	26	0,88	37	1,11	48	1,32	68	1,68
5	0,29	16	0,63	27	0,90	38	1,13	49	1,34	70	1,72
6	0,33	17	0,66	28	0,92	39	1,15	50	1,36	72	1,75
7	0,36	18	0,69	29	0,94	40	1,17	52	1,41	74	1,78
8	0,40	19	0,71	30	0,96	41	1,19	54	1,44	76	1,81
9	0,43	20	0,74	31	0,99	42	1,21	56	1,48	78	1,84
10	0,46	21	0,76	32	1,01	43	1,23	58	1,51	80	1,88

Fonte: Rodaski; Nardi, 2008.