



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

OS TESTES DE PROVOCAÇÃO CONJUNTIVAL NA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA
IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA *RUSH* NA DERMATITE ATÓPICA CANINA

ANA SOFIA MOREIRA VAZ RICO

PRESIDENTE

Doutor José Henrique Duarte Correia

VOGAIS

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço-Martins

Doutora Solange Judite Roque Coelho

Alves Gil

ORIENTADORA

Doutora Ana Mafalda Gonçalves

Xavier Félix Lourenço-Martins

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia Costa

Delgado

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

OS TESTES DE PROVOCAÇÃO CONJUNTIVAL NA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA
IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA *RUSH* NA DERMATITE ATÓPICA CANINA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANA SOFIA MOREIRA VAZ RICO

PRESIDENTE

Doutor José Henrique Duarte Correia

VOGAIS

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço-Martins

Doutora Solange Judite Roque Coelho

Alves Gil

ORIENTADORA

Doutora Ana Mafalda Gonçalves

Xavier Félix Lourenço-Martins

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia Costa

Delgado

2014

LISBOA

Agradecimentos

À minha orientadora Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço, por me ter guiado durante todo este processo, pelo carinho e dedicação. Obrigada por todos os conhecimentos transmitidos, pelo exemplo de rigor e profissionalismo. Foi um privilégio ser uma “menina da Dermatologia”.

À minha co-orientadora Professora Doutora Esmeralda Delgado, que foi incansável e se mostrou sempre disponível ao longo de todo o projecto. Obrigada pelos ensinamentos e por me ter permitido “ver” a Medicina Veterinária com outros olhos. Tenho por ambas uma grande estima e admiração. O meu sincero obrigada!

À Bio-Portugal, nomeadamente ao Engenheiro Paulo Ferreira, pelos recursos e apoio financeiro prestados, sem os quais este estudo não seria possível.

A toda a equipa do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, médicos, enfermeiros, auxiliares e pessoal da recepção, pela demonstração diária do “amor à camisola”. Obrigada pelos conhecimentos, por toda a ajuda e por terem tornado esta passagem pelo Hospital inesquecível.

À Doutora Adriana Belas, pela simpatia e disponibilidade e pela preciosa ajuda na componente laboratorial deste projecto.

Ao Professor Telmo Nunes, pela simpatia, amabilidade e prontidão.

Ao meu pai e mãe, que estiveram presentes durante todo o percurso, pelo amor e apoio incondicionais, pela paciência e por tudo o que me permitiram alcançar. À minha mana, pela amizade, pela confiança depositada e constante preocupação. Amo-vos de coração.

Ao André, pelo ombro nas horas menos boas e pelo apoio e incentivo permanentes. Obrigada por tornares tudo melhor.

Aos meus amigos do peito (Fernandes, Chichorra, Ritz, Lena, Mariana e Loira) pelos conselhos, pelos desabafos, pela força e principalmente por estarem sempre lá.

A todos aqueles que directa ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho e todo o meu percurso académico. Muito obrigada.

OS TESTES DE PROVOCAÇÃO CONJUNTIVAL NA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA IMUNOTERAPIA ALERGÉNIO-ESPECÍFICA *RUSH* NA DERMATITE ATÓPICA CANINA

Resumo

A atopia é uma doença frequente no cão, mas pouco se sabe acerca do envolvimento ocular, desconhecendo-se a prevalência e o impacto da conjuntivite alérgica (CA) na dermatite atópica canina (DAc). O teste de provocação conjuntival (TPC) é um modelo útil ao seu estudo, sendo utilizado na avaliação da eficácia de várias formas de tratamento, incluindo a imunoterapia alergénio-específica (ITAE). Através da realização de TPC em pacientes atópicos com sensibilização a *Dermatophagoides farinae* (Df) pretendeu-se avaliar a contribuição deste alergénio nas manifestações oculares e a eficácia da imunoterapia alergénio específica *rush* (ITAEr) na remissão dos sinais oculares e cutâneos.

Foram incluídos no estudo 15 pacientes (n=15) com diagnóstico de DAc e sinais compatíveis com CA. Numa primeira fase todos os animais foram submetidos a TPC para Df e avaliados quanto ao prurido e quanto à gravidade das lesões dermatológicas através do *Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index* (CADESI-03). O TPC foi realizado com doses crescentes do alergénio (0.08, 0.4 e 2 BU/mL) até ao aparecimento de um *score* positivo (≥ 6), dado pelo somatório das classificações de hiperémia conjuntival, quemose, epífora e prurido ocular avaliadas de 0 a 3 consoante a sua gravidade (ausente, suave, moderado ou grave, respectivamente). Ao prurido foi permitido um grau adicional de 4 (muito grave). O alergénio foi instilado no olho direito (olho teste) e o olho esquerdo serviu de controlo. O teste foi considerado inválido sempre que o olho controlo apresentou uma pontuação ≥ 6 . Na segunda fase do estudo, 2 meses após o início da ITAE *rush* (ITAEr), os pacientes foram sujeitos a novo TPC e os seus CADESI-03 e escala de prurido reavaliados. Os animais não fizeram qualquer tipo de tratamento, que não a ITAEr, durante o período que decorreu entre fases. As classificações finais relativas aos TPC, prurido e CADESI-03 foram posteriormente comparadas pelo teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas ($p < 0.005$). Após a ITAEr, os *scores* oculares finais foram mais baixos em 87% dos pacientes e 3 animais (20%) apresentaram um TPC negativo. Os valores do CADESI-03 e TPC alteraram-se de 122.80 ± 55.11 e 6.73 ± 0.76 para 97.67 ± 43.95 ($p < 0.005$) e 5.40 ± 1.12 ($p < 0.002$), respectivamente. O prurido decresceu de 8.80 ± 0.86 para 5.70 ± 2.09 ($p < 0.001$). O TPC permitiu estabelecer uma nítida relação entre a afecção conjuntival e a exposição a alergénios para os quais se sabe existir sensibilização, concluindo-se que pode ser útil na avaliação da eficácia da ITAE. A ITAEr pode beneficiar cães atópicos com CA associada, uma vez que a maioria dos animais demonstrou uma resolução parcial ou total sintomatologia ocular e cutânea.

Palavras-chave: conjuntivite alérgica, dermatite atópica canina, imunoterapia alergénio-específica *rush*, teste de provocação conjuntival.

EFFECTIVENESS OF RUSH IMMUNOTHERAPY IN ATOPIC DOGS AS ASSESSED BY CONJUNCTIVAL PROVOCATION TESTS

Abstract

Canine atopic dermatitis (cAD) is frequent in dogs, but little is known about eye involvement and the true prevalence and impact of canine allergic conjunctivitis (AC) is still unknown. The conjunctival provocation test (CPT) is used in human to study the ocular response to allergenic stimuli and to evaluate anti-allergic therapy, including specific immunotherapy. The aims of this study are to evaluate the clinical use of the CPT in atopic dogs as a mean of testing the efficacy of rush specific immunotherapy (rSIT) and to understand if this form of treatment is of benefit in canine atopic patients that suffer from AC.

15 dogs with cAD known to be sensitized to *Dermatophagoides farinae* (Df) that had history of allergic ocular findings and scored positive on the CPT on initial presentation were enrolled in the study. Pruritus was assessed and dermatological signs were graded using *Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index* (CADESI-03). Patients were challenged with increasing doses of specific allergen (0.08, 0.4 e 2 BU/mL) until a positive score was reached (≥ 6). Concerning CPT allergic ocular findings, four criteria (conjunctival hyperemia, epifora, chemosis and pruritus) were scored on a three or four-point scale, separately for each eye. Patients were tested in the right eye before they began rSIT and two months later. The left eye served as control. No other treatment protocol was established for these patients apart from the vaccine administration. In the end CPT, CADESI-03 and pruritus initial and final scores were compared using Wilcoxon test for paired samples ($p < 0.005$).

After rSIT, 87% of the patients scored lower on the CPT and 3 animals (20%) showed no response. CADESI-03 and CPT scores decreased from 122.80 ± 55.11 and 6.73 ± 0.76 to 97.67 ± 43.95 ($p < 0.005$) and 5.40 ± 1.12 ($p < 0.002$), respectively. Mean pruritus was significantly lower (8.80 ± 0.86 to 5.70 ± 2.09 , $p < 0.001$).

With CPT a link can be made between conjunctival pathology and exposure to allergens for which the patient is known to be sensitized. We have demonstrated that CPT can be used to monitor the clinical response of patients to rSIT and that atopic patients with ocular signs benefit from this specific treatment, since the majority showed partial or complete resolution of allergic ocular signs. It is therefore considered that rSIT is of benefit in canine atopic patients that suffer from AC.

Key-words: allergic conjunctivitis, canine atopic dermatitis, conjunctival provocation test, rush specific immunotherapy.

Comunicações científicas

Os resultados do presente trabalho foram apresentados no XXI congresso da APMVEAC, sob a forma de comunicação oral, realizado no Centro de Congressos de Lisboa, nos dias 17 e 18 de Maio de 2014.

A. Rico, E. Delgado e A. Lourenço, “Os testes de provocação conjuntival na avaliação da eficácia da imunoterapia alérgico-específica *rush* na dermatite atópica canina”.

Índice

I. Introdução.....	1
II. Actividades Desenvolvidas na Área Clínica	2
III. A Dermatite Atópica Canina	4
1. Introdução.....	4
2. Incidência e prevalência.....	4
3. Fisiopatologia.....	5
4. Factores de risco	7
4.1. Predisposição genética	7
4.2. Predisposição de género.....	8
4.3. Idade.....	8
4.4. Ambiente.....	8
5. Principais manifestações clínicas na DAc e distribuição lesional	9
6. Tratamento	12
6.1. Considerações gerais	12
6.2. Imunoterapia alérgico-específica	12
6.2.1. Introdução	12
6.2.2. Mecanismos imunomodulares da ITAE	14
a) Efeitos na população de células-T	14
b) Efeitos na concentração sérica de imunoglobulinas.....	14
c) Efeitos na reactividade da pele	15
6.2.3. Eficácia da ITAE no tratamento da DAc.....	15
6.2.4. Factores que influenciam a eficácia da ITAE	17
6.2.5. Protocolos de administração.....	18
6.2.6. Formulação	20
a) Selecção de alérgenos	20
b) Número de alérgenos	21
c) Mistura de alérgenos.....	21
d) Dose de alérgenos.....	22
6.2.7. Vias de administração	22
6.2.8. Resposta do paciente.....	23
6.2.9. Tempo até se verificar a eficácia do tratamento.....	24
6.2.10. Duração da eficácia	25
6.2.11. Reacções adversas	25
6.2.12. Efeitos de medicação concomitante	26
6.2.13. Reavaliação dos pacientes.....	27

IV. A Conjuntivite Alérgica.....	28
1. Introdução.....	28
2. Incidência e prevalência.....	29
3. A conjuntiva	31
4. Fisiopatologia.....	32
5. A conjuntivite alérgica no Homem	34
6. A conjuntivite alérgica no cão.....	35
6.1. Sinais.....	36
6.2. Diagnóstico	38
6.2.1. Os testes de provocação conjuntival	40
6.3. Tratamento	41
V. O TPC na Avaliação da Eficácia da ITAEr na DAC	44
1. Objectivos.....	44
2. Materiais e Métodos.....	45
2.1. Selecção dos pacientes	45
2.2. Avaliação dermatológica	45
2.3. Avaliação oftalmológica	46
2.4. Teste de provocação conjuntival	47
a) Reconstituição dos extractos	47
b) Instilação	48
c) Tratamento pós-teste.....	49
2.5. Imunoterapia alérgico-específica <i>rush</i>	49
2.6. Análise estatística	50
3. Resultados.....	51
3.1. Fase I.....	51
3.1.1. Caracterização da amostra.....	51
3.1.2. Resultados da avaliação dermatológica	52
3.1.3. Resultados da avaliação oftalmológica.....	52
3.1.4. Correlação entre variáveis.....	53
3.1.5. Resultados do TPC	54
3.2. Fase II.....	55
3.2.1. Resultados da avaliação dermatológica	56
3.2.2. Resultados do TPC	57
4. Discussão	59
4.1. Caracterização da amostra	59
4.2 Correlação entre variáveis	59
4.3. Avaliação dermatológica	60
4.3.1. Efeitos da ITAEr no CADESI-03	61
4.3.2. Efeitos da ITAEr no prurido	62

4.4. Avaliação oftalmológica	62
4.4.1. Efeitos da ITAEr no TPC	62
5. Conclusões, limitações do estudo e perspectivas futuras	64
6. Bibliografia	65
7. Anexos.....	75

Índice de Figuras

Figura nº 1 – Região axilar (A) e inguinal (B) de um cão com dermatite atópica complicada por infecção bacteriana secundária. A pele apresenta eritema, escoriações e diversas pápulas circulares	9
Figura nº 2 – Eritema, alopecia e liquenificação perilabial de um cão com diagnóstico de dermatite atópica	10
Figura nº 3 – Cão com dermatite atópica e conjuntivite alérgica concomitante (eritema pericular, hiperemia conjuntival, quemose e epífora)	10
Figura nº 4 – Lesões interdigitais eritematosas por lambedura e lesão nodular (seta) num cão com dermatite atópica canina	10
Figura nº 5 – Frascos de imunoterapia alérgico-específica	13
Figura nº 6 – Sinais de conjuntivite alérgica em cães com dermatite atópica	37
Figura nº 7 – Conjuntivite folicular num cão com dermatite atópica (de notar os folículos linfóides hipertrofiados na conjuntiva palpebral indicados pela seta)	38
Figura nº 8 – Preparação das soluções a utilizar no TPC	48
Figura nº 9 – Cão com angioedema desencadeado pela ITAer	51
Figura nº 10 – Distribuição e gravidade dos sinais oculares na população	52
Figura nº 11 – Classificação final do envolvimento ocular	53
Figura nº 12 – Sinais de conjuntivite alérgica após TPC	54
Figura nº 13 – Classificação dos sinais de conjuntivite alérgica desencadeados pelo TPC	55
Figura nº 14 – Classificações do TPC, prurido cutâneo e CADESI-03 antes e depois da ITAer	56
Figura nº 15 – Classificações finais do TPC antes e depois da ITAer	57

Índice de Tabelas

Tabela nº 1 – Vantagens e desvantagens do uso da ITAE	17
Tabela nº 2 – Protocolo de administração de ITAE	19
Tabela nº 3 – Alterações ao protocolo de ITAE consoante a resposta do paciente	24
Tabela nº 4 – Classificação dos TPC de acordo com Abelson	49
Tabela nº 5 – Protocolo de ITAEr usado no estudo	50
Tabela nº 6 – Correlação entre o CADESI-03, o prurido ocular e a classificação ocular final	53
Tabela nº 7 – Concentrações que desencadearam um TPC positivo antes e depois da ITAEr	58

Lista de abreviaturas

ACVD – *American College of Veterinary Dermatology*

ALD – *Atopic-Like Dermatitis*

APC – *Antigen Presenting Cells*

BU – *Biological Units*

CA – *Conjuntivite Alérgica*

CADESI-03 – *Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index-third version 3*

CAFR – *Cutaneous Adverse Food Reactions*

CL – *Células de Langerhans*

DAC – *Dermatite Atópica canina*

DAPP – *Dermatite Alérgica à Picada da Pulga*

Df – *Dermatophagoides farinae*

Dp – *Dermatophagoides pteronyssinus*

FMV-UL – *Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade de Lisboa*

ICAM-1 – *Molécula 1 de Adesão Intracelular*

IFN- γ – *Interferão gama*

Ig – *Imunoglobulina*

IL – *Interleucinas*

ITAE – *Imunoterapia Alérgico-Específica*

ITAEr – *Imunoterapia Alérgico-Específica rush*

ITFCAD – *International Task Force on Canine Atopic Dermatitis*

MV – *Médico Veterinário*

PAF – *Factor de Activação Plaquetário*

PIO – *Pressão Intraocular*

PNU – *Protein Nitrogen Unit*

SC – *Subcutânea*

Th – *Linfócito T helper*

TID – *Testes Intradérmicos*

TNF α – *Factor α de Necrose Tumoral*

TPC – *Teste de Provocação Conjuntival*

Treg – *Linfócitos T reguladores*

VCAM – *Molécula de Adesão Vascular*

I. Introdução

A presente tese encontra-se dividida em duas partes. A primeira consiste numa breve descrição das actividades desenvolvidas no âmbito do estágio curricular incluído no plano de estudos do curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.

Na segunda parte, após uma revisão da bibliografia existente na área da DAc, com especial enfoque na ITAEr e no envolvimento ocular na atopia, é apresentado o estudo acerca da utilização dos TPC na avaliação da eficácia desta forma de terapêutica específica em pacientes com DAc e CA concomitante.

De acordo com alguns autores, o envolvimento ocular na DAc é mais comum do que o referido na literatura, podendo atingir até 60% dos pacientes atópicos (Lourenço-Martins *et al.*, 2011). Não obstante, a CA encontra-se subdiagnosticada, passando frequentemente despercebida. O TPC é o *gold standard* para o estudo da alergia ocular no Homem e, apesar de praticamente inexistentes, as referências à sua utilização no cão mostraram resultados promissores. Por isto, e porque se trata de um procedimento simples e seguro, pensámos que seria interessante utilizar os TPC na avaliação da resposta à ITAEr em cães atópicos nos quais existisse envolvimento ocular. Quisemos, assim, contribuir para o estudo da CA no cão, já que este é um tema raras vezes abordado na Medicina Veterinária, e avaliar os efeitos da ITAEr na remissão dos sinais oculares e cutâneos em cães atópicos.

II. Actividades Desenvolvidas na Área Clínica

O estágio a seguir descrito decorreu no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), de 17 de Setembro de 2012 a 17 de Março de 2013, num total de 1214 horas de trabalho, sob a orientação da Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço e a co-orientação da Professora Doutora Esmeralda Delgado.

De acordo com os principais serviços clínicos disponibilizados, as actividades de estágio foram distribuídas pelas seguintes áreas: Medicina Interna, Internamento, Imagiologia e Cirurgia. Foi-me ainda permitida a participação nas consultas de referência de diversas especialidades clínicas, nomeadamente Dermatologia e Oftalmologia, dado o meu gosto e interesse pelas referidas áreas. Estas foram as consultas de segunda opinião que acompanhei com maior assiduidade e a razão pela qual escolhi desenvolver o presente trabalho.

No serviço de Medicina Interna acompanhei e participei activamente nas consultas, onde elaborei a anamnese, realizei o exame de estado geral e diversos outros procedimentos, tais como preparação e administração de fármacos injectáveis, colocação de cateteres, colheita de sangue e urina para análise, limpeza de feridas e execução de pensos. Esta foi a área onde passei grande parte do meu estágio, 592 horas.

No serviço de Internamento foi-me possível o acompanhamento e discussão activa do curso clínico de cada animal e a prestação de cuidados continuados. As actividades desenvolvidas consistiram no fornecimento de cuidados básicos de higiene e alimentação, bem como na monitorização dos pacientes. Foram ainda realizados outros procedimentos, alguns já referidos, como a preparação e a administração de fármacos, a cateterização venosa, a colocação de sistemas de venoclise, a algaliação, a colheita de sangue e a medição da pressão arterial. As mesmas actividades foram realizadas no internamento para doenças infecto-contagiosas. No total, foram despendidas 312 horas no internamento.

As 168 horas passadas no serviço de Imagiologia dividiram-se pela radiologia, pela tomografia axial computadorizada e pela ecografia. Na radiologia foi possível a obtenção de competências práticas específicas no posicionamento dos animais, na selecção das cassetes radiográficas e na interpretação de imagens. O envolvimento na tomografia axial passou pela monitorização do paciente durante o exame e após a anestesia e foi-me dada a oportunidade de assistir a diversos exames ecográficos e procedimentos ecoguiados, como colheitas de urina por cistocentese e punções aspirativas por agulha fina.

No serviço de Cirurgia assisti a várias intervenções, desde ovariectomias e castrações, a laparotomias exploratórias, mastectomias, gastropexias, destartarizações, bem como a algumas cirurgias ortopédicas como a ressecção da cabeça do fémur. Foi-me

ainda permitido participar em algumas delas. As funções variavam consoante a necessidade do cirurgião, podendo ser assumido um de três papéis: anestesista, circulante ou ajudante de cirurgião. Após a cirurgia os animais eram cuidadosamente monitorizados, sendo feito o seu acompanhamento durante o recobro. No total, foram passadas na cirurgia 152 horas.

Na área de Dermatologia estive presente nas consultas semanais de referência, tendo sido contemplados diversos métodos de diagnóstico. A participação nas consultas incluiu a elaboração da anamnese, realização do exame físico e de alguns exames complementares de diagnóstico como citologias auriculares e cutâneas, raspagens, tricogramas e biópsias de pele. Assisti a diversas vídeo-otoscopias e participei na discussão do diagnóstico e terapêutica de diferentes patologias e casos específicos. No âmbito do serviço de Alergologia realizei vários testes intradérmicos cutâneos e foi-me permitida a administração de imunoterapia alérgico-específica.

Nas consultas de Oftalmologia foi-me permitida a realização do exame oftálmico, com recolha da história pregressa, pesquisa dos reflexos oculares, realização do teste de Shirmer e da fluoresceína, medição da pressão intraocular, exame com lâmpada de fenda e realização de fundoscopia em sala escura. Assisti ainda a alguns procedimentos cirúrgicos, nomeadamente a cirurgia de cataratas.

III. A Dermatite Atópica Canina

1. Introdução

A dermatite atópica canina (DAc) é uma doença prurítica e inflamatória, com predisposição genética, cujas características clínicas se encontram associadas a reacções a imunoglobulinas do tipo E (IgE), geralmente dirigidas contra alergénios ambientais (Halliwell, 2006).

Há muito que a DAc é reconhecida em cães e a sua percepção tem evoluído ao longo dos tempos (Nuttall, Uri & Halliwell, 2013). Desde os primeiros relatos do então denominado “eczema alérgico”, no início da década de 30, que os esforços desenvolvidos nos últimos 75 anos têm permitido um conhecimento mais profundo da doença (Marsella, Sousa, Gonzales & Fadok, 2012; Nuttall, *et al.*, 2013) .

Actualmente reconhece-se uma entidade paralela designada por dermatite de tipo atópico (*atopic-like dermatitis*, ALD), na qual os pacientes apresentam um conjunto de sinais clínicos idênticos aos observados na DAc, porém não é possível documentar uma hipersensibilidade mediada por IgE contra alergénios ambientais ou outros (Halliwell, 2006).

A relação entre a DAc e as reacções cutâneas adversas de origem alimentar (*cutaneous adverse food reactions* – CAFR, ou “alergias alimentares”) é também hoje mais clara. Clinicamente, apesar de representarem entidades nosológicas distintas, as CAFR podem assemelhar-se à DAc, ou seja, é possível que alergénios alimentares sejam capazes de desencadear crises de DAc em animais hipersensíveis aos mesmos. Contudo, nem todos os animais com alergia alimentar a manifestam como DAc, nem todos os pacientes com DAc têm crises induzidas por alimentos (Olivry, Deboer, Prelaud, Bensignor & ITFCAD, 2007).

Assim, as manifestações clínicas da DAc podem estar associadas a alergia ambiental (DAc *sensu stricto*), a hipersensibilidade alimentar (CAFR com sinais de DAc ou “DAc induzida por alimentos”) ou a ALD (Favrot, Steffan, Seewald & Picco, 2010).

2. Incidência e prevalência

Ao longo das últimas décadas tem-se assistido a um agravamento da prevalência das doenças alérgicas no Homem, em grande parte justificado por mudanças decorrentes no estilo de vida e no meio ambiente (Leung & Bieber, 2003). Uma vez que o “melhor amigo do Homem” tem vindo a acompanhá-lo no caminho evolutivo da vida, surgindo lado a lado com este nas sociedades modernas (Lourenço-Martins, Peleteiro, Correia & Morais-Almeida,

2010), é bastante provável que se verifique a mesma tendência na espécie canina (Hillier & Griffin, 2001).

De acordo com o Grupo de Trabalho Internacional dedicado ao estudo da DAc (*American College of Veterinary Dermatology [ACVD] task force on canine atopic dermatitis*), a sua verdadeira prevalência e incidência permanecem desconhecidas, não existindo dados epidemiológicos fiáveis. Não obstante, trata-se de uma dermatose frequente na prática de clínica geral, contribuindo, do mesmo modo, para uma percentagem significativa do número de casos em consultas de referência (Hillier & Griffin, 2001). Segundo os mesmos autores, dependendo do tipo de especialidade clínica, 3% a 30% dos cães com doença cutânea são diagnosticados com DAc.

Pelos diversos estudos publicados, estima-se que a DAc atinja entre 3% a 15% da população canina, sendo, a par da dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP), uma das principais causas de prurido em cães (Reedy *et al.*, 1997; Hillier & Griffin, 2001; Scott *et al.*, 2001). É expectável que os resultados epidemiológicos se alterem, dependendo da localização geográfica da população em estudo, dos critérios usados no diagnóstico da afecção ou do tipo de especialidade clínica dos profissionais envolvidos (Hillier & Griffin, 2001).

À semelhança do Homem, também o cão se encontra sujeito a uma multiplicidade de factores cujo efeito pode contribuir para um aumento da incidência da dermatite atópica nesta espécie. Desconhece-se, porém, se os valores retratam uma maior sensibilidade dos médicos veterinários (MV) para o diagnóstico da doença ou se são devidos a verdadeiras implicações do actual estilo de vida dos animais de companhia (Marsella & Girolomoni, 2009). Factores como o maior tempo de permanência dos animais dentro de casa e o aumento das práticas de vacinação e desparasitação podem promover o acréscimo do número de casos (Frick & Brooks, 1983; Hillier & Griffin, 2001). A preferência por determinadas raças pode igualmente contribuir para a selecção de animais com “mutações atópicas” (Sousa & Marsella, 2001).

3. Fisiopatologia

Embora não sejam compreendidos na sua totalidade, sabe-se que muitos dos aspectos fisiopatológicos da DAc se assemelham aos descritos no Homem (Roosje, 2005; Marsella & Girolomoni, 2009; Williams, 2013). Trata-se de uma doença complexa, de etiologia multifactorial, na qual factores genéticos e ambientais, em combinação com a desregulação imunológica, defeitos de barreira cutânea e os efeitos da colonização bacteriana conduzem a um estado de hipersensibilidade (Jaeger *et al.*, 2010; Nuttall *et al.*, 2013). À dermatite atópica interessam particularmente as reacções de hipersensibilidade do tipo I (Willemsse,

1986), ou ditas de hipersensibilidade imediata, que se estabelecem poucos minutos após o contacto com o alergénio e têm a IgE e mastócitos como principais intervenientes (Halliwell, 2009).

Originalmente a DAc era tida como uma “dermatite alérgica por inalação”, sendo dado um grande ênfase à mucosa nasal como a principal via de acesso de aeroalergénios (Willemse, 1986; Marsella *et al.*, 2012). Estudos posteriores, como os levados a cabo por Marsella, Nicklin e Lopez (2006) numa colónia de cães atópicos da raça Beagle, vieram demonstrar que, apesar de todas as vias de exposição (respiratória, oral e cutânea) serem relevantes no processo de sensibilização, a percutânea é a que mais se relaciona com a gravidade dos sinais clínicos e a persistência das lesões, mesmo após a agressão alérgica.

À semelhança do que se sucede no Homem, crescem evidências de que as irregularidades de barreira cutânea são fundamentais no processo de desenvolvimento da DAc (Marsella & Samuelson, 2009). Indivíduos atópicos de ambas as espécies comungam de uma perda transepidérmica de água em excesso, de baixos níveis epidérmicos de ceramidas e flargina, bem como de anomalias na extrusão de corpos lamelares pelos queratinócitos (Marsella *et al.*, 2011). Tratando-se de defeitos primários ou secundários à inflamação ou traumatismo, estes mostraram facilitar a penetração de alergénios, predispondo à sensibilização alérgica. Assim, enquanto se enfatizava o efeito da desregulação imunológica na doença (“*inside-out*”), hoje propõe-se a integração de uma perspectiva “*outside-in*” na patogénese da DAc, visto as imperfeições de barreira contribuírem em muito para esta (Marsella & Samuelson, 2009).

Na fase aguda da doença, os presumíveis defeitos epidérmicos facilitam o contacto dos aeroalergénios, e possivelmente de alergénios microbianos, com as células imunitárias da epiderme (Olivry *et al.*, 2010). As células apresentadoras de antigénios (*Antigen Presenting Cells*, APC) aí residentes, nomeadamente as células de Langerhans (CL), capturam e processam os alergénios, migrando posteriormente para a derme e linfonodos regionais onde os apresentam a células T (Olivry *et al.*, 2010; Marsella *et al.*, 2012). O mecanismo de apresentação dá início ao processo imunológico que se caracteriza pela activação e diferenciação dos linfócitos T em células T *helper* do tipo 2 (Th2) e culmina na síntese de IgE específicas e de diversas citocinas como a interleucina 4 (IL-4), IL-5, IL-6 e IL-13 (Halliwell, 2009). No seguimento do contacto com os alergénios, os mastócitos dérmicos revestidos com IgE libertam histamina, proteases, quimiocinas e citocinas. Associado a um afluxo de granulócitos (neutrófilos e eosinófilos), de linfócitos T e células dendríticas, ocorre a desgranulação de células inflamatórias e libertam-se proteínas que induzem danos ao nível da derme e epiderme. Os agentes microbianos, os traumatismos auto-induzidos e diversos neuromediadores podem igualmente contribuir para a inflamação persistente das lesões cutâneas crónicas. Origina-se, assim, um ciclo contínuo de libertação de quimiocinas que conduz ao afluxo e à activação de leucócitos, bem como á libertação adicional de

mediadores pró-inflamatórios, produzindo-se uma inflamação cutânea que se auto-perpetua (Olivry *et al.*, 2010).

4. Factores de risco

4.1. Predisposição genética

Há muito que se debate o carácter hereditário da doença no Homem (Sousa & Marsella, 2001), conhecendo-se vários genes com uma forte associação ao fenótipo (Roosje, 2005).

Em medicina veterinária, é geralmente aceite a existência de uma predisposição genética na DAc, dado a mesma ser observada com maior frequência em determinadas raças (Sousa & Marsella, 2001). Assim, a própria definição e os critérios de diagnóstico da doença sugerem uma forte predilecção racial e/ou familiar (Favrot, 2009).

É difícil fazer-se uma avaliação fidedigna da predisposição genética na DAc, uma vez que se desconhece a população em risco (Favrot, 2009). Ainda assim, diversos estudos abordam a questão genética que lhe está subjacente (Sousa & Marsella, 2001). Adicionalmente, as predisposições podem alterar-se, não só no espaço, mas também no tempo (Griffin & DeBoer, 2001; Roosje, 2005; Jaeger *et al.*, 2010).

De entre as raças com maior probabilidade de vir a desenvolver a doença, Labrador e Golden Retrievers, Pastor Alemão e West Highland White Terrier são sistematicamente referidas (Zur, White, Ihrke, Kass & Toebes, 2002; Roosje, 2005; Nodtvedt, Bergvall, Emanuelson & Egenvall, 2006; Favrot *et al.*, 2010; Jaeger *et al.*, 2010), mas muitas outras são mencionadas. A DAc é mais prevalente em animais de raça pura (Zur *et al.*, 2002a) e hoje sabe-se que certos genes se expressam de forma diferente em cães atópicos. Alguns destes encontram-se associados a alterações da função da IgE, outros estão relacionados com o processo inflamatório e imunológico ou com os com defeitos de barreira epidérmica (Merryman-Simpson *et al.*, 2008; Wood *et al.*, 2009).

Outro indicador que sugere uma forte contribuição genética na expressão da DAc é a sua heritabilidade, calculada em 0.47 (Shaw, Wood, Freeman, Littlewood & Hannant, 2004) e, por isso, o cruzamento de cães com dermatite atópica deve ser desencorajado (Shaw *et al.*, 2004; Roosje, 2005).

4.2. Predisposição de género

As alusões relativas a uma predisposição de género na DAc são inconsistentes e contraditórias, considerando-se, por isso, uma questão ainda por esclarecer (Griffin & DeBoer, 2001). Na grande maioria dos estudos, machos e fêmeas surgem igualmente representados (Edmonds, 1980; Saridomichelakis *et al.*, 1999; Zur *et al.*, 2002a; Nodtvedt *et al.*, 2006; Favrot *et al.*, 2010), embora existam alguns relatos de predilecção de género (Halliwell & Schwartzman, 1971 e Scott, 1981 citados por Griffin & DeBoer, 2001; Favrot, 2009).

4.3. Idade

Na generalidade dos casos, os primeiros sinais tendem a surgir entre os 6 meses e os 3 anos de idade (Griffin & DeBoer, 2001), podendo, ocasionalmente, ocorrer antes dos 6 meses ou após os 7 anos de vida (Willemse, 1986; Saridomichelakis *et al.*, 1999). Comparativamente com outras doenças pruriginosas cutâneas, a DAc tende a instalar-se numa fase precoce da vida do animal, afectando sobretudo cães jovens (Prélaud *et al.*, 1998 citado por Griffin & DeBoer, 2001). Em 78% dos pacientes atópicos a doença manifesta-se antes dos 3 anos de idade (Favrot *et al.*, 2010).

4.4. Ambiente

Os factores ambientais exercem um efeito determinante na DAc, sendo apontados como os grandes responsáveis pelo rápido aumento da sua incidência nos últimos anos (Hillier & Griffin, 2001). Assim, o ambiente do animal pode favorecer o aparecimento da doença, existindo relatos de uma maior prevalência em cães que vivem maioritariamente dentro de casa (Favrot *et al.*, 2010).

No Homem, sabe-se que diversos factores ambientais (como os níveis baixos de humidade, a roupa e até os detergentes) e psicológicos (tais como o stress) contribuem para a gravidade dos sinais clínicos da afecção. No cão, porém, não existem evidências suficientes acerca do papel destes factores como agentes causais das crises de DAc (Olivry *et al.*, 2010).

5. Principais manifestações clínicas na DAc e distribuição lesional

Em teoria, o prurido e eritema são sistemáticos na DAc, sendo os primeiros sinais a surgir (Favrot, 2009). Outras manifestações cutâneas primárias consistem em máculas eritematosas, manchas e pequenas pápulas (Griffin & DeBoer, 2001; Roosje, 2005; Olivry *et al.*, 2010). É, contudo, possível que alguns animais não as exibam, mesmo quando existe prurido e, caso se observem, se façam representar essencialmente por eritema (Griffin & DeBoer, 2001). Alguns autores, erradamente, referem-se a esta apresentação como “pruritus sine materia”, devendo, preferencialmente, designá-la por “prurido sem lesão” (Bensignor, Marignac, Crosaz & Cavana, 2013).

Sendo as lesões secundárias as mais representadas, a maioria dos pacientes atópicos exhibe escoriações, alopecia, liquenificação, seborreia e hiperpigmentação (Olivry *et al.*, 2010). O pêlo baço ou tingido pela saliva também se incluem no grupo (Scott *et al.*, 2001). A sua presença é justificada pelo prurido e auto-traumatismo crónicos ou pode ser secundária à inflamação, a infecção ou a sobrecrecimento bacteriano. Constituem indicadores de cronicidade e tendem a surgir nas áreas de maior prurido (Griffin & DeBoer, 2001; Jaeger *et al.*, 2010).

Manifestações de lacrimejamento e congestão ocular ou de espirros e rinorreia podem ser indicativas de conjuntivite ou rinite alérgica concomitantes (Olivry *et al.*, 2010), sendo este o pressuposto que motivou e no qual se fundamentou o nosso trabalho.

As figuras nº 1, 2, 3 e 4 ilustram algumas das apresentações mais comuns na DAc.

Figura nº 1 – Região axilar (A) e inguinal (B) de um cão com dermatite atópica complicada por infecção bacteriana secundária. A pele apresenta eritema, escoriações e diversas pápulas circulares (original)

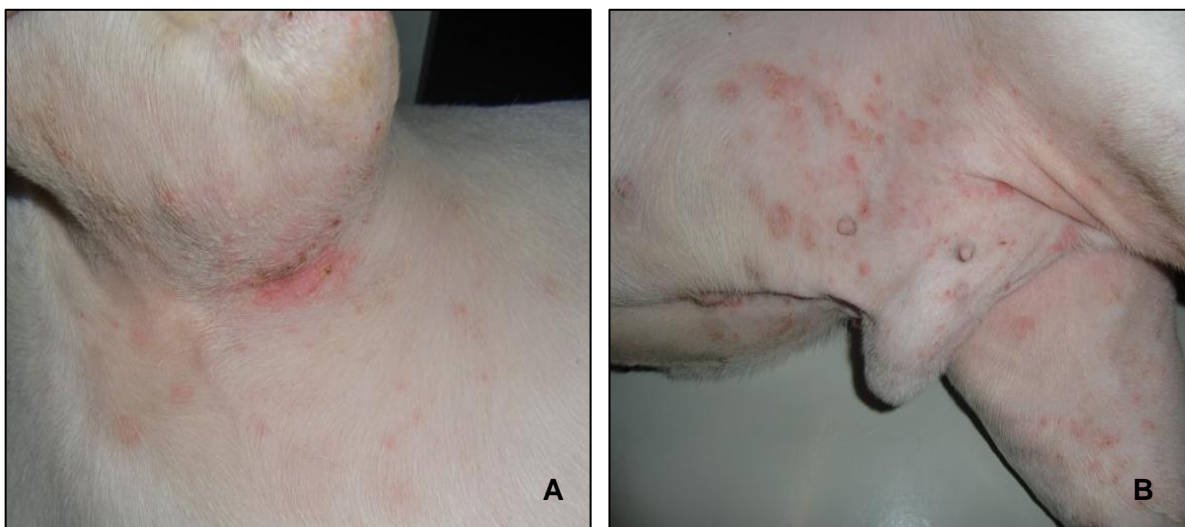


Figura nº 2 – Eritema, alopecia e liquenificação perilabial de um cão com diagnóstico de dermatite atópica (original).



Figura nº 3 – Cão com dermatite atópica e conjuntivite alérgica concomitante (eritema periorcular, hiperémia conjuntival, quemose e epífora) (original).

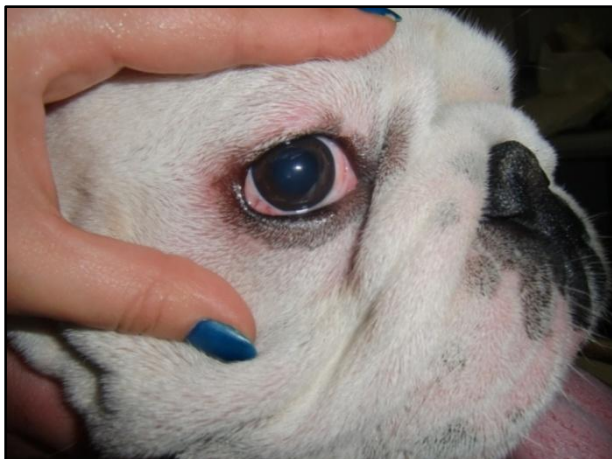


Figura nº 4 – Lesões interdigitais eritematosas por lambedura e lesão nodular (seta) num cão com dermatite atópica canina (original).



Os sinais podem ser sazonais ou não sazonais (perenes), com ou sem exacerbação sazonal, dependendo principalmente dos alérgenos envolvidos no desencadeamento da crise e do meio ambiente do animal (Griffin & DeBoer, 2001; Olivry *et al.*, 2010). Cerca de 42% a 75% dos pacientes atópicos exibe, numa primeira fase, sintomatologia sazonal (Halliwell & Schwartzman, 1971; Scott, 1981 citado por Griffin & DeBoer, 2001), embora a maioria tenda a evoluir para um quadro não sazonal ou a desenvolver sintomatologia perene (Willemse, 1986). Cerca de 80% dos cães com DAC apresentam-se com formas não sazonais, carecendo de tratamento farmacológico a longo-prazo (Scott *et al.*, 2001). Todos os cães com sintomatologia perene devem ser submetidos a uma “dieta de eliminação”, com o intuito de identificar e posteriormente eliminar quaisquer alérgenos alimentares que possam estar na origem da agudização da doença alérgica (Olivry *et al.*, 2010).

Tanto no cão como no Homem, as lesões da dermatite atópica respeitam um padrão de distribuição característico (Marsella & Samuelson, 2009), embora este possa variar entre indivíduos, dependendo, provavelmente, do carácter crónico da doença e dos alérgenos envolvidos (Olivry *et al.*, 2010). As áreas tipicamente afectadas em ambas as espécies incluem as regiões periocular, perilabial, axilar, inguinal e ainda as superfícies flexora e medial dos membros (Griffin & DeBoer, 2001; Zur *et al.*, 2002a; Buggiani, Ricceri & Lotti, 2008). O focinho, os pavilhões auriculares, a região ventral do pescoço e cauda, o abdómen e as superfícies dorsal e palmar/plantar das extremidades, incluindo os espaços interdigitais, estão também frequentemente implicados (Favrot, 2009; Jager *et al.*, 2010; Olivry *et al.*, 2010). É raro o envolvimento simultâneo de todas as áreas corporais referidas, excepto nos casos mais crónicos da doença (Favrot, 2009).

Outras associações frequentes na DAC são as infecções cutâneas por bactérias ou leveduras e as otites de carácter crónico e recorrente (Favrot, 2009), as quais contribuem de forma significativa para a intensificação do prurido (DeBoer & Marsella, 2001; Griffin & DeBoer, 2001). Num estudo recente com 843 cães atópicos, 66% dos pacientes apresentavam piodermatite concomitante por *Staphylococcus* spp. e 33% dermatite a *Malassezia* spp. Metade dos animais da amostra exibia otite externa e em 43% destes a otite foi a primeira manifestação da atopia (Favrot *et al.*, 2010).

O diagnóstico da DAC baseia-se na observação de uma história típica e de sinais clínicos característicos, com eliminação subsequente de outras condições que a podem mimetizar. Estas doenças têm, habitualmente, etiologia parasitária (principalmente a escabiose e, ocasionalmente, a demodicose), infecciosa (como as piodermatites provocadas por *Staphylococcus* spp e as dermatites a *Malassezia* spp) ou têm outra origem alérgica (DAPP, CAFR). Sem que tenham sido devidamente excluídas ou controladas, não é possível estabelecer-se um diagnóstico definitivo de DAC (Olivry *et al.*, 2010).

Existe um consenso de que os testes serológicos ou intradérmicos (TID) para detecção de IgE específicas não devem ser utilizados no diagnóstico inicial da atopia (DeBoer & Hillier,

2001a; Hillier & DeBoer, 2001), na medida que muitos cães saudáveis apresentam resultados positivos às referidas provas, diminuindo de forma muito pronunciada a sua especificidade (Lian & Halliwell, 1998; Olivry *et al.*, 2010). A detecção de IgE só deve ser realizada quando se pretenda iniciar a ITAE ou evitar o contacto com os alérgenos em causa, não representando um diagnóstico definitivo (DeBoer & Hillier, 2001). Como referido anteriormente, a presença de IgE não é indispensável ao desenvolvimento da doença (pacientes ALD), pelo que o diagnóstico da DAC é fundamentalmente clínico e não laboratorial (DeBoer & Hillier, 2001; Griffin & DeBoer, 2001).

6. Tratamento

6.1. Considerações gerais

O tratamento da DAC tem sofrido alterações ao longo do tempo, variando igualmente com a região geográfica (Olivry *et al.*, 2010). Actualmente recomenda-se uma abordagem multifacetada, capaz de controlar os eventos inflamatórios e eventuais infecções secundárias (Marsella, 2012). A terapêutica deve ter em conta a individualidade de cada paciente, sendo essencial distinguir as crises agudas das lesões crónicas e os quadros localizados dos generalizados (Olivry *et al.*, 2010).

As opções terapêuticas para a DAC incluem o tratamento etiológico, como a evicção dos alérgenos e a imunoterapia alérgeno-específica (ITAE), e o tratamento sintomático com recurso a formas tópicas ou sistémicas de fármacos anti-inflamatórios e anti-pruriginosos (anti-histamínicos, glucocorticóides e inibidores da calcineurina) e o tratamento de infecções secundárias (Lourenço-Martins *et al.*, 2010).

Embora o tratamento sintomático permita controlar a doença, não possibilita a sua remissão a longo-prazo e está muitas vezes associado a efeitos secundários indesejáveis. Outras vezes o contacto com os alérgenos é inevitável ou a terapêutica farmacológica é ineficaz. Sempre que tal se verifique, será conveniente recorrer-se à ITAE, mesmo em animais com quadros sazonais de curta duração (Griffin & Hillier, 2001; Zur *et al.*, 2002; Olivry *et al.*, 2010).

6.2. Imunoterapia alérgeno-específica

6.2.1. Introdução

A ITAE baseia-se na administração de extractos alérgenos a pacientes alérgicos, de forma gradual e em doses crescentes, com vista à melhoria dos sintomas decorrentes de exposições subsequentes ao alérgeno em causa (Bousquet, Lockey & Malling, 1998). Os alérgenos são administrados em concentrações sucessivamente crescentes, até se atingir a

dose de manutenção ou a concentração máxima para aquele paciente (Griffin & Hillier, 2001) (Figura nº 5).

Os termos “dessensibilização” e “hipossensibilização”, empregados durante anos para referir esta forma de terapêutica, encontram-se hoje em desuso. Ainda que, de facto, traduzam uma diminuição ou perda de sensibilidade face a determinados alérgenos, o ACVD *task force* para a DAC considera o termo “imunoterapia específica para alérgenos” mais adequado (Griffin & Hillier, 2001)

Actualmente, um século após a sua primeira utilização (Noon, 1911 citado por Krishna & Huissoon, 2011), a ITAE é utilizada no tratamento da DAC e de diversas afecções atópicas do Homem, sendo a única forma de terapêutica específica capaz de alterar o curso natural da reacção alérgica e de prevenir o desenvolvimento de futuras sensibilizações (Griffin & Hillier, 2001; Bousquet *et al.*, 2008; Calderon *et al.*, 2012; Kovse, Zrimsek & Kotnik, 2012). Constitui-se, assim, o tratamento de eleição para a DAC, tratando-se de uma opção segura que permite uma melhoria clínica a longo prazo, mesmo após a sua interrupção, e diminui a necessidade de farmacoterapia, na generalidade dos casos praticada numa base diária (Malling, 1998; Griffin & Hillier, 2001).

A ITAE é indicada a todos os pacientes com diagnóstico de DAC, desde que tenham sido identificados os alérgenos mais relevantes à fisiopatologia da doença, seja através de provas serológicas ou de testes cutâneos (Griffin & Hillier, 2001).

Figura nº 5 – Frascos de imunoterapia alérgénio-específica (original).



6.2.2. Mecanismos imunomoduladores da ITAE

A ITAE é vulgarmente incluída no plano terapêutico da DAC, contudo, apesar das múltiplas evidências clínicas do seu efeito em cães, pouco se conhece acerca dos mecanismos imunomoduladores que lhe estão subjacentes (Shida *et al.*, 2004; Keppel *et al.*, 2008).

a) Efeitos na população de células-T

Tanto no Homem como no cão, as respostas levadas a cabo por células T podem seguir uma de duas vias: a via Th1, associada à produção de IL-2, IL-12, IL-18 e interferão-gama (IFN- γ), com consequente estimulação da imunidade celular; e a via Th2, em que há síntese de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13 e estimulação da imunidade humoral (incluindo a produção de IgE) (Halliwell, 2009)

Um dos mecanismos associados à ITAE é a inversão da proporção de células Th2/Th1, sendo vários os estudos que apontam para o desenvolvimento de uma resposta Th1 em detrimento de uma Th2 (Griffin & Hillier, 2001). Ao caracterizar o perfil de citocinas num grupo de cães atópicos submetidos a ITAE, Shida e colegas (2004) constataram um aumento dos níveis de IFN- γ , bem como do balanço IFN- γ /IL-4. Da mesma forma, Mueller e co-autores (2005) observaram uma diminuição da produção de IL-4, mas não viram os valores de IFN- γ e IL-10 alterar-se após o tratamento (Mueller, Vein, Fieseler & Dow, 2005). Adicionalmente, a ITAE é responsável pela indução de uma tolerância periférica por células T reguladoras (Treg) (Akkoc, Akdis & Akdis, 2011). Estas representam uma linhagem distinta de linfócitos T, com propriedades imunossupressoras, onde se inclui a inibição de reacções alérgicas em que há produção de IgE. As células Treg participam na manutenção da homeostase imunológica através da acção de diversas citocinas, nomeadamente a IL-10, acreditando-se que, à semelhança do Homem, também estas desempenham um papel importante na DAC (Keppel *et al.*, 2008). Num estudo recente, observou-se que o número de células Treg e a concentração de IL-10 eram substancialmente superiores em cães com DAC submetidos a ITAE do que nos respectivos controlos. Ainda, os animais cujos parâmetros mais se alteraram foram aqueles que manifestaram maiores melhorias clínicas (Keppel *et al.*, 2008).

b) Efeitos na concentração sérica de imunoglobulinas

Entre as várias hipóteses sugeridas para o mecanismo da ITAE encontra-se a subida dos níveis séricos de IgG (Shida *et al.*, 2004, Macdonald, 2006). Esta classe de anticorpos tem uma acção bloqueadora, competindo com a IgE pela ligação aos alérgenos circulantes e aos receptores específicos existentes à superfície dos mastócitos e basófilos, prevenindo,

assim, a sua desgranulação (Shida *et al.*, 2004; Loewenstein & Mueller, 2009; Akkoc *et al.*, 2011). No Homem, o incremento dos valores de IgG apresenta uma fraca correlação com a melhoria do estado clínico, mas relaciona-se positivamente com a resposta à imunoterapia (Akkoc *et al.*, 2011). Foram vários os autores que se propuseram a monitorizar este parâmetro no cão e os resultados apontam para a subida dos seus níveis plasmáticos após um período de tratamento de, pelo menos, seis meses (Hites e Kleinbeck, 1989; Fraser, Mcneil & Gettinby, 2004; Lauber *et al.*, 2012). Em nenhum destes estudos se encontrou, ou foi sugerida, uma relação entre o referido aumento e o grau de remissão clínica dos animais. Contudo, aquando da comparação da concentração de IgG total, antes e após a ITAE, em cães com uma boa resposta ao tratamento e animais com uma resposta moderada a baixa, verificou-se uma diferença significativa entre os dois grupos (Fraser *et al.*, 2004). Outros autores não detectaram este aumento, mesmo em pacientes com uma resposta favorável à imunoterapia, sugerindo que a eficácia da ITAE no cão não se encontra necessariamente associada à referida classe de anticorpos (Hou, Nuttall, Day & Hill, 2004).

Tanto no Homem como no cão, a hipossensibilização é igualmente responsável por um aumento transitório da concentração sérica de IgE, seguido do seu decréscimo gradual durante e após a interrupção do tratamento (Foster *et al.*, 2002; Jutel *et al.*, 2005; Keppel *et al.*, 2008; Akkoc *et al.*, 2011). Uma outra consequência da ITAE descrita no Homem é a subida dos níveis de IgA, a qual se opõe à resposta inflamatória (Jutel *et al.*, 2003).

c) Efeitos na reactividade da pele

Em medicina veterinária, somente um estudo se refere ao efeito da imunoterapia na reactividade da pele. Através da realização de TID a um grupo de pacientes que se encontrava a receber ITAE, não só se verificou uma diminuição da reactividade cutânea no local de inoculação, como se registaram melhorias clínicas nos animais. Contudo, a quase totalidade dos cães do grupo placebo também expressou esta diminuição (Willemse, 1994 citado por Loewenstein & Mueller, 2009).

6.2.3. Eficácia da ITAE no tratamento da DAC

A ITAE é amplamente utilizada em pessoas, tendo demonstrado ser uma opção eficaz e duradoura na prevenção da sintomatologia associada a diversas reacções de hipersensibilidade (Cox *et al.*, 2011). Com resultados bem documentados, a ITAE revelou-se benéfica no tratamento da rinite, conjuntivite e asma alérgicas no Homem, bem como na hipersensibilidade a picadas de insectos (Gehlhar, Schlaak, Becker & Bufe, 1999; Jutel *et al.*, 2005; Nelson, 2007; Bousquet *et al.*, 1998, 2008; Abramson, Puy & Weiner, 2010;

Durham *et al.*, 2010). Porém, a sua eficácia parece ser mais controversa em pacientes com dermatite atópica (Griffin & Hillier, 2001). Recentemente, Werfel e co-autores (2006) vieram mitigar essa crença, ao demonstrarem que a ITAE possibilita a redução quer dos sintomas, quer da dependência de glucocorticóides tópicos em pessoas com dermatite atópica.

No cão, os primeiros benefícios do seu uso surgem em 1941, pela mão de Wittich, e hoje a ITAE é uma prática bem estabelecida no tratamento da DAC, sendo vários os autores que atestam a sua eficácia (Park, Ohya, Yamashita, Nishifuji & Iwasaki, 2000; Hillier & Kwochka, 2002; Zur, White, Ihrke, Kass & Toebes, 2002; Mueller, Fieseler, Zabel & Rosychuk, 2004; Colombo, Hill, Shaw & Thoday, 2005; Kovse, Zrimsek & Kotnik, 2012). Na grande maioria dos trabalhos publicados, contudo, a avaliação dos seus efeitos clínicos baseou-se em critérios demasiado subjectivos, tornando a comparação entre estudos uma tarefa difícil ou mesmo impossível (Griffin & Hillier, 2001). Adicionalmente, os critérios de inclusão estabelecidos, a metodologia usada na selecção dos alérgenos ou o protocolo de administração da ITAE, entre muitos outros factores, diferem largamente entre eles (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009).

Não obstante a escassez de evidências científicas através de ensaios devidamente controlados, múltiplos estudos abertos e observações clínicas sugerem uma eficácia da ITAE entre 50% e 100% (Park *et al.*, 2000; Hillier & Kwochka, 2002; Carlotti *et al.*, 2013; Scott, 1981, Willemse, Brom & Rijnberk, 1984, Angorano & MacDonald, 1991, Scott, White & Rosychuk, 1993, Mueller & Bettenay, 1996 e Rosser, 1998 citados por Loewenstein & Mueller, 2009). Em estudos com critérios semelhantes, cuja avaliação da eficácia se fundamentou na remissão completa, na melhoria clínica ou na redução da necessidade de farmacoterapia em mais de 50%, a taxa de sucesso situou-se entre os 52% e os 77% (Zur *et al.*, 2002a; Schnabl, Bettenay, Dow & Mueller, 2006; Nesbitt, 1978, Scott *et al.*, 1993 e Willemse, 1994 citados por Loewenstein & Mueller, 2009). Contudo, na maioria destes, não se procedeu à determinação do grau de prurido ou da gravidade lesional da DAC, nem à avaliação da necessidade de farmacoterapia adicional (Loewenstein & Mueller, 2009). No único estudo prospectivo, cego e controlado, 59% dos animais apresentaram uma remissão clínica superior a 50% e uma percentagem menor atingiu a cura, embora alguns animais do grupo placebo também tenham manifestado melhorias (Willemse *et al.*, 1984 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Num outro estudo duplamente cego e aleatório, em que se comparava a eficácia entre os protocolos convencional e rápido, 45% dos cães pertencentes ao primeiro grupo e 55% dos animais do grupo da imunoterapia acelerada viram o seu prurido reduzir-se em mais de 50% e o *score* lesional regrediu em 64% dos cães de ambos os grupos (Mueller *et al.*, 2004).

Quando convenientemente prescrita, e com uma duração de tratamento adequada, a ITAE conduz a uma eficácia clínica comprovada, com segurança a longo prazo e com efeitos que persistem muito para além da interrupção do próprio tratamento (SPAIC, 2011). O ACDV

defende a sua inclusão no plano terapêutico da DAC, dados os seus potenciais benefícios e desvantagens reduzidas (Tabela nº 1) quando comparada com outras formas de tratamento (Griffin & Hillier, 2001)

Tabela nº 1 – Vantagens e desvantagens do uso da ITAE (adaptado de Griffin & Hillier, 2001).

Vantagens
<ul style="list-style-type: none">• Menor frequência de administração do que a terapêutica sintomática
<ul style="list-style-type: none">• Menor tempo e esforço requeridos, logo maior a adesão dos proprietários
<ul style="list-style-type: none">• Não há risco de efeitos secundários a longo prazo
<ul style="list-style-type: none">• Pequeno risco de efeitos secundários a curto prazo
<ul style="list-style-type: none">• Alguns cães aceitam melhor a administração subcutânea (SC) do que medicação oral
<ul style="list-style-type: none">• É o único tratamento capaz de alterar o curso natural da doença; possível cura
<ul style="list-style-type: none">• Normalmente maior custo-benefício, sobretudo em animais de grande porte
<ul style="list-style-type: none">• Tratamento preventivo
<ul style="list-style-type: none">• Não são necessárias análises de monitorização
Desvantagens
<ul style="list-style-type: none">• São dispensadas seringas e agulhas aos proprietários
<ul style="list-style-type: none">• Proprietários receiam administrar injeções SC
<ul style="list-style-type: none">• Risco de choque anafilático
<ul style="list-style-type: none">• Apenas disponível em frascos de vidro, existindo o risco de quebra
<ul style="list-style-type: none">• Alguns cães não toleram injeções
<ul style="list-style-type: none">• Necessária educação dos proprietários e acompanhamento para optimização da eficácia
<ul style="list-style-type: none">• Inicialmente mais caro, com risco de não existir retorno

6.2.4. Factores que influenciam a eficácia da ITAE

Apesar de alguns estudos referirem que a eficácia da ITAE pode ser influenciada por factores como a idade em que a doença se estabelece, a idade com que se inicia a imunoterapia ou até a duração da DAC, a maioria dos autores concluiu não existir qualquer relação entre eles (Nuttall *et al.*, 1998; Colombo *et al.*, 2005; Schnabl *et al.*, 2006; Willemsse *et al.*, 2009; Nesbitt, 1978 e Gosselin, Malo, Papageorges & Chalifoux, 1983, citados por Loewenstein & Mueller, 2009). Os relatos que referem a existência de uma resposta diminuta em cães mais velhos (Zur *et al.*, 2002a) ou em animais cuja doença tenha duração superior a 60 meses (Nuttall, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) são escassos, acreditando-se, por isso, que tanto a idade do animal como a duração da doença não sejam determinantes para o sucesso da ITAE (Loewenstein & Mueller, 2009).

Também a sazonalidade da DAC, assim como o sexo e a raça do paciente atópico têm sido implicados no desfecho da imunoterapia, embora os resultados sejam contraditórios e careçam de validação (Griffin & Hillier, 2001). Enquanto uns não encontraram relação entre

a sazonalidade da doença e a eficácia do tratamento, mas notaram uma tendência para os machos responderem mais favoravelmente do que as fêmeas (Zur *et al.*, 2002a), outros afirmam que quadros não sazonais respondem melhor à ITAE e que as fêmeas apresentam uma maior taxa de sucesso terapêutico (Nesbitt, Kedan & Caciolo, 1984 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Animais pertencentes às raças Boxer, West Highland White Terrier e Golden Retriever encontram-se descritos como menos responsivos à ITAE (Willemse, 1994 e Scott, Rosychuk & White, 1999 citados por Loewenstein & Mueller, 2009). Num estudo recente, em que o efeito da ITAE foi avaliado numa população de 205 cães atópicos com base num inquérito aos respectivos proprietários, o sexo, raça e idade do animal não tiveram qualquer influência nos resultados (Carlotti, Gribeauval, Costargent, Ganiayre & Viaud, 2013).

O número e o tipo de extractos que integram a ITAE parecem ser factores importantes (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009). Apesar de em alguns estudos não se ter verificado uma correlação entre o número de alergénios e a eficácia da terapêutica (Schnabl *et al.*, 2006; Nesbitt, 1978 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), existem relatos de que a resposta à ITAE é menor em animais tratados com uma maior quantidade de extractos (Reedy *et al.*, 1997; Zur *et al.*, 2002a; Carlotti *et al.*, 2013; Nesbitt *et al.*, 1984 e Willemse, 1994 citados por Loewenstein & Mueller, 2009;). Relativamente ao tipo de extracto, mais uma vez, as opiniões divergem (Loewenstein & Mueller, 2009). Determinados autores defendem que a resposta à ITAE tende a ser mais favorável em animais com sensibilização a pólenes (Mueller & Bettenay, 1996 e Reedy *et al.*, 1997 citados por Loewenstein & Mueller, 2009), enquanto outros não encontraram diferenças na resposta entre estes e pacientes alérgicos a ácaros (Nuttall, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Existem ainda relatos de que a ITAE para fungos se encontra associada a uma menor taxa de sucesso terapêutico (Carlotti *et al.*, 2013).

Apesar dos muitos factores que podem influenciar a eficácia da ITAE, como referido, a generalidade dos resultados foi interpretada com base em meras observações, sendo necessários estudos devidamente controlados para confirmar o seu real efeito sobre a eficácia da ITAE (Loewenstein & Mueller, 2009).

6.2.5. Protocolos de administração

O intervalo ideal entre administrações, quer para a fase de indução quer para a de manutenção, não se encontra ainda estabelecido e pode variar de acordo com a resposta do paciente (Loewenstein & Mueller, 2009). Têm sido sugeridos protocolos de indução com administrações espaçadas de 2 a 7 dias e protocolos de manutenção com intervalos de tratamento entre 5 e 20 dias (Scott *et al.*, 2001; Reedy, 1979 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Outros estudos propõem que as injeções de manutenção distem 3

semanas a 5 meses entre si (Willemse, 1994 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), ou sejam administradas a cada 1 ou 12 meses (Scott, 1981 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Existem ainda autores que defendem que a frequência de administração e a dose do extracto devem ser ajustadas de acordo com as necessidades de cada paciente, com vista à optimização do tratamento (Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). A tabela nº 2 ilustra o protocolo de imunoterapia adoptado pelo serviço de Imunoalergologia do Hospital Escolar da FMV.

Em medicina veterinária, além dos sistemas ditos convencionais, existem várias alusões a protocolos rápidos ou acelerados (ITAE *rush*, ITAEr) que resultaram numa resposta clínica favorável (Mueller & Bettenay, 2001; Mueller *et al.*, 2004). Enquanto na ITAE convencional a fase de indução implica a administração semanal de doses crescentes do alergénio, durante um período de tempo variável, até que seja alcançada a concentração de manutenção, na ITAEr procede-se a administrações sucessivas num só dia, sendo possível atingir-se a dose de manutenção logo após algumas horas de tratamento. Esta resulta em benefícios mais precoces, contudo está associada a um risco acrescido de reacções adversas (SPAIC, 2011), obrigando à interrupção do tratamento em 23% dos casos (Mueller & Bettenay, 2001).

Tabela nº 2 – Protocolo de administração de ITAE

Protocolo para Tratamento de Indução

Semana	Data	Observações	Frasco 1 (verde)	Frasco 2 (amarelo)	Frasco 3 (vermelho)
0			0.1 mL		
1			0.2 mL		
2			0.3 mL		
3			0.4 mL		
5				0.2 mL	
7				0.4 mL	
9				0.8 mL	
12					0.2 mL
15					0.4 mL
18					0.8 mL
21					0.8 mL
25					
*solicitar tratamento de manutenção					
29					

Tabela nº 2 (continuação) – Protocolo de administração de ITAE

Protocolo para Tratamento de Manutenção

Semana	Data	Observações	Frasco 1 (vial verde)	Frasco 2 (vial amarelo)	Frasco 3 (vial vermelho)
0					0.8 mL
4					0.8 mL
8					0.8 mL
12					0.8 mL
16					0.8 mL
20					0.8 mL
24					0.8 mL
28					0.8 mL
32					0.8 mL

6.2.6. Formulação

a) Selecção de alergénios

Porque a resposta à ITAE no cão parece ser alergénio-específica (Anderson & Sousa, 1993 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), é importante que o tratamento seja ajustado a cada doente de acordo com as suas sensibilizações. Num estudo duplamente cego, um grupo cães submetido a ITAE com uma mistura de alergénios inespecífica revelou melhorias clínicas de cerca de 18%, enquanto a taxa de remissão nos pacientes cuja imunoterapia tinha sido formulada com base nos respectivos TID atingiu os 70% (Anderson & Sousa, 1993 citado por Loewenstein & Mueller, 2009).

A selecção dos componentes que integram a ITAE deve basear-se na apreciação cuidadosa da história do paciente, correlacionando-a com as possíveis exposições ambientais e com as reacções positivas obtidas nos testes cutâneos ou nas provas serológicas (Lian & Halliwell, 1998; Griffin & Hillier, 2001; Scott *et al.*, 2001; Mueller & Jackson, 2003). O facto de o tratamento incluir apenas os alergénios clinicamente relevantes é determinante na obtenção de melhores resultados terapêuticos (Griffin & Hillier, 2001). Willemse e colegas (2009) testaram o efeito da imunoterapia para *Dermatophagoides farinae* (Df) em cães hipersensíveis a este e a outros aeroalergénios, não tendo verificado melhorias clínicas nos animais.

O MV responsável pela formulação da ITAE deve ter em consideração a distribuição local dos alergénios e o momento das polinizações (Mueller & Jackson, 2003). Ponderar as reacções cruzadas existentes entre alguns alergénios e o efeito que estes têm quando combinados pode ser útil no momento de elegê-los (Scott *et al.*, 2001). Todos estes aspectos são fundamentais para assegurar um melhor resultado clínico da ITAE.

Tanto as provas cutâneas como as serológicas são adequadas à detecção de IgE específicas, produzindo respostas semelhantes à ITAE (Park *et al.*, 2000; Zur *et al.*, 2002a;

Schnabl *et al.*, 2006; Anderson & Sousa, 1993 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). A combinação dos referidos testes pode, eventualmente, aumentar a eficácia terapêutica (Loewenstein & Mueller, 2009).

b) Número de alergénios

Como referido anteriormente, não existe em medicina veterinária um consenso acerca do número ideal de alergénios para a ITAE no cão. Alguns autores referem melhores resultados com 10 ou menos alergénios, outros defendem que a eficácia é superior quando o tratamento inclui entre 11 a 20, e estudos mais recentes afirmam não existir relação entre a eficácia da ITAE e o número de alergénios administrados (Schnabl *et al.*, 2006; Scott, 1981, Angorano & MacDonald, 1991 e Nuttall, 1998 citados por Loewenstein & Mueller, 2009). Assim, por convenção ou hábito, a generalidade dos protocolos integra 10-12 alergénios a cada administração (Hillier, 2002).

Considerando a “teoria do limiar” para o desenvolvimento da DAC, a inclusão de um grande número de alergénios pode não ser relevante para o sucesso da ITAE. Segundo esta, é expectável que animais com múltiplas sensibilizações apresentem resultados favoráveis à ITAE desde que os alergénios com maior relevância clínica tenham sido incluídos na terapêutica. Porém, podem existir outros mecanismos que expliquem as respostas favoráveis quando são considerados apenas alguns dos alergénios na formulação da ITAE (Griffin & Hillier, 2001).

c) Mistura de alergénios

No Homem, a ITAE inclui preferencialmente um único alergénio ou uma mistura de alergénios com reactividade cruzada (misturas de pólenes de gramíneas/árvores/plantas ou espécies de ácaros relacionadas). Podem ser igualmente usadas misturas de grupos alergénicos distintos, desde que a sua estabilidade seja conhecida (Bousquet *et al.*, 1998).

Aquando da mistura de extractos, duas situações podem ocorrer: quer uma diluição excessiva com conseqüente suboptimização da dose e uma rápida deterioração dos alergénios; quer uma perda da alergenicidade resultante da actividade enzimática de determinados extractos (Griffin & Hillier, 2001).

Quando acondicionados no mesmo recipiente, as proteases dos fungos são capazes de degradar os antigénios polínicos e, embora as conseqüências clínicas deste fenómeno sejam controversas (Loewenstein & Mueller, 2009), um estudo sugere uma maior eficácia da ITAE quando os antigénios de fungos são armazenados em separado (Schnabl *et al.*, 2006). Uma vez que a generalidade dos cães é sensível a mais do que um alergénio, a ITAE é frequentemente composta por uma mistura de extractos (Griffin & Hillier, 2001).

Adicionalmente, a maioria dos laboratórios continua a elaborar misturas onde pólenes e fungos são agrupados (Loewenstein & Mueller, 2009). É por isso necessário confirmar a importância da separação destes alergénios na medicina veterinária (Loewenstein & Mueller, 2009) e desenvolver estudos no sentido de avaliar a estabilidade de misturas contendo alergénios distintos na eficácia da ITAE (Griffin & Hillier, 2001).

d) Dose de alergénios

Contrariamente ao que sucede no Homem, a dose terapêutica óptima para a ITAE no cão não se encontra estabelecida (Bousquet *et al.*, 1998; Griffin & Hillier, 2001). Não só os estudos e ensaios referentes à ITAE se expressam em unidades de concentração absolutamente distintas, como muitos deles raramente especificam a concentração absoluta dos vários componentes na mistura final. Adicionalmente, não se encontram disponíveis extractos padronizados para utilização em medicina veterinária, o que dificulta em muito a comparação de resultados (Loewenstein & Mueller, 2009).

Assim, por convenção, recomenda-se uma concentração total de iniciação de 200 a 2000 PNU¹/mL e uma dose de manutenção entre 10000 a 20000 PNU/mL (Hillier, 2002; Mueller & Jackson, 2003). Existem, contudo, diversos estudos comparativos entre a ITAE com doses convencionais e protocolos contendo doses mais baixas ou mais altas de alergénios (Scott *et al.*, 2001; Colombo *et al.*, 2005; Schnabl *et al.*, 2006; Wagner, 1998 e Griffin & Marignac, 2005 citados por Loewenstein & Mueller, 2009), onde alguns autores referem a necessidade de diminuir a concentração dos extractos em animais mais pequenos (Scott *et al.*, 2001) e onde a eficácia de protocolos com doses reduzidas foi demonstrada (Wagner, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Num destes ensaios, a ITAE com doses baixas (1/10 da dose padrão) revelou ser tão eficaz quanto o protocolo convencional, não tendo sido detectadas diferenças significativas entre os dois grupos (Colombo *et al.*, 2005).

6.2.7. Vias de administração

Em medicina veterinária, a imunoterapia é vulgarmente administrada por via subcutânea (SC) (Loewenstein & Mueller, 2009). Embora a administração oral seja capaz de induzir uma tolerância em animais com sensibilização para a ovalbumina (Deplazes, Penhale, Greene & Thompson, 1995), não existem, ainda, protocolos estabelecidos para a sua utilização no cão (Marsella, 2010). Um estudo recente mostra que imunoterapia oral é bem tolerada em cães atópicos, no entanto, após 7 meses de tratamento, não foram notadas melhorias clínicas significativas nem alterações nos níveis séricos de IgE específicas (Marsella, 2010).

¹ *Protein nitrogen unit*

No Homem, a ITAE sublingual é um método seguro, sendo aplicada no tratamento de diversas formas de hipersensibilidade, desde a alergia alimentar à dermatite atópica (Incorvaia *et al.*, 2009). A sua eficácia, porém, parece ser inferior à da ITAE SC e o seu mecanismo de acção encontra-se menos esclarecido (Akkoc *et al.*, 2011).

Ainda que maioria dos donos se sinta confortável com a administração SC, quer sejam os próprios ou o MV a realizá-la, em determinadas circunstâncias esta pode tornar-se um desafio, influenciando negativamente a adesão à terapêutica. A administração oral poderia aumentar a aceitação dos proprietários, que muitas vezes são desencorajados a continuar a ITAE devido à obrigatoriedade de deslocações regulares aos Centros de Atendimento Médico Veterinário ou pelo facto de submeterem regularmente o seu animal a injeções (Marsella, 2010).

6.2.8. Resposta do paciente

Independentemente do sistema escolhido há quem sugira que o protocolo deva ser alterado em função da resposta do paciente, de forma a otimizar a eficácia do tratamento. Deste modo, com alguma frequência, pode ser necessário proceder-se a alterações no que respeita à frequência de administração ou à quantidade de alérgenos administrada (Rosser, 1999; Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009).

Nos pacientes em que os sinais clínicos persistem, a concentração do extracto deve ser diminuída. Caso a modificação leve à resolução do prurido, a ITAE deve ser continuada sem mais alterações. Nos casos em que se verifique uma diminuição parcial dos sinais, a concentração do extracto deve ser sucessivamente reduzida até à remissão dos sintomas (Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Se após esta redução se verificar uma intensificação do prurido, as doses subsequentes devem ser aumentadas (Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Sempre que se proceda a alterações na concentração das injeções, os pacientes devem ser reavaliados após 7-14 dias (Rosser, 1999).

Quando se observa uma reacção adversa antes de se atingir a concentração de manutenção, deve ser feita de imediato uma alteração ao protocolo, diminuindo-se em 50% a concentração da injeção seguinte e reavaliando a resposta a esta modificação passados 2 dias. A ITAE só deve ser continuada no caso da gravidade da reacção adversa diminuir, pelo menos, 50% com a primeira injeção após a modificação do protocolo e se nas administrações seguintes não voltarem a ocorrer reacções adversas graves (Rosser, 1999).

No momento em que o paciente se encontra em remissão, sendo as administrações de ITAE o único tratamento necessário para controlar a sintomatologia da DA_c, as administrações deve ser lentamente espaçadas, até se verificar um pequeno grau de

prurido, ou até se atingir um intervalo de 2 meses entre administrações. Este intervalo deve ser mantido durante um ano inteiro, sem que recorram os sinais clínicos. Findos os 12 meses o proprietário poderá optar por continuar as injeções por tempo indeterminado ou tentar suspendê-las (Mueller & Jackson, 2003).

Tabela nº 3 – Alterações ao protocolo de ITAE consoante a resposta do paciente (adaptado de Bio-Medical Services, 2009)

Observações	Recomendações
As administrações são feitas a cada 30 dias, mas o animal exibe prurido antes da injeção	Reduzir o intervalo entre administrações (por exemplo, para cada 14-20 dias)
O animal exibe prurido nas 24 horas que se seguem à injeção	Reduzir a dose em 25%-50%, aumentando-a lentamente até ser tolerada pelo animal
O animal coça-se após a administração; o prurido resolve-se em 24h, mas reaparece passados 5 dias	Reduzir a dose em 25%-50% e aumentar a frequência de administração para cada 5 dias
O animal tolera as injeções, mas não se verificam melhorias clínicas	Aumentar a dose / frequência de administração; Iniciar novo protocolo com outros alérgenos que não tenham sido incluídos; Verificar se existe doença concomitante ou outras sensibilizações

6.2.9. Tempo até se verificar a eficácia do tratamento

A duração total da ITAE no cão, bem como o tempo necessário à observação do benefício clínico máximo não foram ainda definidos, apesar de serem considerados aspectos importantes no que respeita ao bem-estar do paciente e à adesão do tratamento por parte do proprietário (Loewenstein & Mueller, 2009).

É possível que só se note uma melhoria clínica significativa após várias semanas ou mesmo meses de tratamento, sendo muitas vezes necessário manter a terapêutica sintomática paralelamente à ITAE (Mueller & Jackson, 2003).

Alguns autores mencionam melhorias clínicas após 2 a 5 meses de tratamento (Schnabl *et al.*, 2006; Scott, 1981 e Gosselin *et al.*, 1983 citados por Loewenstein & Mueller, 2009) enquanto outros dizem ser necessários 6 a 9 meses de ITAE (Zur *et al.*, 2002a; Kovse *et al.*, 2012; Willemse *et al.*, 1984, DeBoer, 1989 e Scott *et al.*, 1993 citados por Loewenstein & Mueller, 2009).

Willemse (1994) (citado por Loewenstein & Mueller, 2009) defende que a resposta à imunoterapia deve ser avaliada ao fim de 9 meses, visto ser pouco provável que cães que não responderam ao tratamento o façam passado esse período. Contudo, existem relatos de animais cujos benefícios apenas se fizeram notar passados mais de 8 meses de ITAE (Scott *et al.*, 1993 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) e há quem afirme ser necessário continuá-la pelo menos durante 1 ano (Hillier, 2002).

Num estudo duplamente cego, onde a ITAE convencional e *rush* foram comparadas, o tempo necessário à observação do benefício clínico máximo foi de 9.2 e 6.8 meses, respectivamente, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa (Mueller *et al.*, 2005).

A ideia de que a ITAE na DAc deve ser continuada para o resto da vida do paciente não é consensual. Porém, porque os seus benefícios clínicos não são imediatos, e para que se possa proceder à avaliação adequada da sua eficácia, aconselha-se mantê-la durante um período mínimo de 12 meses (Olivry *et al.*, 2010).

6.2.10. Duração da eficácia

A eficácia a longo-prazo da ITAE em cães permanece desconhecida (Loewenstein & Mueller, 2009). Múltiplos estudos abertos, com tempos de reavaliação distintos, mostraram benefícios clínicos sustentáveis após a interrupção do tratamento em 23% a 35% (Power, 2000), 12% (Griffin & Rosenkrantz, 1991 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), 6% (Park *et al.*, 2000) e 4% (Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) dos pacientes. Determinados autores admitem que a ITAE pode ser um tratamento vitalício, embora seja possível a remissão completa dos sinais (Hillier, 2002; Griffin & Hillier, 2001).

6.2.11. Reacções adversas

As reacções adversas podem ser classificadas em locais ou sistémicas, consoante se restrinjam ao local de inoculação ou produzam um efeito generalizado. Enquanto as primeiras se fazem representar por eritema, prurido e tumefacção, as reacções sistémicas caracterizam-se por anafilaxia e podem pôr em risco a vida do paciente (Akkoc *et al.*, 2011). No cão, a reacção adversa mais comum é a intensificação do prurido após o aumento da dose de imunoterapia, devendo-se considerar que a dose máxima para determinado animal foi excedida sempre que o seu estado clínico se deteriore (Loewenstein & Mueller, 2009). Nestas circunstâncias, o ajustamento adequado da dose conduz a uma maior taxa de sucesso (Rooser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009).

As reacções no local de inoculação, como a dor e o edema, podem ocorrer, mas são raras e normalmente não obrigam à modificação do protocolo (Power, 2000; Rosser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009). Por sua vez, as reacções sistémicas atingem cerca de 1% dos pacientes (Angorano & MacDonald, 1991 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) e incluem fraqueza, depressão, ansiedade, hiperactividade, taquipneia, diarreia, vómito e angioedema (Reedy *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2001; Griffin, 1998 e Rosser, 1998, citados por Loewenstein & Mueller, 2009).

No que se refere à ITAE convencional, a incidência de reacções adversas pode variar entre 5% (Angorano & MacDonald, 1991 citado por Loewenstein & Mueller, 2009) e 50% (Rooser, 1998 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), embora nestes estudos não tenha sido permitido o uso de medicação anti-pruriginosa ou anti-inflamatória adicional (Loewenstein & Mueller, 2009).

A ITAEr encontra-se associada a uma maior risco de reacções adversas, como a intensificação do prurido ou a urticária, mas estas nem sempre se verificam (Mueller *et al.*, 2005; Mueller & Bettenay, 2001). Por isso, a terapêutica deve ser sempre realizada em ambientes que disponham de instalações e equipamentos que permitam a identificação e tratamento imediatos das referidas situações, particularmente a anafilaxia (Loewenstein & Mueller, 2009; SPAIC, 2011)

De um modo geral, este tipo de reacções é raro e não existem relatos de contra-indicações a longo-prazo no que diz respeito ao uso da ITAE em canídeos (Griffin & Hillier, 2001).

6.2.12. Efeitos de medicação concomitante

Os efeitos da corticoterapia concomitante em cães que se encontram a receber ITAE não foram ainda avaliados, contudo poderão ter repercussões consideráveis na eficácia do tratamento (Loewenstein & Mueller, 2009). A utilização de GC em doses baixas ou a sua administração em dias alternados parecem não influenciar a eficácia da ITAE (Scott *et al.*, 2001; Scott, 1981 citado por Loewenstein & Mueller, 2009), embora alguns autores desaconselhem o seu uso durante a fase de indução (Bousquet *et al.*, 1998; Carlotti *et al.*, 2013). Para além de conduzirem à supressão de mecanismos imunomoduladores desejáveis, poderão mascarar os benefícios clínicos que advêm da ITAE, assim como eventuais reacções adversas que implicariam uma alteração do protocolo (Loewenstein & Mueller, 2009).

Por sua vez, a administração de ciclosporina parece não inibir a reactividade cutânea em cães quando administrada numa dose de 5 mg/Kg, uma vez por dia, durante 4 semanas (Goldman, Rosser, Petersen & Hauptman, 2010), mas não existem estudos acerca do seu efeito a longo-prazo na ITAE em cães (Loewenstein & Mueller, 2009).

Dado o risco de ocorrência de reacções sistémicas graves, em medicina humana é frequente recorrer-se à pré-medicação em regimes de imunoterapia acelerada, procedendo-se à administração de GC, anti-histamínicos, antagonistas dos leucotrienos ou de combinações entre eles (Cox *et al.*, 2011). À excepção dos inibidores dos leucotrienos, canídeos e felídeos têm sido pré-medicados com fármacos semelhantes (Power, 2000; Trimmer, Griffin, Boord & Rosenkrant, 2005).

6.2.13. Reavaliação dos pacientes

Diversos autores defendem que o acompanhamento do paciente é determinante para o sucesso da ITAE, sendo muitas vezes um factor desvalorizado (Reedy *et al.*, 1997; Griffin & Hillier, 2001; Scott *et al.*, 2001). De facto, a monitorização da resposta individual de cada animal poderá ser essencial para a optimização da eficácia do tratamento pelas seguintes razões: muitos dos extractos utilizados não são padronizados e a sua actividade biológica pode sofrer alterações; existe uma grande variabilidade de peso e tamanho entre pacientes; podem ser necessários meses ou anos até que se observem melhorias clínicas; a ITAE pode despoletar crises de DAc; e muitos animais manifestam apenas melhorias temporárias (Griffin & Hillier, 2001).

Não só a DAc é uma doença complexa, na qual a sintomatologia pode ser desencadeada por inúmeros factores, como os animais podem ser atingidos por outras doenças que habitualmente coexistem com a dermatite atópica. O acompanhamento regular pelo MV é crucial para a identificação e tratamento dessas situações, contribuindo significativamente para o êxito da ITAE (Griffin & Hillier, 2001).

IV. A Conjuntivite Alérgica

1. Introdução

Devido à inexistência de uma barreira mecânica, o olho encontra-se exposto a uma grande diversidade de alérgenos, sendo um local privilegiado de ocorrência de múltiplas reacções alérgicas (Morales, Duran, Delgado & Hernández, 2008).

O termo “conjuntivite alérgica” (CA) designa um conjunto de doenças que afecta as pálpebras, a conjuntiva e/ou a córnea e inclui diversas entidades clínicas (Leonardi, Motterle & Bortolotti, 2008). A doença varia entre formas leves que, mesmo assim, podem diminuir significativamente a qualidade de vida do paciente, e formas graves que, em situações mais extremas, podem levar ao comprometimento da visão (Singh, Axelrod & Bielory, 2010; Leonardi, 2013). As diversas entidades incluídas na classificação requerem um diagnóstico diferencial que, sendo habitualmente clínico, pode ser substanciado por testes laboratoriais (Leonardi *et al.*, 2012).

Dadas as suas particularidades anatómicas e histológicas, o olho é sede comum de eventos inflamatórios provocados por reacções de hipersensibilidade locais e sistémicas. A CA resulta da exposição directa da mucosa ocular ao ambiente e é a reacção de hipersensibilidade mais frequente do olho (Bielory, 2000). No Homem, enquanto doença alérgica localizada, surge frequentemente associada a rinite (rinoconjuntivite ou conjuntivorinite, consoante os sinais mais preponderantes); no entanto é possível que a CA seja a única manifestação da alergia ou, se não isso, a mais prevalente (Núñez & Cuesta, 2000; Bielory, 2000, 2008; Leonardi, 2013). De facto, a exposição a aeroalérgenos (pólenes, ácaros ou epitélios de animais) encontra-se associada a uma predominância de sintomas oculares relativamente aos nasais, da mesma forma que pacientes com manifestações oculares apresentam maior reactividade cutânea aos TID (Sánchez *et al.*, 2011).

Há muito que a ligação entre a CA e a rinite se encontra estabelecida (Hom & Bielory, 2013). A conjuntiva representa a extremidade superior do aparelho respiratório, comunicando com a cavidade nasal através do ducto nasolacrimal (Ono & Abelson, 2005; Hom & Bielory, 2013). Independentemente da via de exposição ser a nasal ou a ocular, esta ligação possibilita a ocorrência de uma reacção inflamatória em ambos os locais, explicando assim a coexistência das duas formas de sintomatologia (Bielory, 2010). Associada à referida comunicação anatómica encontra-se o chamado reflexo nasal-ocular através do qual actuam diversos neuromediadores e se verifica a ocorrência de sinais oculares sem tenha havido exposição ou agressão directa da conjuntiva, mas apenas estimulação da mucosa nasal (Sánchez *et al.*, 2011). A inervação e a vascularização sanguínea e linfática são outras das vias que proporcionam a comunicação entre os dois sistemas (Hom & Bielory, 2013).

Por esta razão, a integração da CA no conceito “uma via aérea, uma doença” (“*one airway, one disease*”) tem sido debatida, uma vez que os sinais oculares surgem muitas vezes em combinação não só com a rinite mas também com a asma (Riedi & Rosário, 2009; Hom & Bielory, 2013).

Hoje, e cada vez mais, a CA tende a ser reconhecida como uma entidade clínica distinta, representando, por si só, um fardo na vida do paciente (Bielory, 2010; Sánchez *et al.*, 2011). Este é, contudo, um tema rara vez abordado em medicina veterinária e, por isso, pouco se conhece acerca da alergia ocular no cão. As semelhanças entre a doença no cão e no Homem poderão vir a revelar-se úteis à constituição de um modelo animal para o estudo da CA em pessoas (Lourenço-Martins *et al.*, 2011).

2. Incidência e prevalência

As afecções alérgicas ocupam a 5ª posição na lista das doenças crónicas mais frequentes no mundo. No entanto, a prevalência das alergias oculares tem sido pouco explorada pela comunidade científica (Riedi & Rosário, 2009; Singh *et al.*, 2010). Um estudo recente desenvolvido nos Estados Unidos da América estima que a CA atinja 40% da população e que 6% dos habitantes exhibe exclusivamente sintomatologia ocular (Singh *et al.*, 2010).

De acordo com vários especialistas, a CA é pouco valorizada em relação às outras manifestações alérgicas no Homem, sendo frequentemente subdiagnosticada (Williams, Edney, Maiden & Smith, 2013; Bielory, 2010; Leonardi *et al.*, 2008). Mesmo em estudos internacionais, a oportunidade de investigar a sua prevalência é muitas vezes desperdiçada, indagando-se os pacientes acerca de manifestações oculares enquanto associadas a rinite ou a outras formas de atopia, mas esquecendo questões relativas à alergia ocular em particular (Riedi & Rosário, 2009).

Praticamente não existem publicações sobre a CA no cão. Mesmo em livros da especialidade não lhe são dedicadas mais do que algumas linhas, o que leva a crer que também na medicina veterinária esta é uma doença menosprezada, ou então desconhecida (Lourenço-Martins, 2010). Não há muito tempo, o ACVD desvalorizava as manifestações não dermatológicas (como a rinite e a conjuntivite) em pacientes com DAc, descrevendo-as como pouco frequentes ou inconstantes na sua ocorrência (Griffin & DeBoer, 2001). Para além da sua prevalência altamente variável, segundo a *task force* para a DAc, muitos destes sinais foram referidos em “relatos anedóticos”, necessitando, por isso, de ser confirmados. Não obstante, os autores ressalvam a possibilidade de se encontrarem subdiagnosticados, na medida que o prurido cutâneo é tido como a manifestação mais característica da DAc, sendo o sinal mais valorizado no momento do diagnóstico (Griffin & DeBoer, 2001).

Curiosamente, os primeiros relatos de DAc causaram tanta estranheza quanto admiração dada a intensidade das manifestações não dermatológicas (Griffin & DeBoer, 2001). Em 1941, Wittich descreve o primeiro caso bem documentado de DAc, referindo um paciente com sintomatologia perene, devida a uma suposta alergia alimentar, com exacerbações sazonais, justificadas, segundo o autor, por uma polinose. O cão exibia “espirros, lacrimejamento, hiperémia conjuntival e corrimento nasal”, associados a prurido intenso generalizado. Anos mais tarde, Patterson (1960) relatava um caso semelhante no qual a conjuntivite e o prurido eram novamente preponderantes. Diversos autores dedicaram-se ao estudo da prevalência da CA na DAc, concluindo que esta estaria presente entre 29% a 50% dos pacientes atópicos (Scott, 1981; Willemse & van den Brom, 1983 e Willemse, 1984 citados por Griffin & DeBoer, 2001).

Das descrições iniciais de casos clínicos, ficou claro que a atopia no cão se pode manifestar através de dermatite, rinite, conjuntivite e até mesmo asma, apesar da última só ocorrer aquando da exposição a alergénios em concentrações muito elevadas (Griffin & DeBoer, 2001). Embora a conjuntivite fosse considerada uma co-morbidade usual na DAc, chegando mesmo a integrar a lista de critérios (secundários) para o seu diagnóstico (Willemse, 1986), hoje parece ter caído no esquecimento, sendo poucos os estudos que a referem.

O trabalho desenvolvido por Lourenço-Martins e colaboradores (2011) constitui uma agradável excepção. Ao submeterem a mesma população de 60 cães com DAc a uma avaliação cega e independente pelos serviços de oftalmologia e dermatologia, verificou-se uma grande discrepância nas prevalências obtidas. Enquanto o serviço de oftalmologia referiu a coexistência de CA em 60% dos casos de DAc, o serviço de dermatologia conclui existir envolvimento ocular em apenas 17% dos animais. Não só constataram que a prevalência da CA na dermatite atópica é superior à mencionada na literatura, como demonstraram que a formação individual dos MV é um factor preponderante no diagnóstico da afecção. Pondo isto, e uma vez que os pacientes são maioritariamente assistidos por MV generalistas ou dermatologistas, e raramente por oftalmologistas, é expectável que os sinais oculares na DAc sejam pouco diagnosticados (Lourenço-Martins *et al.*, 2011). Adicionalmente, os sinais relativos à alergia ocular podem ser difíceis de interpretar, sendo o prurido ocular facilmente confundido com o prurido auricular, labial, do focinho ou de qualquer outra região da cabeça (Lourenço-Martins *et al.*, 2011).

Outros autores encontraram prevalências mais baixas, mas igualmente alarmantes. Num estudo recente, no qual foram avaliados sistematicamente vários sinais clínicos de DAc num grupo de 843 pacientes atópicos, 22% da amostra apresentava sinais compatíveis com CA sazonal e em 4% dos animais a DAc encontrava-se associada a rinite. Verificou-se ainda um maior envolvimento ocular nos pacientes cuja atopia não tinha origem alimentar (Favrot *et al.*, 2010).

Na medida que o envolvimento dermatológico tende a ser o predominante e o que mais carece de atenção, as manifestações oculares podem muitas vezes ser desvalorizadas ou passar despercebidas (Lourenço-Martins *et al.*, 2011). O estudo levado a cabo por Marsella e co-autores (2006), com animais sensibilizados para ácaros domésticos, é um bom exemplo disso. Após terem sido submetidos a um teste de provocação (ambiental, oral e cutâneo), todos os cães desenvolveram eritema periocular, independentemente da via de exposição. Adicionalmente, 2 em 6 animais (um terço da amostra) apresentaram conjuntivite, mas essa prevalência não foi minimamente valorizada pelos autores.

3. A conjuntiva

À parte da conjuntiva, da córnea e do filme lacrimal, que formam a superfície ocular e são as principais estruturas envolvidas na CA (Hom & Bielory, 2013), o olho é composto por outros 3 constituintes frequentemente implicados em processos imunológicos: a esclera, a úvea e a retina (Bielory, 2000).

A conjuntiva é uma fina membrana mucosa que se estende do limbo até à margem palpebral do olho (Bielory & Friedlaender, 2008). Reveste internamente as pálpebras superior e inferior (conjuntiva palpebral), a totalidade da terceira pálpebra (conjuntiva nictitante), bem como a superfície anterior da esclera (conjuntiva bulbar) (Crispin, 2002). A porção compreendida entre a conjuntiva bulbar e a palpebral corresponde ao fórnix ou saco conjuntival (Bielory & Friedlaender, 2008). Em termos histológicos é constituída por um epitélio estratificado, sob o qual se encontra uma substância própria de tecido conjuntivo laxo (Bielory & Friedlaender, 2008).

À semelhança da mucosa nasal, a conjuntiva é um tecido imunologicamente activo com características únicas (Isaacson & Wright, 1984; Bielory, 2000). Representa a barreira ocular primária e protege o olho de inúmeros alérgenos ambientais, agentes químicos e infecciosos (Buckley, 1998; Bielory, 2000; Santacruz, Perez-Tapia, Nava-Castañeda, Estrada-Parra & Jimenez-Martinez, 2013). Como tal, e uma vez que se trata da mucosa mais exposta do organismo, encontra-se provida de instrumentos imunológicos que interagem prontamente com os antígenos agressores (Bielory, 2000). Não tendo linfonodos, possui uma extensa vascularização sanguínea e linfática e uma grande riqueza em células imunológicas (Bielory, 2000; Peña & Leiva, 2008). As pálpebras e conjuntiva bulbar são especialmente ricas em mastócitos, havendo também capacidade para a síntese local de IgE (Bogacka *et al.*, 2008). O epitélio ocular normal não apresenta células inflamatórias. Mastócitos, eosinófilos e basófilos são habitualmente encontrados na substância própria, sob a junção epitelial, e destas somente os mastócitos se constituem células residentes. As restantes migram para o tecido em resposta a diversos estímulos

(Bielory, 2000). A substância própria alberga ainda glândulas mucosas, os vasos sanguíneos e linfáticos que irrigam a conjuntiva, linfócitos, CL e macrófagos (Bogacka *et al.*, 2008).

O filme lacrimal que reveste a superfície da conjuntiva contribui para a sua acção protectora, sendo constituído por uma camada lipídica externa, uma aquosa média e uma camada mucoproteica interna. A mucina, um dos seus elementos, é produzida por células caliciformes que se distribuem ao longo da superfície conjuntival, participando na manutenção de uma superfície húmida e hidrofóbica (Bielory, 2000). A porção aquosa, por sua vez, contém uma grande variedade de solutos, entre os quais lisozima, histamina, triptase e diversas imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM e IgE) (Bielory, 2000). O comprometimento da sua função, quer pela produção insuficiente de lágrima quer pela sua fraca qualidade, reflecte-se clinicamente na queratoconjuntivite seca (“olho seco”). Esta doença ocasiona prurido e pode associar-se ou potenciar o desenvolvimento de CA com eventual envolvimento corneal (Morales *et al.*, 2008; Cronau, Kankanala & Mauger, 2010; Hom & Bielory, 2013).

4. Fisiopatologia

A CA envolve reacções mediadas por IgE, reacções mediadas por linfócitos T ou ambas, tratando-se de uma resposta adaptativa que visa combater os alérgenos invasores da superfície ocular (Chigbu, 2009).

Enquanto as formas agudas da doença se caracterizam por uma hipersensibilidade imediata mediada por IgE, com desgranulação de mastócitos e uma migração celular reduzida, a CA crónica encontra-se associada a uma resposta tardia, que envolve a activação persistente de mastócitos, de linfócitos Th2 e o recrutamento de eosinófilos para a conjuntiva (Chigbu, 2009; Delgado & Palmares, 2011). No animal sensibilizado para alérgenos ambientais, a activação dos mastócitos pela IgE e a sua consequente desgranulação originam a libertação de mediadores inflamatórios e factores quimiotáticos, bem como a activação de cascatas enzimáticas necessárias à síntese de substâncias pró-inflamatórias. Caso a doença se prolongue, estes eventos são seguidos de uma resposta inflamatória crónica onde, entre outras células, predominam eosinófilos, ocorre a produção de citocinas Th2 e se verifica uma hiper-reatividade da mucosa conjuntival que se pode manter até 24 horas após a exposição ao alérgeno (Bacon *et al.*, 2000; Chigbu, 2009).

A hipersensibilidade subjacente à alergia ocular desenvolve-se em 3 fases: fase de sensibilização, fase precoce e fase tardia (Morales *et al.*, 2008; Chigbu, 2009).

A sensibilização ocorre numa exposição inicial ao alérgeno e não produz manifestações clínicas. Tem início com a captura e processamento dos alérgenos por APC,

nomeadamente por CL, presentes em grandes quantidades no limbo e conjuntiva oculares. Estas são as principais responsáveis pela apresentação de antígenos aos linfócitos T CD4+ e pela sua posterior diferenciação em linfócitos Th2. Aquando da interacção entre células Th2 e linfócitos B, os primeiros libertam citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13), promovendo a diferenciação em plasmócitos e a produção de IgE específicas pelos últimos. O processo de sensibilização termina com a ligação destes anticorpos a receptores de alta afinidade para a IgE existentes à superfície de mastócitos e basófilos, preparando-os para uma futura exposição (Chigbu, 2009).

Quando um olho sensibilizado sofre nova exposição, a ligação do alérgeno aos mastócitos previamente sinalizados pela IgE provoca a sua desgranulação, iniciando-se a fase precoce. A sua duração é de aproximadamente 40 minutos e estabelece-se pouco tempo após o contacto com o alérgeno (20 minutos no máximo) (Bacon *et al.*, 2000; Chigbu, 2009). Os mediadores inflamatórios que se libertam neste processo estimulam terminações nervosas, produzem vasodilatação conjuntival, aumentam a permeabilidade vascular e promovem o recrutamento de células inflamatórias, traduzindo as manifestações típicas da CA aguda: prurido, hiperémia e quemose (Leonardi *et al.*, 2008).

Os mastócitos concentram-se na substância própria da conjuntiva, particularmente ao nível do limbo, e nas formas crónicas de CA tendem a migrar para a camada epitelial (Bielory, 2000; Chigbu, 2009). De entre os múltiplos produtos da sua desgranulação, destacam-se: a histamina, proteases (triptase, quimase) e hidrolases, diversos leucotrienos e factores quimiotácticos de eosinófilos, neutrófilos e monócitos. Indirectamente, estas substâncias induzem a síntese de moléculas de adesão pelas células endoteliais (*intracellular adhesion molecule*, ICAM-1 e *vascular cell adhesion molecule*, VCAM), e a produção de prostaglandinas e de factor de activação plaquetário (*platelet-activating factor*, PAF) (Leonardi *et al.*, 2008; Chigbu, 2009; Sánchez *et al.*, 2011). A histamina é o principal mediador da reacção alérgica ocular, sendo a substância mais vasoactiva e com maior actividade pró-inflamatória (Chigbu, 2009). É a grande responsável pelos sinais observados, sendo capaz de influenciar a permeabilidade dos vasos, a secreção de muco, a migração de células inflamatórias e a função de linfócitos T (Jutel, Watanabe, Akdis, Blaser & Akdis, 2002). Actua através de receptores histamínicos existentes na conjuntiva (receptores H1 e H2) (Bielory, 2000).

O efeito dos referidos mediadores e a persistência do contacto com o alérgeno contribuem para o desenvolvimento de uma fase tardia, 4 a 6 horas após a desgranulação dos mastócitos (Bacon *et al.*, 2000; Chigbu, 2009). Esta é caracterizada pela activação e produção de citoquinas por células Th2 e pela infiltração celular da conjuntiva por eosinófilos, neutrófilos e basófilos (Chigbu, 2009).

As citocinas Th2, sobretudo a IL-4 e a IL-5, induzem a produção de IgE e o recrutamento de eosinófilos que, através dos seus mediadores tóxicos, provocam lesão epitelial, activam

mastócitos locais e estimulam nova libertação de mediadores vasoactivos (Chigbu, 2009; Delgado & Palmares, 2011). Este é um processo persistente, que não só intensifica todos os mecanismos inflamatórios, como contribui para a perpetuação da expressão alérgica (Chigbu, 2009). A fase tardia é dose-dependente (Bonini *et al.*, 1990) e a responsável pela transição de uma reacção aguda para dias ou semanas de doença (Bacon *et al.*, 2000).

As formas crónicas da doença podem progredir para fibrose e cicatrização tecidual, devido à acção de citocinas que promovem a proliferação e activação de fibroblastos (Bielory, 2000; Delgado & Palmares, 2011). Quanto mais extensa for a remodelação do tecido, maior será o desconforto do paciente e a agressão da superfície epitelial (Delgado & Palmares, 2011). A fase tardia constitui-se, assim, um aspecto determinante na fisiopatologia da CA crónica, sendo a principal causadora de lesões oculares, entre as quais queratite, infiltração celular do limbo ou úlceração da córnea (Chigbu, 2009).

5. A conjuntivite alérgica no Homem

A CA afecta crianças e adultos, estando vulgarmente associada a outras formas de alergia como a asma, o eczema atópico ou a alergia alimentar (Sánchez *et al.*, 2011). Na maioria dos pacientes os sinais oculares surgem em combinação com os respiratórios sob a forma de rinoconjuntivite alérgica (Bielory, 2000a; Singh, Axelrod, & Bielory, 2010; Sánchez *et al.*, 2011). Estima-se que 95% dos pacientes com rinite alérgica exiba CA concomitante (Williams, Edney, Maiden & Smith, 2013) e que 40% a 60% da população alérgica exiba sinais oculares associados a outras formas de atopia (Ono & Abelson, 2005).

Independentemente do sistema de classificação utilizado, atendendo à prevalência e gravidade das diversas formas de alergia ocular (Leonardi *et al.*, 2008) ou à imunopatologia dos vários mecanismos de hipersensibilidade envolvidos (Leonardi *et al.*, 2012), considera-se a existência das principais entidades clínicas: a CA sazonal (CAS) e a CA perene (CAP), a queratoconjuntivite vernal (QCV) e a queratoconjuntivite atópica (QCA) (Granet, 2008; La Rosa *et al.*, 2013).

A CAS e a CAP são as apresentações mais frequentes e traduzem a típica reacção de hipersensibilidade mediada por IgE, normalmente associada a alergénios ambientais (Leonardi, 2013). De ambas, a CAS é a mais prevalente, mas também a mais visada em estudos epidemiológicos, o que pode contribuir para a sobrestimação do número real de casos (Riedi & Rosario, 2009; Westphal *et al.*, 2009).

A CAS tem geralmente um início agudo ou subagudo, sendo mais preponderante entre a primavera e o outono, aquando da estação polínica (Leonardi *et al.*, 2012). É caracterizada por prurido ocular sazonal ou intermitente, frequentemente associado a rinite, e por sinais

inespecíficos como a hiperémia conjuntival e quemose. Dependendo da exposição ao alergénio agressor, a sintomatologia pode intensificar-se ou regredir (Leonardi, 2013).

A CAP, por sua vez, é uma doença crónica, relacionada com alergénios presentes durante todo o ano (ácaros, epitélios de animal, fungos e outros). Os sinais são iguais aos da forma sazonal, contudo persistentes, podendo ser despoletados por uma exposição alérgica mais intensa ou prolongada e exacerbados por diversos factores irritantes (Leonardi, 2013). Estas são as formas menos complicadas, não existindo envolvimento corneal (Leonardi *et al.*, 2012).

A QCV é uma forma mais grave de alergia ocular, relativamente rara, que afecta crianças e jovens adultos, surgindo frequentemente associada a outras condições alérgicas (Leonardi *et al.*, 2012). Pode apresentar-se sob duas formas, a tarsal/conjuntival e a limbal, que se caracterizam por lesões epiteliais da córnea, alterações proliferativas da conjuntiva e alterações ao nível do limbo (Bonini *et al.*, 2009). As queixas são de prurido ocular intenso, lacrimejamento, corrimento mucoso e fotofobia severa (Ono & Abelson, 2005).

A QCA corresponde a uma inflamação persistente das pálpebras e conjuntiva e, tal como a anterior, por vezes também da córnea (Leonardi *et al.*, 2012). É frequente em indivíduos adultos com uma história familiar de atopia, como a asma ou a urticária. Vulgarmente os pacientes apresentam dermatite atópica ou eczema desde crianças e a sintomatologia ocular surge numa fase mais tardia. Os sinais encontram-se presentes durante todo o ano, podendo sofrer exacerbações sazonais, e incluem prurido bilateral intenso nas pálpebras, conjuntiva e região periocular, bem como lacrimejamento, ardor, fotofobia e visão turva (Ono & Abelson, 2005). A presença de corrimento mucoso é frequente. A longo prazo, é possível que ocorram complicações, como fibrose conjuntival, catarata ou lesão corneal, culminado em cegueira (Granet, 2008).

6. A conjuntivite alérgica no cão

O “olho vermelho” é uma apresentação comum na clínica veterinária, estando tipicamente associado a inflamação ocular. Pode ter origem na dilatação dos vasos sanguíneos da conjuntiva, dos vasos episclerais ou dos ciliares e o grau de hiperémia nem sempre reflecte a gravidade da doença ocular (Ofri, 2006). A sua causa mais frequente é a conjuntivite, contudo a hiperémia conjuntival é devida à congestão, não tendo que lhe estar necessariamente associada (Cronau *et al.*, 2010; Lourenço-Martins, 2010).

Porque se trata de um sinal inespecífico, comum a várias entidades patológicas, aquando na presença de um “olho vermelho” é preciso ter em conta múltiplos diagnósticos diferenciais. Além da conjuntivite, há que considerar a uveíte, o glaucoma e a queratite. A episclerite e a

panoftalmite também podem ocasionar um “olho vermelho”, embora sejam menos frequentes do que as anteriores (Ofri, 2006).

No cão, a conjuntivite pode ter origem primária, sendo devida a causas infecciosas (bacterianas ou virais) ou alérgicas (Crispin, 2002). Pode também ser provocada pela exposição a agentes irritantes/tóxicos (químicos, pó, vento, fármacos) ou ser secundária a alterações anatómicas das pálpebras (entrópion, ectrópion, blefarite) ou das pestanas (cílios ectópicos, triquíase, distiquíase, entre outras). Existem ainda as causas relacionadas com doenças sistémicas (por exemplo, as auto-imunes) ou com o “olho seco” (Crispin, 2002; Granet, 2008).

A CA pode ocorrer em qualquer idade, tanto em cães com DAc como em animais sem história de atopia (Crispin, 2002; Stades & Gelatt, 2007). Em algumas raças, como no West Highland White Terrier, encontra-se descrita com maior frequência (Stades & Gelatt, 2007).

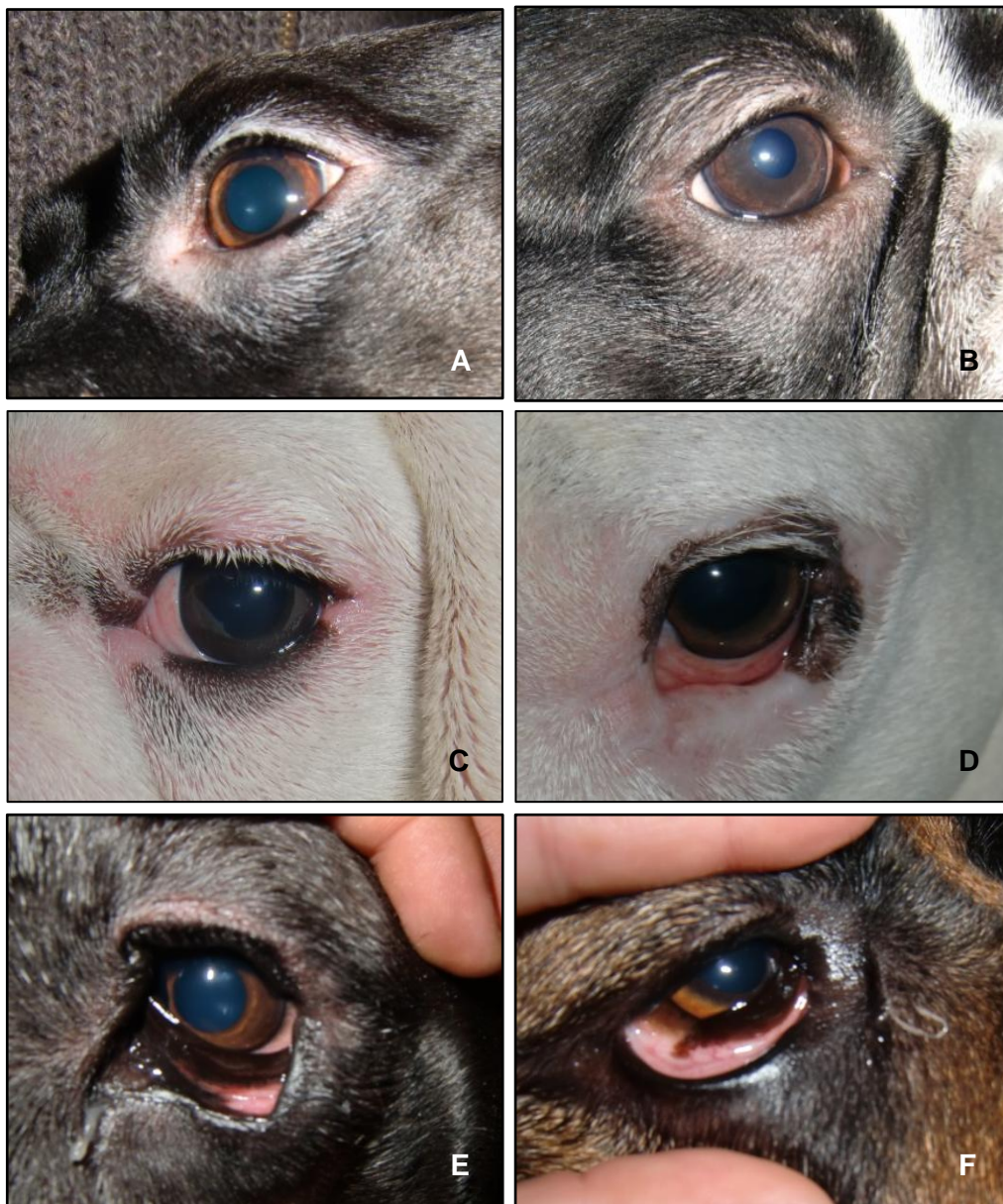
6.1. Sinais

A CA manifesta-se através de diferentes graus de prurido ocular, hiperémia conjuntival, epífora, quemose e corrimento (Abelson, Howes & George, 1998; Peña & Leiva, 2008). Apesar das alergias oculares abrangerem um conjunto de entidades distintas que variam clinicamente entre si, estas manifestações são comuns a todas elas (Peña & Leiva, 2008). Os sinais são normalmente bilaterais, embora o grau de envolvimento possa não ser simétrico (Bielory, 2000a).

O prurido deve estar implícito no diagnóstico da CA e, por isso, sempre que este não se verifique, é muito provável que a doença tenha outra etiologia que não a alérgica (Bielory & Friedlaender, 2008). Sem prurido não existe CA (Bogacka *et al.*, 2008). Este e a hiperémia conjuntival são as manifestações oculares mais características em pacientes atópicos. O corrimento ocular é geralmente seroso e por vezes mucoso, mais raramente mucopurulento ou purulento (Bielory & Friedlaender, 2008). As pálpebras podem estar envolvidas e surgir edemaciadas, ou podem existir prurido e eritema periorculares (Bielory & Friedlaender, 2008; Bogacka *et al.*, 2008; Leonardi, 2013). A figura nº 6 ilustra alguns dos sinais de CA mais frequentes.

A histamina é um dos mediadores “chave” da alergia e inflamação ocular e a principal responsável pela sintomatologia que caracteriza os quadros agudos de CA. Ao actuar sobre os vasos conjuntivais produz vasodilatação e aumenta a permeabilidade vascular, originando hiperémia e quemose. Quando actua sobre terminações nervosas ocasiona prurido (Morales *et al.*, 2008).

Figura nº 6 – Sinais de conjuntivite alérgica em cães com dermatite atópica (original).



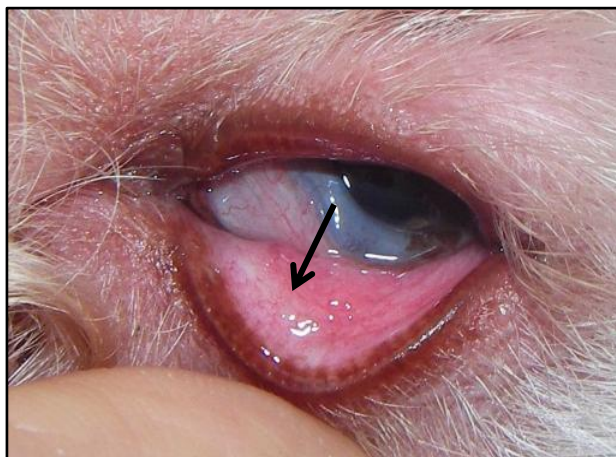
Legenda: A – Olho de canídeo com sinais de alopecia e eritema perioculares; B – Olho de Bouledog Frânces com hiperémia conjuntival e quemose marcadas, para além de eritema e alopecia perioculares; C e D – Bulldog Inglês (C) e Pitbull (D) exibindo hiperémia conjuntival grave, quemose e epífora. A região periocular apresenta-se eritematosa; E e F – Dog Alemão (E) e Pastor Alemão (F) com sinais de hiperémia conjuntival e quemose. Ambos apresentam corrimento ocular mucoso.

Nas formas crónicas da doença a hipertrofia papilar é um achado comum, particularmente ao nível da conjuntiva tarsal (figura nº 7) (Crispin, 2002; Bielory, 2000a; Bogacka & Groblewska, 2008). Esta caracteriza-se por uma hiperplasia linfóide, com vascularização secundária, tratando-se de um sinal inespecífico associado à inflamação (Crispin, 2002).

Na generalidade dos animais a conjuntivite é uma doença auto-limitante, contudo em alguns casos pode persistir (Crispin, 2002). Ocasionalmente a CA pode afectar a córnea,

originando sinais como a fotofobia ou a visão turva mas, ao contrário de outras doenças oculares, raras vezes provoca dano visual permanente (Bielory, 2000a).

Figura nº 7 – Conjuntivite folicular num cão com dermatite atópica (notar os folículos linfóides hipertrofiados na conjuntiva palpebral indicados pela seta) (gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



6.2. Diagnóstico

No cão, o diagnóstico presumível da CA é realizado através da anamnese, da exclusão de outras causas potenciais e é reforçado pelos resultados obtidos em provas alergológicas (Lourenço-Martins, 2010).

O diagnóstico das diversas formas de CA é essencialmente clínico (Bielory, 2011), mas não existem ainda, em medicina veterinária, critérios que ajudem a balizar o diagnóstico destes casos (Lourenço-Martins, 2010). O prurido ocular e a hiperémia são sintomas importantes no seu reconhecimento, devendo ser igualmente tidas em conta a presença ou ausência de história familiar de atopia (Bielory, 2011). Embora a sintomatologia permita um diagnóstico relativamente fiável, as formas não activas ou crónicas da doença podem torná-lo um processo menos claro (Leonardi, 2013). Outras vezes este pode complicar-se devido à ocorrência de formas “pseudoalérgicas”, cujas manifestações clínicas são idênticas às das alergias oculares, mas cuja etiologia é outra que não a alérgica (queratoconjuntivite seca, diversas infecções bacterianas ou virais subagudas ou crónicas, conjuntivites de origem tóxica/irritante) (Bielory, 2011).

Tanto a avaliação do filme lacrimal como a verificação da integridade do epitélio conjuntival são fundamentais na exclusão de outras doenças, recorrendo-se ao teste de Schirmer e teste da fluoresceína sempre que se pretenda avaliar a produção de lágrima ou detectar lesões epiteliais, respectivamente. O “*tear break time*”, usado como marcador da

estabilidade da lágrima, pode ser outro parâmetro útil ao diagnóstico da queratoconjuntivite seca (Leonardi *et al.*, 2012).

Após uma primeira abordagem clínica que inclui a avaliação da história e da sintomatologia do paciente, o diagnóstico presuntivo deve ser auxiliado por diversos testes complementares mais objectivos. Até à data, não existe nenhum teste laboratorial suficientemente específico que permita o diagnóstico definitivo da CA (Leonardi, 2013).

À semelhança do que sucede noutras alergias, os TID e testes serológicos são amplamente utilizados, permitindo confirmar a existência de uma hipersensibilidade mediada por IgE e identificar os alergénios mais relevantes no processo alérgico (Leonardi, 2013; Leonardi *et al.*, 2012). É sabido, contudo, que os seus resultados não se relacionam exclusivamente com as alergias oculares e que a presença de IgE específicas pode estar associada a outras formas de atopia, já que o olho é raramente o único alvo de reacções alérgicas (Bielory, 2011; Leonardi, 2013).

Outros testes complementares passíveis de ser úteis ao diagnóstico da CA incluem a citologia conjuntival, os testes de provocação e a pesquisa de mediadores inflamatórios na lágrima (Leonardi, 2013). Alguns destes, porém, são maioritariamente usados para efeitos de investigação científica e não propriamente para fins diagnósticos (Bielory, 2011).

A presença de eosinófilos na citologia conjuntival é altamente indicativa de uma reacção alérgica, mas a sua ausência não exclui o diagnóstico de CA (Leonardi *et al.*, 2012).

Os testes de provocação conjuntival (TPC) são capazes de desencadear uma resposta conjuntival específica, possibilitando o reconhecimento dos alergénios responsáveis pela sintomatologia ocular. Assim, constituem-se uma boa alternativa aos anteriores, principalmente quando existe uma história clínica compatível com CA mas os testes cutâneos e serológicos se apresentam negativos (Leonardi *et al.*, 2012).

Na tentativa de encontrar um marcador específico para a alergia ocular e de explorar novas abordagens terapêuticas, a comunidade médica tem-se dedicado à pesquisa de diversos mediadores no filme lacrimal (Leonardi, 2013). Actualmente sabe-se que a concentração de IgE específicas se encontra aumentada em pacientes alérgicos, e por isso a sua medição na lágrima pode ser útil ao diagnóstico da CA (Leonardi, 2013). Adicionalmente, os níveis de IgE no filme lacrimal apresentam uma maior correlação com os TPC e o diagnóstico de CA no Homem do que os testes cutâneos ou serológicos usados na sua detecção (Hoffmann-Sommergruber *et al.*, 1996; Leonardi, 2013). A presença de alguns mediadores inflamatórios na lágrima, como a histamina e a triptase, foi também considerada um bom indicador de inflamação local, no entanto, como mencionado, nenhum deles apresenta especificidade para a CA (Leonardi, 2013).

6.2.1. Os testes de provocação conjuntival

O TPC constitui um modelo de alergia ocular no Homem, sendo vulgarmente usado no estudo da resposta ocular a estímulos alérgicos e na avaliação da eficácia de diferentes formas de tratamento anti-alérgico (Mortemousque, 2007).

Capaz de mimetizar os sinais da CA, tem-se revelado uma ferramenta útil na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença, assim como no seu diagnóstico, tendo vindo a ganhar popularidade entre os clínicos dada a sua simplicidade, segurança e custos reduzidos (Garcia-Ortega, Costa, & Richart, 1989; Bacon *et al.*, 2000; Bogacka *et al.*, 2008). Através da instilação conjuntival de alérgenos é possível induzir episódios de alergia ocular de forma padronizada e através da avaliação dos sinais clínicos desencadeados quantificar a reacção alérgica com base num sistema de classificação bem definido (Mortemousque *et al.*, 2004). Uma vez que a provocação reproduz quer a fase precoce quer a fase tardia da CA, a reacção conjuntival pode ser igualmente monitorizada através da medição de mediadores inflamatórios presentes na lágrima ou por intermédio de citologia (Leonardi, 2013).

O TPC permite reconhecer os principais alérgenos responsáveis pelas manifestações oculares e identificar as sensibilizações mais relevantes no processo alérgico (Lipiec, Rapiejko, Samolinski & Krzych, 2005; Bogacka *et al.*, 2008). Segundo alguns autores, esta é a forma mais objectiva de demonstrar a existência de uma hipersensibilidade face a determinado alérgeno em pacientes com CA (Núñez & Cuesta, 2000).

Adicionalmente, trata-se de um teste tão específico quanto sensível, apresentando uma boa correlação com outras provas alergológicas, como os TID ou a medição de IgE específicas (Bogacka *et al.*, 2008).

Da revisão bibliográfica efectuada constam apenas duas referências à utilização dos TPC em cães (Zemann *et al.*, 2002; Lourenço-Martins *et al.* 2011).

À semelhança dos TID, também os TPC no cão mostraram ser marcadores de hipersensibilidade mais sensíveis e duradouros do que a medição dos níveis plasmáticos de IgE (Zemann *et al.*, 2002). Zemann e colaboradores submetem uma colónia de Beagles atópicos (n=6) produtores de IgE específicas para a ovalbumina a vários tipos de provocação (intradérmica, conjuntival e nasal), constatando que a reactividade ao nível das mucosas (conjuntiva, pulmão e pele) se mantinha mesmo após a concentração sérica de IgE ter regressado ao normal. Assim, os TPC constituem-se uma ferramenta importante na confirmação de diagnósticos dúbios, sobretudo quando os pacientes apresentam provas cutâneas ou serológicas negativas (Bogacka *et al.*, 2008; Demoly, Gaeta, Bousquet & Romano, 2009).

6.3. Tratamento

O controlo da CA abrange diversas opções terapêuticas, nomeadamente a evicção alérgica, o tratamento farmacológico e a ITAE (Leonardi *et al.*, 2012).

O principal objectivo no tratamento das alergias oculares é a identificação do agente causal e a sua posterior eliminação, de forma a prevenir recorrências. Contudo, se estas parecem medidas fáceis em teoria, é sempre difícil ou mesmo impossível de pô-las em prática, e por isso o tratamento farmacológico é uma escolha recorrente (Leonardi *et al.*, 2008)

Apesar do consenso de que a evicção alérgica permite o alívio dos sinais oculares, estudos desenvolvidos no Homem mostram que existem poucas evidências que o suportem, já que raramente se consegue reduzir a carga alérgica a níveis suficientemente baixos que permitam uma melhoria clínica (Bousquet *et al.*, 2008). A par da anterior, a utilização preventiva de uma lágrima artificial e o recurso a lavagens oculares com soro fisiológico são outras das primeiras abordagens não farmacológicas a ser consideradas no controlo e prevenção da CA, na medida que reforçam a função de barreira da superfície ocular e promovem a remoção e diluição dos alérgenos que entram em contacto com esta (Leonardi *et al.*, 2012; La Rosa *et al.*, 2013).

A farmacoterapia tópica é a opção mais simples e directa para o tratamento da CA, contudo a sua eficácia pode variar entre pacientes (Bielory, 2000a). Para o efeito encontram-se disponíveis diversas classes farmacológicas, entre as quais agentes vasoconstritores, anti-histamínicos, corticosteróides e anti-inflamatórios não esteróides, estabilizadores de mastócitos e ainda inibidores da calcineurina (Leonardi *et al.*, 2012).

Os anti-histamínicos actuam como antagonistas dos receptores H1, competindo reversivelmente com a histamina pela ligação a estes. Permitem a redução do prurido e da hiperémia conjuntival, porém são incapazes de influenciar outros mediadores inflamatórios (como as prostaglandinas e leucotrienos) e têm um período de acção limitado, obrigando a administrações frequentes (cerca de 4 vezes/dia) (La Rosa *et al.*, 2013). Enquanto medicamentos tópicos, surgem frequentemente associados a agentes vasoconstritores e podem ser utilizados em combinação com estabilizadores de mastócitos como tratamento de manutenção durante a estação alérgica (Leonardi *et al.*, 2012). A sua administração oral encontra-se reservada para situações em que atopia se reflecte em mais do que um sistema, na medida que as formulações tópicas promovem um alívio mais rápido dos sintomas do que as sistémicas (Leonardi *et al.*, 2012).

Os agentes vasoconstritores, ou agonistas dos receptores α -adrenérgicos, são eficazes na redução da hiperémia conjuntival e eritema, mas têm um efeito pouco pronunciado nos restantes sinais da CA (Leonardi *et al.*, 2012; La Rosa *et al.*, 2013). Apesar de amplamente utilizados, têm um efeito de curta duração (2 horas ou menos) e provocam ardor e midríase aquando da sua instilação, para além de promoverem o aumento da pressão intra-ocular

(Abelson, McLaughlin & Gomes, 2011). Assim, os vasoconstritores de administração tópica estão apenas recomendados para tratamentos a curto-prazo, visto serem incapazes de intervir ao nível das cascatas inflamatórias e porque a sua administração prolongada se encontra associada à irritação das estruturas oculares (Leonardi *et al.*, 2012; La Rosa *et al.*, 2013). Estão contra-indicados em pacientes com glaucoma (La Rosa *et al.*, 2013).

Os estabilizadores de mastócitos previnem a desgranulação destas células através da interrupção dos mecanismos intracelulares produzidos pela activação dos receptores para a IgE. Quando usados preventivamente inibem a libertação de mediadores inflamatórios pré-formados e a cascata do ácido araquidónico, sendo uma opção eficaz na redução das manifestações oculares de alergia. Contudo, os seus benefícios não são imediatos sendo necessárias 2 semanas até se atingir a dose terapêutica e exigem uma grande frequência de administração (3-4 vezes/dia). Actualmente existem moléculas que combinam a acção anti-histamínica e a capacidade inibidora dos mastócitos (anti-inflamatórios de “acção dupla”), permitindo um alívio mais rápido e duradouro, tanto da hiperémia como do prurido (Abelson *et al.*, 2011).

Os anti-inflamatórios não esteróides podem ser utilizados como adjuvantes no tratamento da CA, quando as terapêuticas anteriormente referidas são incapazes de proporcionar um controlo satisfatório dos sintomas (Kari & Saari, 2010). Ao impedirem a síntese de prostaglandinas, são capazes de inibir parcialmente os eventos inflamatórios que se seguem à desgranulação dos mastócitos, originando uma redução do prurido (Leonardi *et al.*, 2012).

Os corticosteróides são fármacos imunossupressores com propriedades anti-proliferativas, indicados no tratamento das formas mais graves de alergia ocular (La Rosa *et al.*, 2013). Actuam impedindo a diferenciação dos linfócitos T em células Th2 e, conseqüentemente, a libertação de citocinas pelos mesmos. Os corticosteróides tópicos não devem ser a primeira opção para o tratamento da CA, sobretudo das formas mais leves, mas a sua administração pode ser inevitável nos casos mais graves, quando a córnea se encontra envolvida (Leonardi *et al.*, 2012). A utilização destes agentes apresenta algumas limitações, incluindo múltiplos efeitos oculares adversos, uma vez que dificultam o processo de cicatrização, promovem o aumento da pressão intra-ocular, a formação de cataratas e a ocorrência de infecções bacterianas e virais. Adequam-se, por isso, a tratamentos de curta duração (até 2 semanas), devendo proceder-se a um exame oftalmológico completo sempre que seja necessário prolongar a sua administração (Leonardi *et al.*, 2012; La Rosa *et al.*, 2013).

A utilização de inibidores da calcineurina tópicos na terapêutica da CA não se encontra aprovada na Europa (Leonardi *et al.*, 2012), mas vários estudos demonstram tratar-se de uma opção eficaz nas formas mais graves da doença, conseguindo-se uma redução dos sinais sem efeitos indesejáveis relevantes (Utine, Stern & Akpek, 2010). No tratamento do “olho seco” pode recorrer-se a emulsões contendo estes agentes (Leonardi *et al.*, 2012).

A ITAE é uma prática bem estabelecida no tratamento da rinoconjuntivite no Homem e, apesar de estudos recentes se centrarem maioritariamente nos seus efeitos sobre as manifestações nasais, esta deve ser uma opção considerada no controlo a longo-prazo dos sinais da CA, mesmos nas formas mais ligeiras da doença (Durham *et al.*, 2010; Leonardi *et al.*, 2012). O principal objectivo da ITAE é induzir uma tolerância aos alergénios responsáveis pelo desencadeamento dos sinais de alergia. Contudo não existem parâmetros que consigam antever o seu grau de eficácia, para além de poder originar reacções adversas sistémicas (La Rosa *et al.*, 2013).

V. O TPC na Avaliação da Eficácia da ITAEr na DAC

1. Objectivos

O TPC permite reconhecer os principais alergénios responsáveis pelas manifestações oculares e identificar as sensibilizações mais relevantes no processo alérgico (Lipiec *et al.*, 2005; Bogacka *et al.*, 2008), sendo a forma mais objectiva de demonstrar a existência de uma hipersensibilidade face a determinado alergénio em pacientes com CA (Núñez & Cuesta, 2000).

Trata-se de um teste tão específico quanto sensível, apresentando uma boa correlação com outras provas alergológicas, como os TID ou a medição dos níveis de IgE específicas (Bogacka *et al.*, 2008). Da revisão bibliográfica efectuada constam apenas duas referências à sua utilização em cães (Zemann *et al.*, 2002; Lourenço Martins *et al.*, 2011).

Com este estudo pretendemos contribuir para a divulgação do TPC, um método prático e seguro, de manifesta utilidade na confirmação do diagnóstico de CA e na monitorização da evolução da doença atópica, bem como na avaliação da eficácia de múltiplas formas de tratamento, incluindo a ITAE. Mais concretamente, pretendemos demonstrar a utilidade do TPC na avaliação da resposta à terapêutica com ITAEr para Df em cães atópicos com CA.

Numa primeira fase pretendeu-se avaliar o grau de CA num grupo de 15 pacientes com DAC espontânea, investigando-se a relação entre a gravidade das manifestações oculares e a gravidade dos sinais dermatológicos.

Na segunda fase do estudo, propusemo-nos, pela primeira vez, testar a utilidade do TPC na avaliação da eficácia da ITAEr para Df, aferindo acerca do benefício desta forma de tratamento em cães atópicos com CA concomitante.

A hipótese experimental colocada é “Serão as diferenças observadas nas pontuações dos TPC, antes e após o tratamento, devidas à ITAEr?”

2. Materiais e Métodos

2.1. Selecção dos pacientes

Este foi um estudo prospectivo, realizado em duas fases. A população em estudo foi composta por uma amostra de 15 cães que se apresentaram à Consulta de Dermatologia no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL). A amostra foi seleccionada por conveniência, dada a necessidade de se verem cumpridos os seguintes pressupostos:

Fase I – Para poder integrar o estudo, foi necessário verificar-se:

- (1) diagnóstico de DAC;
- (2) resultado positivo ao TID para Df;
- (3) diagnóstico de CA;
- (4) resultado positivo ao TPC para Df.

Fase II – Para avaliar o efeito da ITAEr sobre os sinais dermatológicos e oculares:

- (1) os pacientes foram submetidos a dois meses de ITAEr para Df;
- (2) todas as formas de tratamento, que não a imunoterapia, foram interrompidas, permitindo-se apenas a utilização de glucocorticóides tópicos na sua forma esterificada (Cortavance®).

Todos os proprietários dos pacientes incluídos no estudo deram o seu consentimento por escrito, sob a forma de declaração assinada (Anexo I).

2.2. Avaliação dermatológica

O diagnóstico de DAC foi obtido através da avaliação da anamnese e do quadro clínico do paciente e, posteriormente, confirmado através da realização de testes intradérmicos cutâneos. O diagnóstico clínico baseou-se na combinação dos critérios de Willemse (1986) e de Prélaud (1998) para a DAC (Anexo II) e na eliminação de todas as doenças que a poderiam mimetizar. Apenas os animais com diagnóstico de DAC e resultados positivos ao TID para Df foram incluídos no estudo, independentemente da existência de outras sensibilizações.

Com o intuito de despistar eventuais alergias alimentares, todos os animais foram submetidos a um teste de “eliminação-provocação alimentar”, tendo-lhes sido administrada uma dieta hipoalergénica, em exclusivo, durante seis semanas consecutivas. Os casos de DAPP foram excluídos e/ou tratados através da administração de tratamento anti-parasitário

(aplicação tópica de pipetas de selamectina, de 15 em 15 dias, num total de 3 aplicações). O despiste das restantes dermatoses pruriginosas fundamentou-se na realização de citologias de pele, citologias auriculares, raspagens cutâneas, tricogramas e, nos casos que o justificaram, culturas bacterianas. Só após a eliminação e/ou tratamento das referidas entidades clínicas é que a sensibilização a Df foi demonstrada, submetendo-se os animais a TID para este e outros alergénios.

Durante a avaliação dermatológica procedeu-se ainda à determinação da gravidade do envolvimento cutâneo, recorrendo-se à escala *Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index-third version 3* (CADESI-03). Com esta escala foram analisadas 62 áreas corporais pré-definidas quanto à existência de eritema, liquenificação, escoriações e alopecia auto-induzida, sendo-lhes atribuída uma classificação de 0 a 5 (0 - ausência de lesão; 1 suave; 2 e 3 – moderado; 4 e 5 – grave) (Anexo III). Importa referir que a gravidade da doença foi sistematicamente avaliada pelo mesmo clínico, de forma a minorar eventuais erros entre observações.

Adicionalmente foi pedido aos donos que avaliassem o grau de prurido dos seus cães numa escala de 0 a 10, em que 0 seria a ausência de prurido e 10 a vontade incontrolável de coçar (em que o animal interrompe a refeição ou acorda para se coçar).

2.3. Avaliação oftalmológica

Após avaliação dermatológica, todos os elementos da amostra foram submetidos a um exame oftálmico completo realizado sempre pelo mesmo investigador, de acordo com o descrito por Lourenço-Martins e colegas (2011). A avaliação incluiu:

- a) Exame externo do olho, pálpebras e estruturas peribulbares com uma fonte focal de iluminação;
- b) Realização do teste de Schirmer (STT, Dina strips Shimer-Plus, Luneau SAS, Chartes, França) com o intuito de avaliar a produção de lágrima. O intervalo considerado normal foi de 15 a 25 mm/minuto;
- c) Avaliação da resposta à ameaça, dos reflexos palpebrais e pupilares (directo e consensual), do encadeamento e reflexos oculocefálicos;
- d) Medição da pressão intraocular (PIO) pelo método de tonometria de aplanção de Goldmann (Tono-Pen XL, Medtronic Solan, Estados Unidos da América), após a instilação de um anestésico tópico (0.4% cloridrato de oxibuprocaína, Anestocil®, Oftalder, Oeiras, Portugal). Foram considerados normais valores compreendidos entre 15 e 25mmHg (Gelatt & MacKay, 1998) e o valor tido como válido correspondeu à média calculada entre 3 medições consecutivas;

- e) Realização de exame de biomicroscopia com lâmpada de fenda (Kowa SL15, Tóquio, Japão), em sala escura, para avaliação subjectiva dos sinais oculares (hiperémia, quemose, epífora, corrimento ocular, queratite concomitante) numa escala de 0 a 3, correspondendo respectivamente a sinais ausentes, ligeiros, moderados ou graves;
- f) Dilatação da íris com tropicamida (Tropicamida a 1%, Tropicil Top®, Edol, Linda-a-Velha, Portugal) e posterior exame oftalmoscópico indirecto (Heine ómega 500, Herrsching, Alemanha), efectuado em sala escura, para realização de fundoscopia;
- g) Realização de outros exames de diagnóstico complementar (citologia ocular, teste de fluoresceína, “*tear-break time*”), sempre que considerado necessário para a exclusão de outras causas de sintomatologia ocular que não as alérgicas.

Os proprietários foram ainda inquiridos acerca da existência de prurido ocular nos seus animais, pedindo-lhes que o classificassem de 0 a 3, consoante estivesse ausente, fosse ligeiro, moderado ou grave, respectivamente. O prurido ocular foi descrito aos donos como a vontade de esfregar ou coçar os olhos.

No final do exame oftálmico e da avaliação do prurido por parte dos donos, os seguintes sinais de CA foram classificados de 0 a 3 de acordo com a sua gravidade: hiperémia conjuntival, quemose, epífora, corrimento ocular, queratite e prurido. A classificação final do envolvimento ocular (ou *score* de CA) resultou da soma das classificações individuais de cada um dos sinais, podendo assim variar entre 0 e 18 (6x3). O diagnóstico de CA realizou-se de acordo com a anamnese, sinais clínicos e exclusão de outras causas possíveis para as manifestações oculares.

2.4. Teste de provocação conjuntival

Tanto quanto sabemos, não existem recomendações para a realização de TPC para Df no cão, existindo apenas uma referência acerca da sua utilização nesta espécie (Lourenço-Martins *et al.*, 2011). À semelhança dos autores referidos, optámos por seguir as recomendações propostas para a sua realização no Homem (Mortemousque *et al.*, 2006).

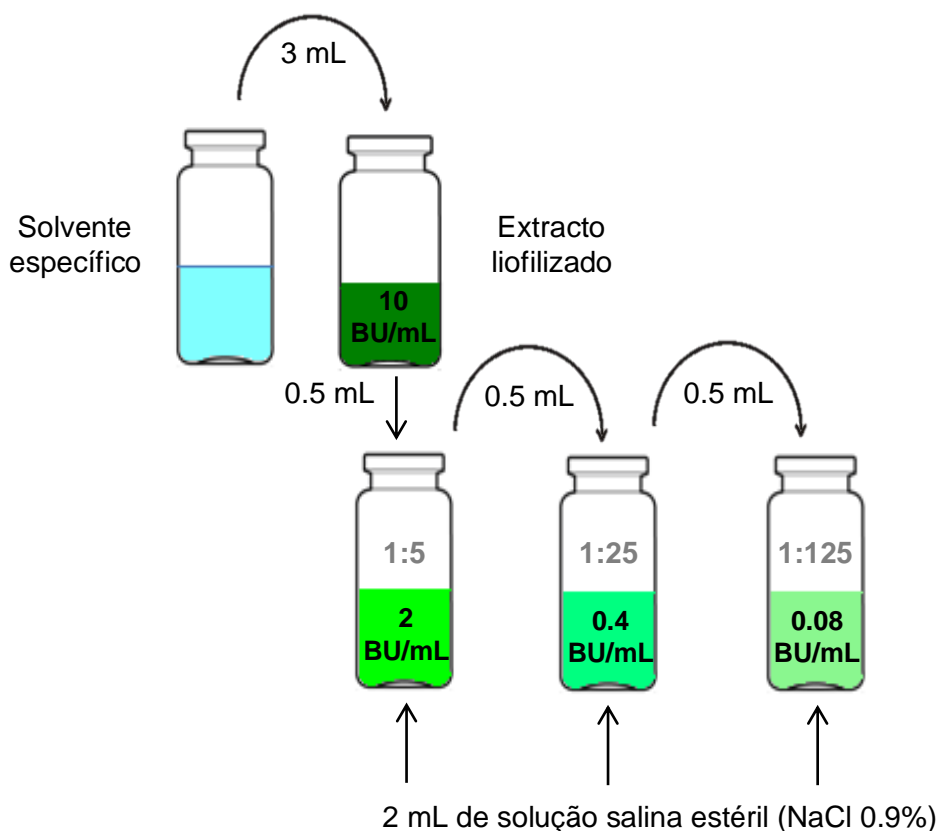
a) Reconstituição dos extractos

Para reconstituição dos extractos liofilizados de Df recorreu-se a um solvente específico contendo água bidestilada sem fenol (Aquagen SQ; ALK-Abelló, Bioportugal, Algés, Portugal). A partir de uma concentração inicial de 10 BU²/ml, procedeu-se à realização de diluições seriadas de 1:5 com solução salina estéril (NaCl a 0,9%, B. Braun Medical,

² *Biological Units*

Barcarena, Portugal), obtendo-se as seguintes diluições: 2 BU/ml, 0.4 BU/ml e 0.08 BU/ml (figura nº 8)

Figura nº 8 – Preparação das soluções a utilizar nos TPC



b) Instilação

Para cada um dos 15 cães procedeu-se à instilação, recorrendo a uma micropipeta, de 50µl da solução salina no saco conjuntival esquerdo (olho controlo) e de igual volume da solução mais diluída contendo o alergénio no olho direito (olho teste). As reacções oculares foram observadas 15 a 20 minutos após a instilação, avaliando-as de acordo com a classificação de Abelson (Abelson et al., 1990) (tabela nº 4). Aos sinais clínicos hiperémia conjuntival, quemose e epífora foi atribuída uma pontuação de 0 a 3 de acordo com a sua gravidade (ausente, suave, moderado ou grave, respectivamente). Todos estes critérios foram avaliados através de biomicroscopia com lâmpada de fenda (Kowa SL15, Tóquio, Japão), efectuada numa sala escura. O prurido ocular foi igualmente avaliado, permitindo-se um grau adicional (grau 4 em casos muito graves).

O teste foi realizado com doses crescentes do alergénio, nas concentrações de 0.08 BU/mL, 0.4 BU/mL e 2 BU/mL sucessivamente, até ao aparecimento de um *score* ocular positivo (TPC ≥ 6) dado pelo somatório das classificações individuais dos 4 sinais clínicos. O teste foi

considerado negativo quando a concentração mais alta foi atingida sem que se tenha verificado reacção (TPC <6) e inválido sempre que o olho controlo apresentou uma pontuação ≥6.

Todos os animais foram submetidos a um primeiro TPC antes de iniciada a ITAE e novo TPC passados 2 meses de tratamento. O teste foi reproduzido com a mesma concentração que havia desencadeado uma resposta positiva no primeiro TPC (0.4 BU/mL). As reacções oculares foram sistematicamente avaliadas pelo mesmo investigador.

Tabela nº 4 - Classificação dos TPC de acordo com Abelson (1990).

Sinais	Ausente	Suave	Moderado	Grave	Muito grave
Hiperémia	0	1	2	3	
Quemose	0	1	2	3	
Epífora	0	1	2	3	
Prurido	0	1	2	3	
Classificação final _____					
Classificação final ≥6 – não são instiladas concentrações maiores do alergénio. Teste positivo; Classificação final <6 – instilar uma concentração de alergénio superior, até que o TPC seja positivo ou se atinja a concentração máxima. Se a classificação final permanecer <6, o TPC é considerado negativo; Olho controlo ≥6 – teste inválido.					

c) Tratamento pós-teste

Após o TPC foi instilada no olho teste, uma gota de acetato de dexametasona numa concentração a 0.1 % (Dexaval-O®, Tecnifar, Lisboa, Portugal). Os animais com TPC positivos mantiveram-se em observação durante as duas horas seguintes.

2.5. Imunoterapia alergénio-específica *rush*

Todos os 15 animais foram submetidos a um regime de ITAEr para Df, cuja fase de indução consistiu na administração SC de doses crescentes do alergénio a cada 30 minutos, atingindo-se a manutenção logo no primeiro dia, passadas 4 horas e meia de iniciado o protocolo. As injeções de manutenção foram administradas mensalmente.

Após 2 meses de tratamento, ao dia 60 (momento da 2ª injeção de manutenção), os animais foram reavaliados quanto ao seu prurido e CADESI-03 e sujeitos a novo TPC.

O esquema de ITAEr seguido encontra-se representado na tabela nº 5.

Antes do início da ITAEr todos os pacientes foram submetidos a exame de estado geral e cateterizados por via central. Os animais foram continuamente monitorizados durante todo o processo, em ambiente hospitalar, dispondo-se de fármacos e de equipamentos de emergência a ser prontamente utilizados em caso de reacção adversa.

Tabela nº 5 – Protocolo de ITAEr usado no estudo

Protocolo para Tratamento de Indução

Dia	Horas	Observações	Frasco 1 (vial verde)	Frasco 2 (vial amarelo)	Frasco 3 (vial vermelho)
1	0 h		0.1 mL		
1	0.5 h		0.2 mL		
1	1.0 h		0.3 mL		
1	1.5 h		0.4 mL		
1	2.0 h			0.2 mL	
1	2.5 h			0.4 mL	
1	3.0 h			0.8 mL	
1	3.5 h				0.2 mL
1	4.0 h				0.4 mL
1	4.5 h				0.8 mL

Protocolo para Tratamento de Manutenção

30	-				0.8 mL
60	-				0.8 mL
...					0.8 mL

2.6. Análise estatística

Para a análise estatística foram considerados os dados recolhidos dos 15 pacientes. As variáveis tidas em conta foram as classificações de CADESI-03, os valores de prurido cutâneo, os *scores* de CA, e as pontuações dos TPC antes e após 2 meses de ITAEr.

Os dados obtidos foram tratados com o programa SPSS Statistics®, versão 21 para Windows e a avaliação da amostra em estudo baseou-se em métodos de análise de estatística descritiva.

Relativamente aos valores de CADESI-03, prurido, *scores* de CA e TPC, são apresentados a média e desvio padrão antes e depois do tratamento. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar as relações entre o *score* de CA (classificação ocular final) e o prurido ocular, a gravidade lesional da região da cabeça e o envolvimento corporal da DAC (avaliadas pelo CADESI-03). O teste de correlação bilateral foi considerado significativo sempre que $p < 0.05$.

Para avaliar as diferenças entre os valores de CADESI-03 e prurido e as pontuações obtidas nos TPC (considerando a concentração 0.4 mL/BU), antes e após a ITAEr, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0.05$.

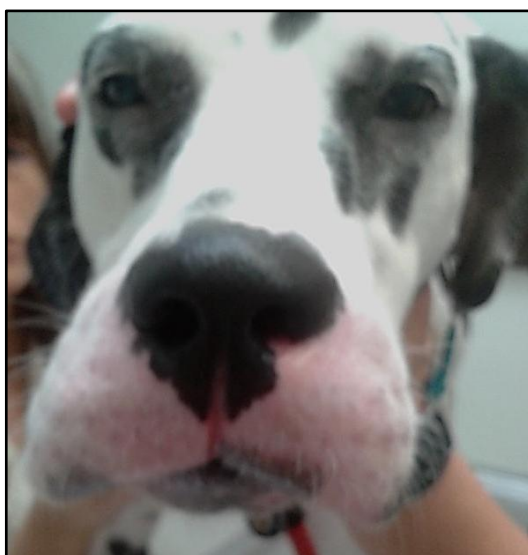
3. Resultados

3.1. Fase I

3.1.1. Caracterização da amostra

De todos os animais considerados potenciais candidatos a integrar o estudo, apenas um paciente se viu obrigado a abandoná-lo devido à ocorrência de uma reação sistêmica durante a fase de indução da ITAEr. A reação adversa ocorreu após a segunda injeção do vial amarelo (0.4 mL) e fez-se representar por prurido intenso na região perilabial e angioedema. Não houve, contudo, alteração dos sinais vitais do paciente, procedendo-se de imediato à administração intravenosa de dexametasona em dose de emergência (0.5 mg/kg) (figura nº 9).

Figura nº 9 – Cão com angioedema desencadeado pela ITAEr (original)



No total, 15 cães com DAc foram incluídos no estudo. Destes, 60% eram machos (9/15) e 40% (6/15) fêmeas. A média de idades foi de 3.7 anos, tendo a maioria dos animais (60%) uma idade igual ou superior a 4 anos. Apenas 1 cão (7%) apresentou menos de 12 meses de idade.

Foram incluídas no estudo 9 raças diferentes, correspondendo a 11 dos 15 animais em estudo (73%). As raças Bulldog Francês e Pastor Alemão foram as mais representadas, com 2 casos cada. As seguintes fizeram-se representar unicamente por 1 exemplar, entre elas: Bulldog Inglês, West Highland White Terrier, Serra D'Aires, Grand' Danois, Shih-Tzu e Pitbull. Os restantes 4 animais (27%) não pertenciam a qualquer raça específica.

3.1.2. Resultados da avaliação dermatológica

Com o intuito de avaliar os efeitos da ITAEr sobre os sinais dermatológicos recorreu-se à escala CADESI-03, um método validado e actualmente o único recomendado para a avaliação objectiva do *score* lesional em cães com DAc (Olivry *et al.*, 2007) .

Considerando o CADESI-03 dos 15 pacientes avaliados, verificou-se que a média e o desvio-padrão foram de 122.80 ± 55.11 . O grau de prurido cutâneo, avaliado pelo dono, foi em média de 8.8 ± 0.86 .

3.1.3. Resultados da avaliação oftalmológica

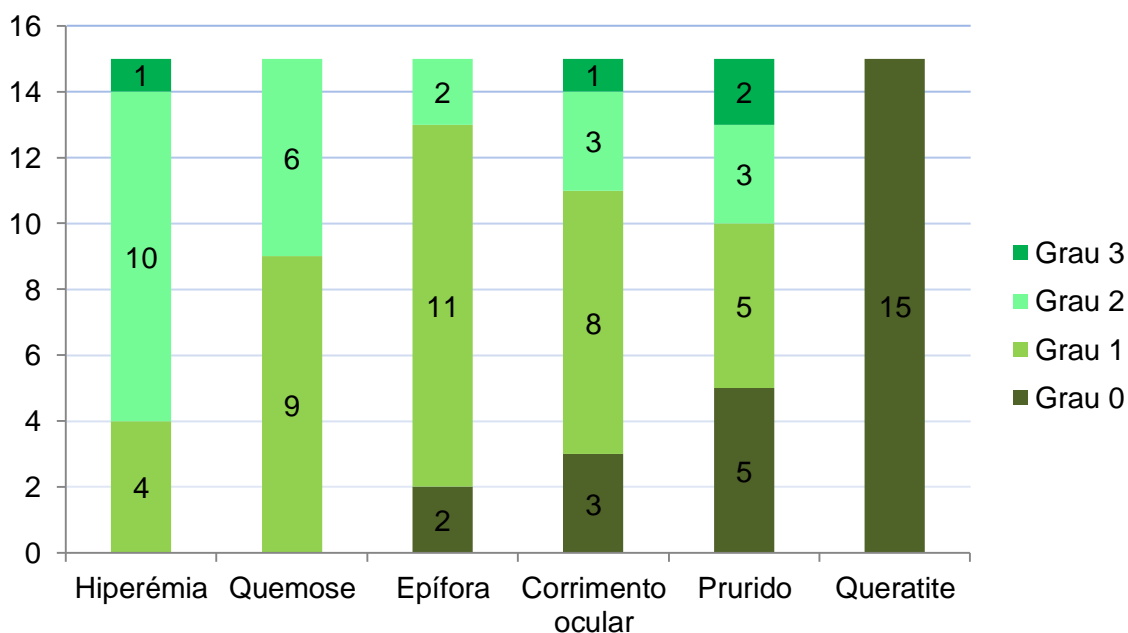
Relativamente à classificação ocular final (*score* de CA), a média e desvio-padrão dos 15 animais que integraram a amostra foram de 6.53 ± 1.92 .

A sintomatologia ocular foi predominantemente bilateral simétrica, embora o número de casos assimétricos tenha sido considerável ($n=6$). Não se verificaram quadros unilaterais.

Os sinais oculares observados foram, por ordem decrescente: hiperémia conjuntival e quemose 100% (15/15); epífora 87% (13/15); corrimento ocular 80% (12/15); e prurido ocular 78% (10/15), não tendo sido detectado qualquer caso de queratite. Um dos pacientes foi diagnosticado com conjuntivite folicular unilateral.

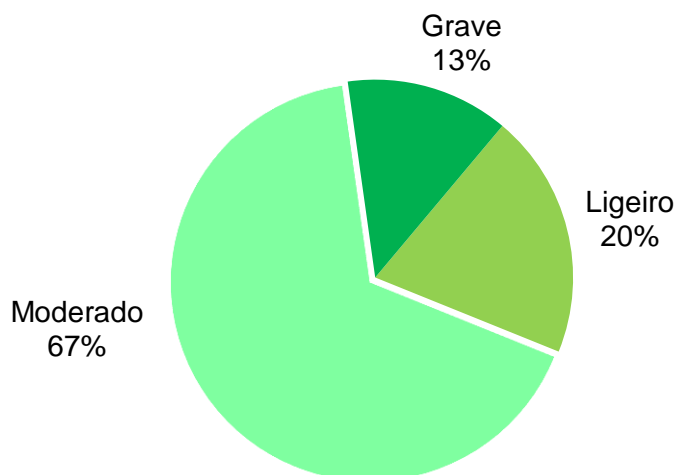
A gravidade e frequência dos sinais oculares são apresentadas na figura nº 10.

Figura nº 10 – Distribuição e gravidade dos sinais oculares na população



Os animais obtiveram uma classificação global do envolvimento ocular, cuja distribuição pode ser consultada na figura nº 11. Todos os elementos da amostra revelaram algum grau de envolvimento ocular, não tendo sido observados casos muito graves.

Figura nº 11 - Classificação final do envolvimento ocular



3.1.4. Correlação entre variáveis

Um dos objectivos do presente estudo foi avaliar o grau de envolvimento ocular em pacientes com DAc e relacioná-lo com a gravidade da mesma. A realização do teste de Spearman, entre as 4 variáveis (prurido ocular, CADESI-03 cefálico, CADESI-03, classificação ocular final), deu origem aos seguintes resultados (tabela nº 6).

Tabela nº 6 – Correlação entre o CADESI-03, o prurido ocular e a classificação ocular final

Teste de Spearman	Relação com a classificação ocular final		
	Coefficiente de correlação	Significância	N
CADESI-03	-0.548 ⁽¹⁾	0.035	15
CADESI-03 cefálico	0.066	0.814	15
Prurido ocular	0.68 ⁽²⁾	0.005	15

(1) Correlação significativa ao nível 0.05 (2-tailed); (2) Correlação significativa ao nível 0.01 (2-tailed)

Considerando os valores de correlação obtidos, verificamos que a classificação ocular final se relacionou tanto com o prurido ocular como com o CADESI-03. Enquanto o score de CA e o prurido ocular apresentaram uma correlação positiva ($p < 0.01$), o CADESI-03 e a classificação ocular final correlacionaram-se negativamente ($p < 0.05$), ou seja, o aumento da gravidade da DAc correspondeu a um decréscimo do envolvimento ocular. A correlação entre o CADESI-03 cefálico e a classificação de CA não foi estatisticamente significativa ($p=0.814$). Adicionalmente aos valores que se encontram na tabela foi também observada

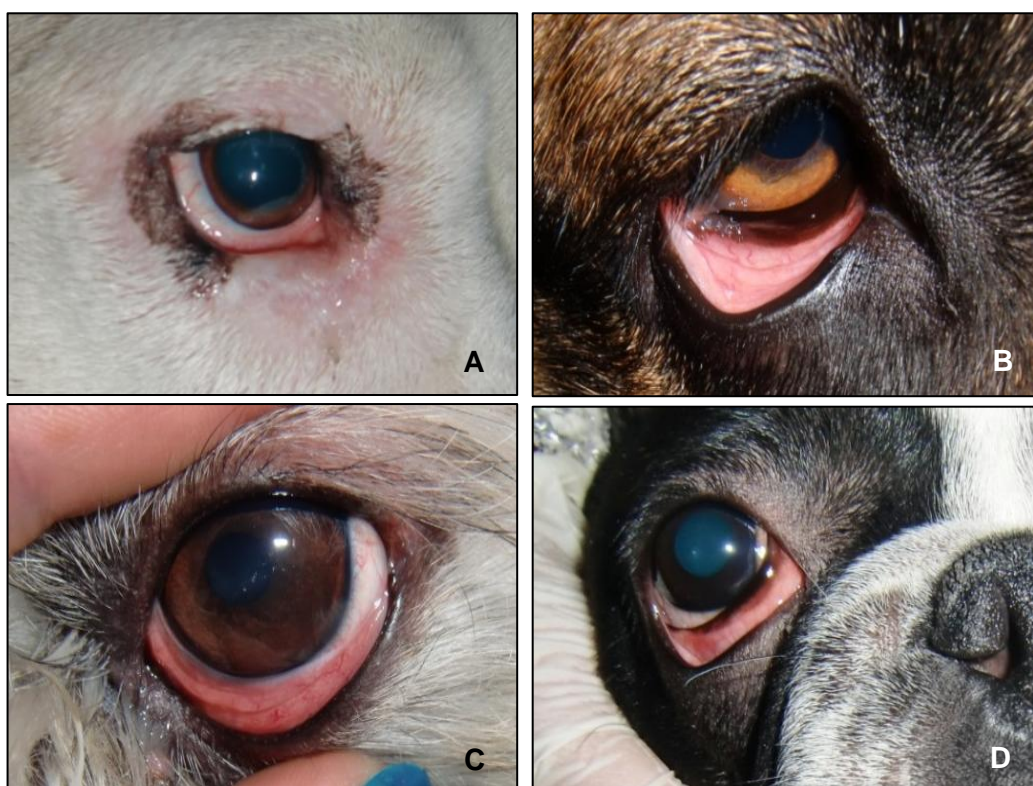
uma correlação significativa ao nível 0,01 entre o grau de CA e o corrimento ocular (coeficiente de correlação 0.82; significância 0.07).

3.1.5. Resultados do TPC

No início do estudo todos os animais (n=15) apresentaram um TPC positivo (≥ 6), com 87 % (13/15) a responder positivamente à concentração de 0.4 BU/mL. Os restantes pacientes mostraram uma classificação positiva à menor concentração (0.08 BU/mL). As reacções desencadeadas foram predominantemente ligeiras e moderadas (figuras nº 12 e 13) e o prurido ocular foi o sinal menos observado. A média e desvio padrão das classificações oculares obtidas no TPC foram de 6.73 ± 0.70 . Não existiram TPC positivos no olho controlo e, assim, todos os testes foram considerados válidos. Durante a provocação não foram notadas reacções adversas (locais ou sistémicas), nem houve exacerbação dos sinais clínicos.

Como todos os pacientes revelaram um teste positivo à concentração de 0.4 BU/mL, esta foi a concentração considerada aquando do cálculo das estatísticas relativas aos TPC antes e após a ITAer.

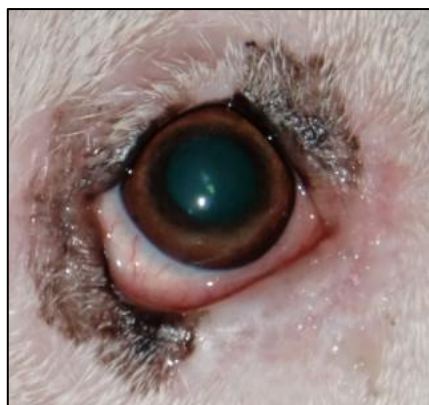
Figura nº 12 – Sinais de conjuntivite alérgica após TPC (original)



Legenda: A – Olho de Pitbull com sinais de hiperémia conjuntival, quemose e epífora marcadas. São ainda visíveis eritema e alopecia da região periorcular; B – Olho de Pastor Alemão exibindo hiperémia conjuntival, quemose e epífora; C – Olho de Shih-Tzu com hiperémia conjuntival e quemose moderadas. Note-se a presença de corrimento mucoso e de eritema periorcular. É também visível

algum grau de alopecia periocular na região palpebral superior; D – Olho de Bouledog Francês exibindo hiperémia conjuntival, quemose e alopecia periocular.

Figura nº 13 – Classificação dos sinais de conjuntivite alérgica desencadeados pelo TPC (original)



Antes do TPC	Classificação
Hiperémia (0-3)	1
Quemose (0-3)	1
Epífora (0-3)	1
Prurido (0-4)	0
Score Total (0-13)	3



TPC a 0.08 BU/mL	Classificação
Hiperémia (0-3)	2
Quemose (0-3)	1
Epífora (0-3)	1
Prurido (0-4)	0
Score Total (0-13)	4



TPC a 0.4 BU/mL	Classificação
Hiperémia (0-3)	3
Quemose (0-3)	2
Epífora (0-3)	2
Prurido (0-4)	0
Score Total (0-13)	7

3.2. Fase II

Com o intuito de avaliar o efeito da ITAEr sobre os sinais oculares e dermatológicos, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Ao comparar as classificações relativas aos TPC, o grau de prurido e os valores de CADESI-03 antes e após o tratamento, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($p < 0.005$).

3.2.1. Resultados da avaliação dermatológica

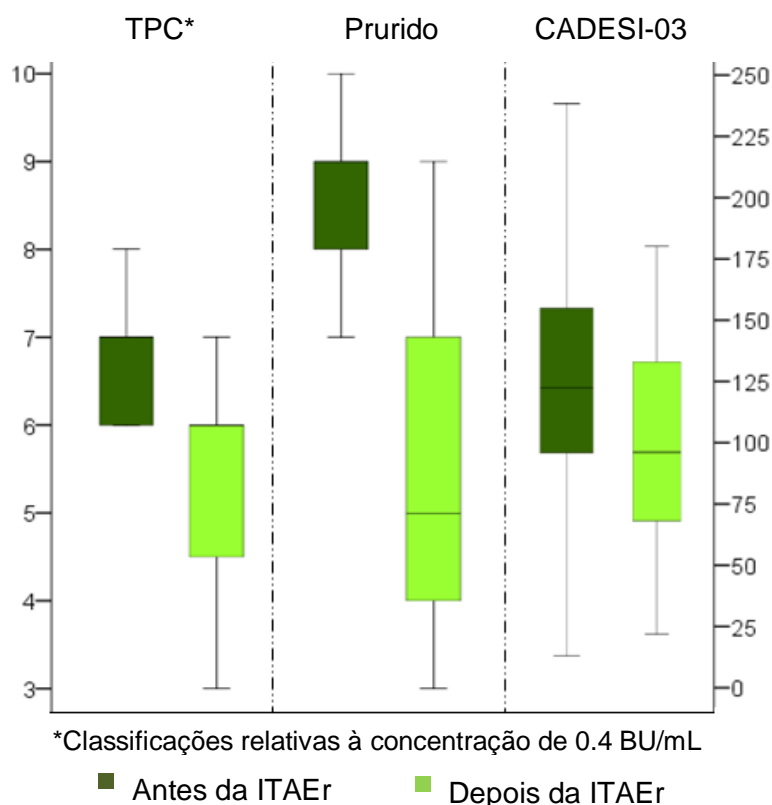
Consoante a proporção do decréscimo das classificações da gravidade lesional, a resposta à ITAEr foi considerada: favorável – reduções $\geq 50\%$ (resolução parcial dos sinais da DAC); razoável – reduções de 25-49%; pouco satisfatória – reduções $< 25\%$; sem resposta – aumento ou inalteração do CADESI-03.

A generalidade da amostra (13/15) exibiu um CADESI-03 mais baixo após a ITAEr, mas apenas 1 elemento (7%) viu o seu score lesional reduzir-se em mais de 50%. Em 7 animais (47%) a resposta ao tratamento foi razoável e em 5 (33%) o decréscimo das classificações foi $< 25\%$. Dois pacientes (13%) não responderam ao tratamento, o que se reflectiu num agravamento do seu score lesional. Ao comparar os valores obtidos, antes e após a ITAEr, verificou-se que o CADESI-03 se alterou de 122.80 ± 55.11 para 97.67 ± 43.95 , sendo a diferença entre os dois grupos estatisticamente significativa ($p < 0.005$).

O grau de prurido cutâneo decresceu de 8.80 ± 0.86 para 5.70 ± 2.09 ($p < 0.001$). Após 2 meses de ITAEr, 40% dos animais (6/15) exibiram uma redução $\geq 50\%$, 20% da amostra um decréscimo entre 25-49% e 4 pacientes (26%) uma diminuição $< 25\%$. Num animal (7%) o grau de prurido manteve-se inalterado e num outro intensificou-se.

A figura nº 14 mostra a distribuição das classificações relativas ao TPC, prurido cutâneo e CADESI-03 antes e após o tratamento.

Figura nº 14 – Classificações do TPC, prurido cutâneo e CADESI-03 antes e depois da ITAEr

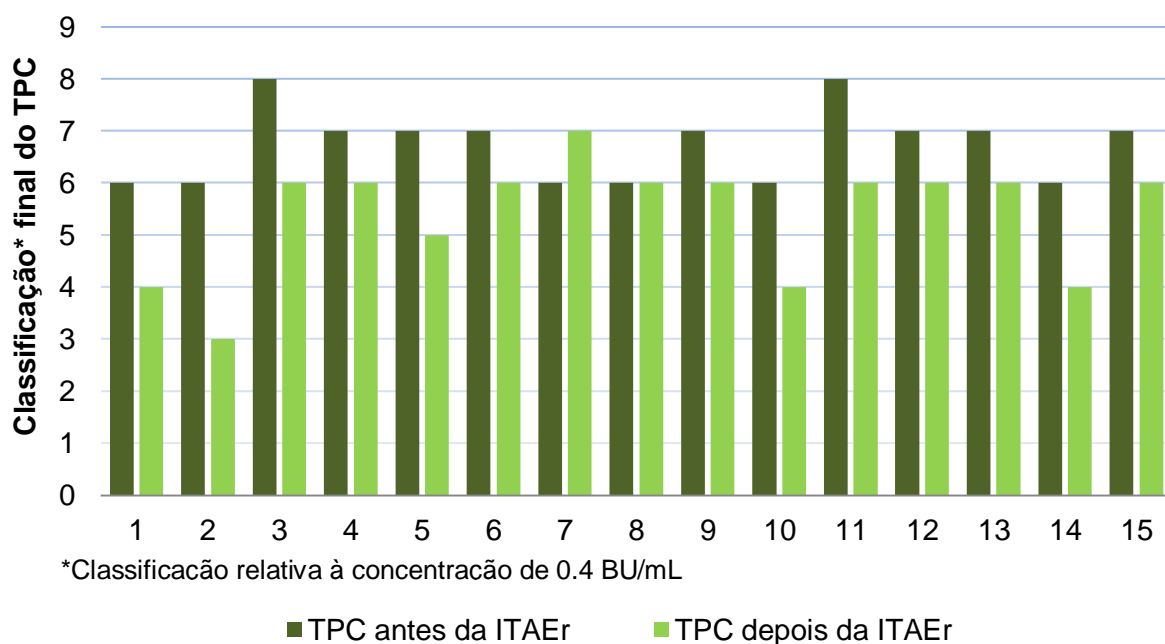


Analisando a figura nº 14, é possível observar um decréscimo de todos os parâmetros. Os valores do prurido que anteriormente variavam entre 7 e 10 (75% dos valores entre 7 e 9), depois da ITAEr encontraram-se compreendidos entre 3 e 7 em 75% dos animais. Do mesmo modo, também se verificou uma diminuição da gravidade dos sinais dermatológicos, ou seja, na maioria dos cães, o CADESI-03 após ITAEr foi inferior.

3.2.2. Resultados do TPC

De acordo com os resultados obtidos (figura nº 15), é possível constatar que 87% dos animais (13/15) apresentaram classificações finais mais baixas à segunda provocação, ou seja, após terem sido submetidos a ITAEr. Um paciente (7%) sofreu um agravamento dos sinais, enquanto noutro o TPC se manteve inalterado. A média e desvio padrão da classificação ocular final foi de 5.40 ± 1.12 ($p < 0.002$), ou seja, revelou-se negativa (< 6).

Figura nº 15 - Classificações finais do TPC antes e depois da ITAEr



Se antes da ITAEr a totalidade da amostra apresentou um TPC positivo à solução de 0.4 BU/mL, após o tratamento mais do que um quarto da amostra (33%) não reagiu a esta concentração (TPC < 6). Apesar de 67% dos animais (10/15) ter apresentado um resultado positivo à concentração previamente considerada, em 80% destes pacientes as classificações oculares finais foram mais baixas.

Na tabela nº 7 encontram-se especificadas as concentrações alergénicas que originaram uma resposta positiva antes e após o tratamento, bem como os animais cujo TPC se revelou negativo (TPC <6). Enquanto 8 pacientes (53%) mantiveram um TPC positivo à concentração anteriormente utilizada, 4 (27%) reagiram à concentração imediatamente superior e em 3 cães (20%) o TPC revelou-se negativo.

Tabela nº 7 – Concentrações que desencadearam um TPC positivo antes e depois da ITAE

Concentração do extracto alergénico	TPC antes da ITAE	TPC depois da ITAE
Sem resposta	0	3
Concentração mínima (0.08 BU/mL)	2	0
Concentração média (0.4 BU/mL)	13	10
Concentração máxima (2 BU/mL)	0	2

4. Discussão

4.1. Caracterização da amostra

Os princípios da boa prática clínica e os critérios de inclusão foram escrupulosamente cumpridos para que os resultados obtidos fossem o mais fidedignos possíveis. A raça, a idade, o sexo e o peso do animal, assim como a gravidade e a duração da doença não foram um critério de inclusão, de forma a garantir a representatividade da amostra em estudo. Por tal, sempre que um animal com DAc e sinais de CA se apresentasse à consulta, e cuja intenção fosse dar início à ITAE, era proposto aos donos a sua participação no presente trabalho.

Devido a questões éticas, e dado o desenho experimental do nosso estudo, não nos foi possível a integração de um grupo controlo, o que aumentaria em muito a fiabilidade dos resultados. Uma vez que o mesmo teria de ser constituído por pacientes com DAc e CA concomitante, não seria clinicamente viável nem eticamente correcto privar tais animais de tratamento sistémico durante 2 meses.

4.2 Correlação entre variáveis

Na medicina veterinária a CA é um tema raras vezes abordado, sendo poucos os autores que referem ou se dedicam ao estudo do envolvimento ocular em pacientes com DAc.

Ao submeter um grupo de 24 cães com sensibilização a ácaros domésticos a TPC para Df e *D. pteronyssinus* (Dp), Lourenço-Martins e colaboradores (2011) não detectaram qualquer associação entre a gravidade das manifestações dermatológicas e oculares, mas concluíram que o grau de CA e as lesões cutâneas da região da cabeça se encontravam relacionadas. Apesar de, no nosso estudo, a correlação entre o grau de CA e o CADESI-03 cefálico não ter sido estatisticamente significativa ($r_s^3 = 0.07$, $p > 0.05$), é possível que o prurido periocular possa conduzir a um agravamento lesional desta região anatómica (Lourenço-Martins *et al.*, 2011).

À semelhança dos autores mencionados, os sinais de CA encontrados na amostra em estudo foram maioritariamente ligeiros e moderados, mesmo em pacientes cujo quadro dermatológico aparentava ser mais grave. Ao compararmos os valores de CADESI-03 e as classificações oculares, verificámos que quanto menos exuberante foi a CA maior foi a gravidade da DAc.

Como referido anteriormente, a exposição nasal desempenha um papel secundário no processo de sensibilização, sendo a via percutânea a que mais se relaciona com a gravidade e duração dos sinais clínicos, mesmos após o estímulo alérgico (Marsella *et al.*,

³ Índice de correlação

2006). É ainda possível que, no cão, determinadas áreas corporais se encontrem “pré-programadas” para desenvolver inflamação após a exposição a um alérgico, o que explicaria a distribuição lesional típica nestes pacientes e, conseqüentemente, uma predominância do envolvimento cutâneo na DAC (Marsella *et al.*, 2006, 2012). Adicionalmente, a hiperémia conjuntival nem sempre traduz a gravidade da doença ocular (Ofri, 2006), para além de que, apesar de bilateral, o envolvimento ocular pode não ser simétrico (Bielory, 2000a). Talvez por isso o grau de CA não reflecta a gravidade das lesões cutâneas, nem seja um bom indicador da severidade da DAC, embora se constitua uma comorbidade frequente.

O facto das manifestações oculares serem pouco exuberantes, e porque o envolvimento dermatológico é, na generalidade dos casos, o preponderante, podem estar na origem de um reduzido número de relatos de CA (Lourenço-Martins *et al.*, 2011). Compreende-se, assim, que seja dado uma maior ênfase aos sinais cutâneos no momento do diagnóstico da DAC, desvalorizando-se os restantes (Griffin & DeBoer, 2001).

A indiferença demonstrada face ao envolvimento ocular na DAC, tanto por clínicos como por proprietários, encontra-se bem reflectida no nosso estudo (n=15), visto apenas 1 paciente ter sido previamente consultado pelo serviço de oftalmologia, tendo-lhe sido prescrito tratamento anti-inflamatório.

4.3. Avaliação dermatológica

A par da evicção alérgica, uma ideia sedutora em teoria, porém difícil de pôr em prática, a ITAE é a única forma de tratamento específico disponível para pacientes atópicos (Malling & Weeke, 1993; Olivry *et al.*, 2010). Uma vez que 80% dos animais apresenta sintomatologia perene, carecendo de cuidados continuados durante todo o ano (Scott *et al.*, 2001), a ITAE constitui-se o tratamento de eleição da DAC, sendo um método eficaz e seguro na redução a longo prazo dos sinais da doença (Griffin & Hillier, 2001; Loewenstein & Mueller, 2009; Olivry *et al.*, 2010a). Esta é única medida de carácter preventivo capaz de alterar o curso natural da reacção alérgica e de impedir o desenvolvimento de futuras sensibilizações (Griffin & Hillier, 2001; Bousquet *et al.*, 2008; Olivry *et al.*, 2010; Calderon *et al.*, 2012).

Para a ITAE no cão encontram-se disponíveis vários protocolos (sistemas convencionais *versus* acelerados/*rush* e esquemas com “doses baixas” *versus* “doses altas”), mas não existem dados que permitam concluir a superioridade de um em relação aos outros (Loewenstein & Mueller, 2009).

O esquema *rush* praticado no nosso estudo assemelha-se ao descrito por Hillier (2002), autor que afirma utilizá-lo há anos sem que alguma vez tenha observado uma reacção adversa ao tratamento. No entanto, a fase de indução da ITAEr deve ser administrada sob

vigilância médica, e o MV deve ter sempre presente que, apesar de raras, as reacções sistémicas podem ocorrer (Hillier, 2002).

Num outro estudo, no qual 30 cães foram submetidos a ITAEr intradérmica segundo um esquema semelhante ao nosso, 27% dos animais desenvolveram reacção sistémica, o que obrigou à interrupção prematura do tratamento (Mueller & Bettenay, 2001).

4.3.1. Efeitos da ITAEr no CADESI-03

Outros autores obtiveram resultados mais favoráveis quando, ao avaliar a eficácia da ITAE em pacientes com DAc, 53% a 64% dos animais apresentaram uma remissão parcial dos sinais ($\geq 50\%$) (Nuttall *et al.*, 1998; Hillier & Kwochka, 2002; Schnabl *et al.*, 2006).

Em 2012, Kovse e colaboradores submeteram um grupo de 11 cães atópicos a 8 meses de ITAE, procedendo à reavaliação dos seus CADESI-03 mensalmente. Após 2 meses de tratamento, 45.5% dos pacientes (5/11) viu o seu CADESI-03 decrescer mais de 25%, e ao fim de 3 meses 27.2% tinha atingido a remissão parcial. Contudo, dadas as variações dos protocolos de ITAE, e porque alguns animais foram sujeitos a várias formas de tratamento anti-inflamatório adicional, torna-se difícil fazer comparações entre estes e os nossos resultados. Durante os 8 meses em que decorreu o estudo, os autores reportaram a ocorrência de CA em 45.5% dos pacientes e no fim do tratamento o CADESI-03 reduziu-se para mais de metade em 36.4% dos casos. Como os efeitos da ITAE foram estatisticamente relevantes aos 6 meses de tratamento, aconselham que a resposta à imunoterapia só seja avaliada findo este período (Kovse *et al.*, 2012).

Uma vez que não foi permitido o uso de qualquer medicação durante o nosso estudo, exceptuando agentes glucocorticóides tópicos sem acção sistémica, é possível que o agravamento do *score* lesional tenha sido ocasionado pelo aparecimento de eventuais infecções secundárias. Mesmos em cães que se encontram a receber ITAE, as piodermatites bacterianas e as dermatites a *Malassezia* são complicações frequentes, contribuindo em muito para intensificação do prurido e, conseqüentemente, para o aumento das lesões secundárias. Hillier e Kwochka (2002) submeteram um grupo de 19 pacientes atópicos a ITAE e verificaram que 63% dos animais desenvolveram infecções dermatológicas nos primeiros 6 meses de tratamento, e que estas se mantiveram, embora em menor proporção, nos 6 meses de ITAE seguintes. Da mesma forma, Kovse e colaboradores (2012) viram-se obrigados a recorrer a farmacoterapia em 72.7% dos casos que se encontravam a receber ITAE.

Porque os efeitos da ITAE não são imediatos, alguns autores defendem que, numa fase inicial, esta forma de tratamento é, por si só, incapaz de controlar satisfatoriamente os sinais

da DAC, sendo muitas vezes necessário manter a terapêutica sintomática paralelamente à imunoterapia (Mueller & Jackson, 2003; Macdonald, 2006).

Apesar de alguns animais poderem exibir melhorias clínicas logo após 4 semanas de tratamento, na maioria dos casos só se atinge o benefício clínico máximo passados, pelo menos, 6 meses de ITAE (Mueller & Bettenay, 2001; Kovse *et al.*, 2012;).

A ITAEr constitui uma boa alternativa aos esquemas convencionais, cuja fase de indução é mais morosa e exige semanas de injeções diárias. A resposta dos pacientes é idêntica ou superior à demonstrada face aos sistemas convencionais e é expectável que os benefícios clínicos se observem numa fase mais precoce (Hillier, 2002).

4.3.2. Efeitos da ITAEr no prurido

A escala de prurido permite estimar a eficácia da ITAE muito mais rapidamente que qualquer *score* lesional, na medida que algumas lesões cutâneas (por exemplo, a liquenificação) requerem períodos de tempo alargados (mais de 6 semanas) para que se verifique a sua remissão (Olivry *et al.*, 2002). Contudo, comparativamente com o CADESI-03, este é um sistema mais subjectivo, sendo necessário avaliá-lo com maior rigor (Kovse *et al.*, 2012).

Num estudo recente, onde 205 cães com DAC foram submetidos a ITAE, a imunoterapia mostrou-se capaz de, por si só, controlar satisfatoriamente o prurido em 13.2% dos animais (Carlotti *et al.*, 2013). Infelizmente, o sistema utilizado para quantificar os sinais da doença não foi especificado e o protocolo e tempo de tratamento foram distintos dos nossos.

Kovse e colaboradores (2012), após 2 meses de ITAE, detectaram uma redução de 20% no prurido médio do grupo, uma descida bem inferior à conseguida através da administração de metilprednisolona durante igual período.

4.4. Avaliação oftalmológica

4.4.1. Efeitos da ITAEr no TPC

O TPC é amplamente utilizado na avaliação da alergia ocular no Homem, sendo considerado o *gold standard* no estudo da CA (Mortemousque *et al.*, 2004). Útil na pesquisa de novas terapêuticas anti-alérgicas, bem como na avaliação da eficácia de outras já existentes, o TPC permite quantificar a reacção alérgica através da cotação dos sinais desencadeados, da medição de mediadores no filme lacrimal ou por intermédio de exame citológico (Leonardi, 2013).

Em medicina veterinária são escassas as referências á utilização do TPC enquanto modelo da alergia ocular no cão e de nosso conhecimento não existem estudos que o tenham utilizado para avaliar os efeitos da ITAE em animais atópicos. A comparação dos nossos resultados encontra-se, por isso, dificultada. Para o efeito, a análise dos dados obtidos irá basear-se em estudos realizados no Homem

São vários os autores que confirmam a eficácia da ITAE no controlo da sintomatologia ocular, considerando-a uma terapêutica bem tolerada por pacientes alérgicos, mas poucos aqueles que se servem do TPC para avaliar a sua eficácia (Varney *et al.*, 1991; Zenner *et al.*, 1997; Leynadier *et al.*, 2001; Walker, Pajno, Lima, Wilson & Durham, 2001; Moller *et al.*, 2002; Frew *et al.*, 2006). A maioria dos estudos baseia os seus resultados na remissão dos sinais clínicos da doença e do *score* medicamentoso, na avaliação da reactividade cutânea ou nasal, ou no impacto na qualidade de vida do paciente.

Num estudo duplamente cego, envolvendo 21 pacientes com sinais de CA e TPC positivo a pólenes, verificou-se uma redução significativa da reactividade conjuntival quando, após 8 meses de ITAE, foram submetidos a nova provocação. Comparativamente com o grupo controlo, os indivíduos que se encontravam a receber tratamento exibiram uma menor sensibilidade ocular e mostraram tolerar concentrações antigénicas 10 vezes superiores à utilizada no início do estudo ($p < 0.001$). Simultaneamente, verificou-se uma redução da reactividade cutânea ($p < 0.02$), dos sinais oculares ($p = 0.02$) e da frequência do tratamento sintomático. Lamentavelmente, no que respeita ao TPC, são apenas referidas as concentrações médias às quais o grupo teste e placebo responderam positivamente ao fim de 8 meses de tratamento e nada mais é acrescentado (Varney *et al.*, 1991).

Num estudo ulterior, no qual se procedeu à avaliação da eficácia da ITAE sublingual num grupo de 26 pacientes com CA perene e sensibilização a Dp e Df, Mortemousque e colaboradores (2003) observaram uma diminuição das classificações finais relativas ao TPC e um aumento da concentração necessária para desencadear um teste positivo. Enquanto o limiar de positividade se situava nos 8.2 IR/mL, após 2 anos imunoterapia a concentração alérgica alterou-se para 21.7 IR/mL. 60% dos pacientes reagiu à concentração imediatamente superior, e em 17% da amostra o limiar aumentou em duas concentrações (Mortemousque, Bertel, Casamayor, Verin & Colin, 2003). De um modo geral, as pontuações dos TPC do grupo teste foram inferiores às do grupo controlo durante todo o período experimental, tendo sido notadas diferenças estatisticamente significativas aos 18 e 24 meses de ITAE (Mortemousque *et al.*, 2003). Mais uma vez, não é apresentada a classificação média dos TPC antes e após o tratamento, sendo difícil fazer-se comparações entre estes e os nossos resultados.

No nosso estudo, 4 animais (27%) apresentaram um TPC positivo à concentração imediatamente superior, não tendo sido registados aumentos de maior proporção na carga alérgica.

5. Conclusões, limitações do estudo e perspectivas futuras

O TPC revelou-se uma ferramenta útil, permitindo estabelecer uma nítida relação entre a afecção conjuntival e a exposição a alergénios para os quais se sabe existir sensibilização. Concluiu-se que o TPC pode ser utilizado na avaliação da eficácia da ITAEr e que esta forma de terapêutica pode beneficiar cães atópicos com CA associada, uma vez que a maioria dos animais demonstrou uma resolução parcial ou total sintomatologia ocular. Consideramos tratar-se de um procedimento seguro, sensível e de fácil execução, cuja utilização na medicina veterinária pode vir a tornar-se uma ferramenta preciosa no diagnóstico da CA na DAc e na monitorização da resposta à ITAE em pacientes atópicos.

Na tentativa de facilitar o reconhecimento das várias formas de CA, acreditamos que a criação de um conjunto de critérios clínicos; à semelhança do que existe para a DAc, ajudaria a uniformizar a abordagem destes pacientes, favorecendo o diagnóstico e tratamento da afecção e contribuindo para a melhoria da qualidade de vida do cão atópico.

Devido a questões éticas, não nos foi possível a integração de um grupo controlo no nosso estudo. Porque o grupo controlo teria de apresentar um quadro clínico em tudo idêntico ao do grupo teste, não lhe sendo permitido recorrer a qualquer tipo de tratamento sistémico ou à ITAEr, não seria clinicamente viável, tão pouco eticamente correcto, mantê-los durante 2 meses nas presentes condições. Acreditamos, contudo, que tal aumentaria em muito a fiabilidade dos resultados e permitiria um tratamento estatístico de dados mais escrupuloso. Por outro lado, o facto de os pacientes não poderem recorrer a tratamento sistémico acabou por limitar o tempo do estudo. Também o reduzido tamanho da amostra pode ter influenciado negativamente a representatividade da população. Por estas razões, seria interessante que de futuro surgissem outros estudos semelhantes com tempos de reavaliação mais alargados ou com reavaliações periódicas durante um determinado espaço de tempo.

Apesar da ITAE ser uma prática bem estabelecida no tratamento da DAc, não existe ainda um consenso acerca das medidas a adoptar, nem protocolos padronizados para a sua administração. A melhoria da qualidade e formulação dos extractos, em combinação com o uso dos TPC, decerto tornariam mais prática a avaliação da eficácia da ITAE.

6. Bibliografia

- Akkoc, T., Akdis, M. & Akdis, C. A. (2011). Update in the mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 3(1), 11-20.
- Bacon, A. S., Ahluwalia, P., Irani, A. M., Schwartz, L. B., Holgate, S. T., Church, M. K. & McGill, J. I. (2000). Tear and conjunctival changes during the allergen-induced early- and late-phase responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(5), 948-954.
- Bensignor, E., Marignac, G., Crosaz, O. & Cavana, P. (2013). Pruritus in dogs. *Veterinary Dermatology*, 24(2), 292.
- Bielory, L. (2000). Allergic and immunologic disorders of the eye. Part I: immunology of the eye. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(5), 805-816.
- Bielory, L. (2000a). Allergic and immunologic disorders of the eye. Part II: ocular allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(5), 1019-1032.
- Bielory, L. (2008). Ocular allergy overview. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 28(1), 1-23.
- Bielory, L. (2010). Allergic conjunctivitis and the impact of allergic rhinitis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 10(2), 122-134.
- Bielory, L. (2011). Ocular allergy. *Mount Sinai Journal of Medicine*, 78(5), 740-758.
- Bielory, L. & Friedlaender, M. H. (2008). Allergic conjunctivitis. *Immunology And Allergy Clinics of North America*, 28(1), 43-58,
- Bogacka, E., Górski, P., Groblewska, A., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Misiuk-Hojlo, M., Palczynski, C. & Zaleska-Zmijewska, A. (2008). Statement of the expert group of the Polish Allergological Association and the Polish Ophthalmological Society on the diagnosis and treatment of ocular allergic diseases. 1-84.
- Bonini, S., Bonini, S., Bucci, M. G., Berruto, A., Adriani, E., Balsano, F. & Allansmith, M. R. (1990). Allergen dose response and late symptoms in a human model of ocular allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 86(6), 869-876.
- Bonini, S., Sgrulletta, R., Coassin, M. & Bonini, S. (2009). Allergic conjunctivitis: update on its pathophysiology and perspectives for future treatment (Vol. 3). Tokyo: Springer.
- Bousquet, J. *et al.* (2008). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008. *Allergy*, 63(86), 8-160.

- Bousquet, J., Lockey, R. & Malling, H. J. (1998). Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102(4), 558-562.
- Buggiani, G., Ricceri, F. & Lotti, T. (2008). Atopic dermatitis. *Dermatologic Therapy*, 21(2), 96-100.
- Calderon, M. A., Penagos, M., Sheikh, A., Canonica, G. W. & Durham, S. (2012). Cochrane Review: Sublingual immunotherapy for treating allergic conjunctivitis. John Wiley & Sons, Ltd
- Calderon, M. A., Demoly, P., van Wijk, R. G., Bousquet, J., Sheikh, A., Frew, A., Scadding, G., Bachert, C., Malling, H. J., Valent, R., Bilo, B., Nieto, A., Akdis, C., Just, J., Vidal, C., Varga, E. M., Alvarez-Cuesta, E., Bohle, B., Bufe, A., Canonica, W.G., Cardona, V., Dahl, R., Didier, A., Durham, S. R., Eng, P., Montserrat Fernandez-Rivas, M., Jacobsen, L., Jutel, M., Kleine-Tebbe, J., Klimek, L., Lötval, J., Moreno, C., Mosges, R., Muraro, A., Niggemann, B., Pajno, G., Passalacqua, G., Pfaar, O., Rak, S., Senna, G., Senti, G., Valovirta, E., van Hage, M., Virchow, J. C., Wahn, U. & Papadopoulos, N. (2012). EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy. *Clinical and Translational Allergy*, 20(2), 1-8.
- Chigbu, G. I. (2009). The pathophysiology of ocular allergy: A review. *Contact Lens and Anterior Eye*, 32(1), 3-15.
- Cox, L., Nelson, H., Lockey, R., Calabria, C., Chacko, T., Finegold, I., Nelson, M., Weber, R., Bernstein, D. I., Blessing-Moore, J., Khan, D. A., Lang, D. M., Nicklas, R. A., Oppenheimer, J., Portnoy, J. M., Randolph, C., Schuller, D. E., Spector, S. L., Tilles, S. & Wallace, D. (2011). Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(1), S1-55.
- DeBoer, D. J. & Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 271-276.
- DeBoer, D. J. & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 239-249.
- Favrot, C. (2009). Clinical signs and diagnosis of atopic dermatitis. *EJCAP*, 19(3), 219-222.
- Durham, S. R., Emminger, W., Kapp, A., Colombo, G., de Monchy, J. G., Rak, S., Scadding, G. K., Andersen, J. S., Riis, B. & Dahl, R. (2010). Long-term clinical efficacy in grass pollen-induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(1), 131-138
- Favrot, C. (2009). Clinical signs and diagnosis of atopic dermatitis. *EJCAP*, 19(3), 219-222.

- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W. & Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 23-31.
- Foster, A. P., Jackson, H. A., Stedman, K., Knowles, T. G., Day, M. J. & Shaw, S. E. (2002). Serological responses to house dust mite antigens in atopic dogs while receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Dermatology* 13(4), 211–229.
- Fraser, M. A., Mcneil, P. E. & Gettinby, G. (2004). Examination of serum total IgG1 concentration in atopic and non-atopic dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 45(4), 186-190.
- Frew, A. J., Powell, R. J., Corrigan, C. J., Durham, S. R. & Group, U. K. I. S. (2006). Efficacy and safety of specific immunotherapy with SQ allergen extract in treatment-resistant seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(2), 319-325.
- Garcia-Ortega, P., Costa, B. & Richart, C. (1989). Evaluation of the conjunctival provocation test in allergy diagnosis. *Clinical and Experimental Allergy*, 19(5), 529-532.
- Gehlhar, M., Schlaak, M., Becker, W. M. & Bufe, A. (1999). Monitoring allergen immunotherapy of pollen-allergic patients: the ratio of allergen-specific IgG4 to IgG1 correlates with clinical outcome. *Clinical and Experimental Allergy*, 29, 497-506.
- Goldman, C., Rosser, E., Petersen, A., & Hauptman, J. (2010). Investigation on the effects of ciclosporin (Atopica) on intradermal test reactivity and allergen-specific immunoglobulin (IgE) serology in atopic dogs. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 393-399.
- Granet, D. (2008). Allergic rhinoconjunctivitis and differential diagnosis of the red eye. *Allergy and Asthma Proceedings*, 29(6), 565-574.
- Griffin, C. E. & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 255-269.
- Griffin, C. E. & Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 363-383.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114(3-4), 207-208.
- Hillier, A. (2002). Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 49(2), 210-224.
- Hillier, A. & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 289-304.

- Hillier, A. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 147-151.
- Hillier, A. & Kwochka, K. W. (2002). Allergen-specific immunotherapy in dogs with atopic dermatitis and house dust mite hypersensitivity: use of symptom/medication scores. *Veterinary Dermatology*, 13(4), 211–229.
- Hoffmann-Sommergruber, K., Ferreira, F. D., Ebner, C., Barisanit, T., L., K., Kraft, D. & Baumgartner, I. (1996). Detection of allergen-specific IgE in tears of grass pollen-allergic patients with allergic rhinoconjunctivitis. *Clinical and Experimental Allergy*, 26(1), 79-87.
- Hom, M. M. & Bielory, L. (2013). The anatomical and functional relationship between allergic conjunctivitis and allergic rhinitis. *Allergy Rhinol (Providence)*, 4(3), 110-119.
- Jaeger, K., Linek, M., Power, H. T., Bettenay, S. V., Zabel, S., Rosychuk, R. A. & Mueller, R. S. (2010). Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 118-122.
- Jutel, M., Akdis, M., Budak, F., Aebischer-Casaulta, C., Wrzyszczyk, M., Blaser, K. & Akdis, C. A. (2003). IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *European Journal of Immunology*, 33(5), 1205-1214.
- Jutel, M., Jaeger, L., Suck, R., Meyer, H., Fiebig, H. & Cromwell, O. (2005). Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(3), 608-613.
- Jutel, M., Watanabe, T., Akdis, M., Blaser, K. & Akdis, C. A. (2002). Immune regulation by histamine. *Current Opinion in Immunology*, 14, 735-740.
- Kari, O. & Saari, K. M. (2010). Updates in the treatment of ocular allergies. *Journal of Asthma and Allergy*, 3, 149-158.
- Keppel, K. E., Campbell, K. L., Zuckermann, F. A., Greeley, E. A., Schaeffer, D. J. & Husmann, R. J. (2008). Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123(3-4), 337-344.
- Kovse, M., Zrimsek, P. & Kotnik, T. (2012). Evaluation of the effect of allergen-specific immunotherapy in atopic dogs using the CADESI-03 scoring system: a methylprednisolone-controlled clinical study. *Veterinary Archive*, 82(3), 251-264.
- Krishna, M. T., & Huissoon, A. P. (2011). Clinical immunology review series: an approach to desensitization. *Clinical and Experimental Immunology*, 163(2), 131-146.

- La Rosa, M., Lionetti, E., Reibaldi, M., Russo, A., Longo, A., Leonardi, S., Tomarchio, S., Avitabile, T. & Reibaldi, A. (2013). Allergic conjunctivitis: a comprehensive review of the literature. *Italian Journal of Pediatrics*, 39(18), 1-8.
- Leonardi, A. (2013). Allergy and allergic mediators in tears. *Experimental Eye Research*, 117, 106-117.
- Leonardi, A., Motterle, L. & Bortolotti, M. (2008). Allergy and the eye. *Clinical and Experimental Immunology*, 153(1), 17-21.
- Leonardi, A., Bogacka, E., Fauquert, J. L., Kowalski, M. L., Groblewska, A., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Doan, S., Marmouz, F., Demoly, P. & Delgado, L. (2012). Ocular allergy: recognizing and diagnosing hypersensitivity disorders of the ocular surface. *Allergy*, 67(11), 1327-1337.
- Leynadier, F., Banoun, B., Dollois, B., Terrier, P., Epstein, M., Guinépain, M. T., Firon, D., Traube, C., Fadel, R. & Andre, C. (2001). Immunotherapy with calcium phosphate-adsorbed five-grass-pollen extract in seasonal rhinoconjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clinical and Experimental Allergy*, 31, 988-996.
- Lian, T. M. & Halliwell, R. (1998). Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66(3-4), 203-223.
- Lipiec, A., Rapiejko, P., Samolinski, B. & Krzych, E. (2005). Correlation between conjunctival provocation test results and conjunctival symptoms in pollinosis - preliminary report. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 12(1), 17-20.
- Loewenstein, C., & Mueller, R. S. (2009). A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 84-98
- Lourenço-Martins, A. M. (2010). Contribuição para o estudo da dermatite atópica canina na área metropolitana de Lisboa. Tese de doutoramento em Ciências Veterinárias, Especificidade de clínica. Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa.
- Lourenço-Martins, A. M., Peleteiro, M. C., Correia, J. H. D. & Morais-Almeida, M. (2010). Será o cão o melhor amigo de um atópico? Considerações sobre o potencial dos modelos caninos para o estudo da dermatite atópica no homem. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 18(5), 405-418.
- Lourenço-Martins, A. M., Delgado, E., Neto, I., Peleteiro, M. C., Morais-Almeida, M. & Correia, J. H. (2011). Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 14(4), 248-256.
- MacDonald, J. M. (2006). Allergen specific immunotherapy for atopy. In Proceedings of the North American Veterinary Conference. Orlando, Florida, 7-11 January, pp. 396-398.

- Malling, H. J. (1998). Immunotherapy as an effective tool in allergy treatment. *Allergy*, 53 (5), 461-472.
- Malling, H. J. & Weeke, B. (1993). Position paper: immunotherapy. *Allergy*, 48, 9-35.
- Marsella, R. (2010). Tolerability and clinical efficacy of oral immunotherapy with house dust mites in a model of canine atopic dermatitis: a pilot study. *Veterinary Dermatology*, 21(6), 566-571.
- Marsella, R. (2012). An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 3, 85-91 .
- Marsella, R. & Girolomoni, G. (2009). Canine models of atopic dermatitis: a useful tool with untapped potential. *Journal of investigative dermatology*, 129(10), 2351-2357.
- Marsella, R., Nicklin, C. & Lopez, J. (2006). Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *European Society of Veterinary Dermatology*, 17(5), 306-312.
- Marsella, R., Olivry, T., Carlotti, D. N. & the International Task Force On Canine Atopic Dermatitis. (2011). Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(3), 239-248.
- Marsella, R. & Samuelson, D. (2009). Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. *Veterinary Dermatology*, 20(5-6), 533-540.
- Marsella, R., Sousa, C. A., Gonzales, A. J. & Fadok, V. A. (2012). Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(2), 194-207.
- Möller, C., Dreborg, S., Ferdousi, H. A., Halken, S., Host, A., Jacobsen, L., Koivikko, A., Koller, D. Y., Niggemann, B., Norberg, L. A., Urbanek, R., Valovirta, E. & Wahn, U. (2002). Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109, 251-256.
- Morales, C. A. W., Duran, A. J. G., Delgado, J. A. & Hernández, A. T. (2008). Conjunctivitis alérgica. *MedUNAB*, 11(2), 168-175.
- Mortemousque, B. (2007). Les tests de provocation conjonctivaux. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 47(4), 318-322.
- Mortemousque, B., Bertel, F., Casamayor, J. D., Verin, P. & Colin, J. (2003). House-dust mite sublingual-swallow immunotherapy in perennial conjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clinical and Experimental Allergy*, 33(4), 464-469.
- Mortemousque, B., Jacquet, A., Richard, C., Depont, F., Colin, J. & Moore, N. (2004). Randomised double masked trial comparing the efficacy and tolerance of 0.05% mequitazine eye drops versus 0.05% levocabastine and placebo in allergic

- conjunctivitis induced by a conjunctival provocation test with *Dermatophagoides pteronyssinus*. *British Journal of Ophthalmology*, 88(3), 336-340.
- Mortemousque, B., Fauquert, J. L., Chiambaretta, F., Demoly, P., Helleboid, L., Creuzot-Garcher, C., Brémond-Gignac, D. & Groupe d'Ophtalmo-Allergologie. (2006). Conjunctival provocation test: recommendations. *Journal Francais D' Ophtalmologie*, 29(7), 837-846.
- Mueller, R. S., Veir, J., Fieseler, K. V., Steven, W. & Dow, S. W. (2005). Use of immunostimulatory liposome-nucleic acid complexes in allergen-specific immunotherapy of dogs with refractory atopic dermatitis – a pilot study. *Veterinary Dermatology*, 16(1), 61-68.
- Mueller, R. S., & Bettenay, S. V. (2001). Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extract (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *American Journal of Veterinary Research*, 62(3), 307-310.
- Nelson, H. S. (2007). Allergen immunotherapy: where is it now? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(4), 769-779.
- Nodtvedt, A., Bergvall, K., Emanuelson, U., & Egenvall, A. (2006). Canine atopic dermatitis: validation of recorded diagnosis against practice records in 335 insured Swedish dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48(8), 1-7.
- Núñez, J. A. & Cuesta, U. (2000). Local conjunctival immunotherapy: the effect of dermatophagoides pteronyssinus local conjunctival immunotherapy on conjunctival provocation test in patients with allergic conjunctivitis. *Allergologia et Immunopathologia*, 28(6), 301-306.
- Nuttall, T., Uri, M. & Halliwell, R. (2013). Canine atopic dermatitis – what have we learned? *Veterinary Record*, 172(8), 201-207.
- Nuttall, T. J., Thoday, K. L., van den Broek, A. H., Jackson, H. A., Sture, G. H. & Halliwell, R. E. (1998). Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. *Veterinary Record*, 143(5), 139–142.
- Ofri, R. (2006). Clinical approach to the dog with red eyes. In Proceedings of the World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA 2006, Prague, Czech Republic, 11-14 October, pp. 585-587.
- Olivry, T., Deboer, D. J., Prelaud, P., Bensignor, E. & the International Task Force On Canine Atopic Dermatitis (2007). Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology*, 18(6), 390-391.
- Olivry, T., Marsella, R., Iwasaki, T., Mueller, R. S. & the International Task Force On Canine Atopic Dermatitis (2007a). Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 18(2), 78-86.

- Olivry, T., DeBoer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T. & Prelaud, P. (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 233-248
- Olivry, T., Foster, A. P., Mueller, R. S., McEwan, N. A., Chesney, C. & Williams, H. C. (2010a). Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 4-22.
- Park, S. J., Ohya, F., Yamashita, K., Nishifuji, K. & Iwasaki, T. (2000). Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(9), 983-988.
- Power, H. T. (2000). Why do owners discontinue immunotherapy. *Veterinary Dermatology*, 11(1), 14.
- Reedy, L., Miller, W., & Willemse, T. (1997). Allergic skin Diseases of dogs and cats. Londres: Saunders Company.
- Riedi, C. A. & Rosario, N. A. (2009). Prevalence of allergic conjunctivitis: a missed opportunity? *Allergy*, 65(1), 131-132.
- Roosje, P. (2005). Canine atopic dermatitis: new concepts. *European Journal of Companion Animal Practice*, 15(2), 189-195.
- Sánchez, M. C., Fernández Parra, B., Matheu, V., Navarro, A., Ibáñez, M. D., Dávila, I. & Valero, A. (2011). Allergic Conjunctivitis. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 21(2), 1-19.
- Schnabl, B., Bettenay, S. V., Dow, K & Mueller, R. S. (2006). Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs. *Veterinary Record*, 58(3), 81-85.
- Scott, D. W., Miller, W. H., & Griffin, C. E. (2001). *Small Animal Dermatology* (6 ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Shaw, S. C., Wood J. L., Freeman, J., Littlewood, J. D. & Hannant, D. (2004). Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *American Journal of Veterinary Research*.65(7), 1014-1020.
- Shida, M., Kadoya, M., Park, S. J., Nishifuji, K., Momoi, Y. & Iwasaki, T. (2004). Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102(1-2), 19-31.
- Singh, K., Axelrod, S. & Bielory, L. (2010). The epidemiology of ocular and nasal allergy in the United States, 1988-1994. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(4), 778-783..
- Sondergaard, I., Poulsen, L. K., Osterballe, O. & Weeke, B. (1992). Evidence of a common regulation of IgE and IgG-subclass antibodies in humans during immunotherapy. *Allergy*, 47(5), 467-470.

- Sousa, C. A. & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3-4), 153-157.
- Trimmer, A. M., Griffin, C. E., Boord, M. J. & Rosenkrantz, W. S. (2005). Rush allergen specific immunotherapy protocol in feline atopic dermatitis: a pilot study of four cats. *Veterinary Dermatology*, 16(5), 324-329.
- Varney, V. A., Gaga, M., Frew, A. J., Aber, V. R., Kay, A. B., & Durham, S. R. (1991). Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer hay fever uncontrolled by antiallergic drugs. *British Medical Journal*, 302(6771), 265-269.
- Walker, S. M., Pajno, G. B., Lima, M. T., Wilson, D. R. & Durham, S. R. (2001). Grass pollen immunotherapy for seasonal rhinitis and asthma: a randomized, controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(1), 87-93.
- Werfel, T., Breuer, K., Rueff, F., Przybilla, B., Worm, M., Grewe, M. & Kapp, A. (2006). Usefulness of specific immunotherapy in patients with atopic dermatitis and allergic sensitization to house dust mites: a multi-centre, randomized, dose-response study. *Allergy*, 61(2), 202-205.
- Willemse, T. (1986). Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *Journal of Small Animal Practice*, 27(11), 771-778.
- Willemse, T., Bardagi, M., Carlotti, D. N., Ferrer, L., Fondati, A., Fontaine, J., Leistra, M., Noli, C., Ordeix, L., Scarpella, F., Schleifer, S., Sinke, J. & Roosje, P. (2009). Dermatophagoides farinae-specific immunotherapy in atopic dogs with hypersensitivity to multiple allergens: a randomised, double blind, placebo-controlled study. *Veterinary Journal*, 180(3), 337-342.
- Williams, D. C., Edney, G., Maiden, B. & Smith, P. K. (2013). Recognition of allergic conjunctivitis in patients with allergic rhinitis. *World Allergy Organization Journal*, 6(4), 1-4.
- Williams, H. C. (2013). Epidemiology of human atopic dermatitis-seven areas of notable progress and seven areas of notable ignorance. *Veterinary Dermatology*, 24(4), 3-9.
- Wittich, F. W. (1941). Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 12, 247-251.
- Wood, S. H., Clements, D. N., Ollier, W. E., Nuttall, T., McEwan, N. A., & Carter, S. D. (2009). Gene expression in canine atopic dermatitis and correlation with clinical severity scores. *Journal of Dermatological Science*, 55(1), 27-33.
- Zemann, B., Griot-Wenkz, M., Marti, E., Mayer, P., Eder, C., Nefzger, M., Schneider, H., Weck, A. & Liehl, E. (2002). Allergic pulmonary and ocular tissue responses in the absence of serum IgE antibodies (IgE) in an allergic dog model. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 87(3-4), 373-378.
- Zenner, H. P., Baumgarten, C., Rasp, G., Funchs, T., Kunkel, G., Hauswald, B., Ring, J., Effendy, I., Behrendt, W., Frosch, P. J., Przybilla, B., Brunner, F. X., Merk, H. F.,

Kapp, A., Schnitker, J. & Wolf, H. (1997). Short-term immunotherapy: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study of molecular standardized grass and rye allergens in patients with grass pollen-induced allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100(1), 23-29.

Zur, G., White, S. D., Ihrke, P. J., Kass, P. H. & Toebe, N. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992–1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology*, 13(2), 89-102.

Zur, G., White, S. D., Ihrke, P. J., Kass, P. H., & Toebe, N. (2002a). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 169 cases examined at the University of California, Davis, 1992–1998. Part II. Response to hyposensitization. *Veterinary Dermatology*, 13(2), 103-111.

7. Anexos

Anexo I - Declaração dos proprietários para participação do animal no estudo “Os testes de provocação conjuntival na avaliação da eficácia da imunoterapia alergénio-específica *rush* na dermatite atópica canina” (original).

Autorização para participação em estudo

Eu, abaixo assinado, declaro que autorizo o meu canídeo de nome _____ a participar no estudo “Os testes de provocação conjuntival na avaliação da eficácia da imunoterapia alergénio-específica *rush* na dermatite atópica canina”.

Por ser verdade,

Lisboa, ____ de _____ de 2013.

Anexo II – Critérios de Willemse (1986) e Prélaid (1998) para o diagnóstico clínico da DAC (adaptado de Willemse, 1986 e Favrot *et al.*, 2010).

Critérios de Willemse (1986)

Critérios principais (pelo menos 3 critérios)	Critérios secundários (pelo menos 3 critérios)
<ul style="list-style-type: none"> • Prurido • Morfologia e distribuição típica • Envolvimento facial e/ou digital ou • Liquenificação da zona flexora do tarso e/ou da zona extensora do carpo • Dermatite crónica ou recidivante • História individual ou familiar de atopia e/ou predisposição rácica 	<ul style="list-style-type: none"> • Início dos sintomas antes dos 3 anos de idade • Eritema facial e queilite • Conjuntivite bilateral • Piodermatite superficial por <i>Staphylococcus spp</i> • Hiperhidrose (secreção sudorípara excessiva) • Teste IDT positivo a alérgenos ambientais • Elevados níveis de IgE alérgeno-específica • Elevados níveis de IgGd alérgeno-específica

Critérios de Prélaid (1998)

Sensibilidade/especificidade para 3 critérios – 79% / 81%

- Aparecimento dos primeiros sintomas entre os 6 meses e os 3 anos de idade
- Prurido responsivo a corticoterapia
- Eritema da face interna dos pavilhões auriculares
- Pododermatite eritematosa cranial bilateral
- Queilite

Sensibilidade/especificidade para 3 critérios – 79% / 81%

Anexo III – Escala CADESI-03 (adaptado de *International Task Force on Atopic Dermatitis*, 2004)

Zona do corpo		#	Eritema	Liquenificação	Escoriações	Alopécia auto-induzida	Total
Face	Periauricular	1					
	Periocular	2					
	Perilabial	3					
	Focinho	4					
	Mento	5					
Cabeça	Dorsal	6					
Pavilhão Auricular	Face convexa esquerda	7					
	Face convexa direita	8					
	Face côncava esquerda	9					
	Face côncava direita	10					
Pescoço	Dorsal	11					
	Ventral	12					
	Lateral esquerdo	13					
	Lateral direito	14					
Axila	Esquerda	15					
	Direita	16					
Esterno	Tórax ventral	17					
Tórax	Dorsal	18					
	Lateral esquerdo	19					
	Lateral direito	20					
Inguinal	Esquerdo	21					
	Direito	22					
Abdómen	n.a.	23					
Lombar	Dorsal	24					
Flanco	Esquerdo	25					
	Direito	26					
Membro Anterior	Medial esquerdo	27					
	Medial direito	28					
	Lateral esquerdo	29					
	Lateral direito	30					
	Flexor ulnar esquerdo	31					
	Flexor ulnar direito	32					
	Flexor do carpo esquerdo	33					
	Flexor do carpo direito	34					
Extremidade Podal Anterior	Interdigital ventral esquerda	35					
	Interdigital ventral direita	36					
	Interdigital dorsal esquerda	37					
	Interdigital dorsal direita	38					
	Metacarpo palmar esquerdo	39					

	Metacarpo palmar direito	40					
	Metacarpo dorsal esquerdo	41					
	Metacarpo dorsal direito	42					
Membro Posterior	Medial esquerdo	43					
	Medial direito	44					
	Lateral esquerdo	45					
	Lateral direito	46					
	Flexor do joelho esquerdo	47					
	Flexor do joelho direito	48					
	Flexor do tarso esquerdo	49					
	Flexor do tarso direito	50					
Extremidade Podal Posterior	Interdigital ventral esquerda	51					
	Interdigital ventral direita	52					
	Interdigital dorsal esquerda	53					
	Interdigital dorsal direita	54					
	Metatarso palmar esquerdo	55					
	Metatarso palmar direito	56					
	Metatarso dorsal esquerdo	57					
	Metatarso dorsal direito	58					
Perianal	n.a.	59					
Perigenital	n.a.	60					
Cauda	Ventral	61					
	Dorsal	62					

Legenda: n.a. – não se aplica; 0 – Ausente; 1 – Ligeiro; 2 e 3 – Moderado; 4 e 5 – Grave.