

Acurácia de testes sorológicos no diagnóstico de sensibilidade a ácaros em cães com dermatite atópica

Diagnostic accuracy of serum assays for mite sensitivity in dogs with atopic dermatitis

Marcia Elizabeth Keim Magheli Lima^{1*}
Juliane Possebom de Oliveira²
Victor do Espírito Santo Cunha³
Marconi Rodrigues de Farias ⁴

¹ DCAOEGATO Assessoria Veterinária Ltda; Faculdade Qualittas, Évora, Portugal

² Dermatovet, Curitiba, PR, Brasil

³ Clínica Alergia Veterinária, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁴ Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR, Brasil

*Correspondência: dermatocaoegato@gmail.com

Recebido: 15 ago 2024 | Aceito: 25 fev 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/acad.2025.23003>

Rev. Acad. Ciênc. Anim. 2025;23:e23003

Resumo

As manifestações clínicas da dermatite atópica (DA) canina são geralmente associadas a reações da imunoglobulina-E (IgE) contra alérgenos ambientais, principalmente ácaros domiciliares. Testes sorológicos e intradérmicos são indicados para o seu diagnóstico, para direcionar o controle de alérgenos e a escolha dos protocolos de imunoterapia. O objetivo desse estudo foi avaliar acurácia, valores preditivos e concordância do teste sorológico que utiliza fração Fc do mastócito e de um teste policlonal, comparados com teste intradérmico (ID) de alta especificidade. Foram realizados testes ID em 78 cães (55 atópicos e 23 saudáveis). Os

testes sorológicos foram feitos em 20 cães atópicos com ID positivo e 19 cães saudáveis com ID negativo. O teste policlonal apresentou acurácia de 0,49, sensibilidade (S) de 74%, especificidade (E) de 26%, valor preditivo positivo (VPP) de 50% e valor preditivo negativo (VPN) de 45%. Para cada ácaro, a acurácia variou de 0,46 a 0,58, com S e E variando entre 36 e 78%. O teste FceR1-alfa apresentou acurácia de 0,46, S de 65%, E de 26%, VPP de 48% e VPN de 42%. A concordância entre os sorológicos avaliados foi moderada e não houve concordância entre estes e o teste ID. Os resultados indicam que os testes sorológicos avaliados não são indicados para a escolha de alérgenos para imunoterapia alérgeno-específica quando utilizado como referência um teste ID de alta especificidade.

Palavras-chave: Teste intradérmico. *Blomia tropicalis*. *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Dermatophagoides farinae*. Grau de concordância.

Abstract

Clinical signs of canine atopic dermatitis (AD) are usually associated with immunoglobulin-E (IgE) reactions against environmental allergens, especially house dust mites. Serological and intradermal testing are indicated

for AD diagnosis, allergen control, and the selection of allergen-specific immunotherapy protocols. This study aimed to evaluate accuracy, predictive values and agreement of a FceR1-alfa serological test and a polyclonal test, compared with a highly specific intradermal test (IDT). IDT was performed on 78 dogs (55 atopic, 23 healthy). Serological tests were conducted in 20 IDT positive atopic dogs, and in 19 IDT negative healthy dogs. Polyclonal test showed an accuracy of 0.49, sensitivity (S) of 74%, specificity (E) of 26%, positive predictive value (PPV) of 50%, and negative predictive value (NPV) of 45%. For each mite, the accuracy ranged from 0.46 to 0.58, with S and E varying from 36 to 78%. FceR1-alfa test showed an accuracy of 0.46, S of 65%, E of 26%, PPV of 48%, and NPV of 42%. Agreement between the evaluated serological tests was moderate, with no agreement between these and IDT. Accuracy parameters evaluated herein, suggest that the evaluated serological tests are not recommended for selecting allergens for allergen-specific immunotherapy protocols, when using a highly specific IDT as reference.

Keywords: Intradermal testing. *Blomia tropicalis*. *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Dermatophagoides farinae*. Correlation.

Introdução

A dermatite atópica (DA) em cães é uma doença tegumentar crônica, inflamatória, hereditária, pruriginosa, mediada por subtipos de células T e associada a alterações do microbioma cutâneo e da barreira epidérmica (Santoro et al., 2024). Suas manifestações clínicas podem estar associadas à sensibilização e à produção de IgE, direcionada principalmente a alérgenos ambientais, mormente os provenientes dos ácaros domiciliares *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Miller et al., 2013; Santoro, 2019) e *Blomia tropicalis* (Terra et al., 2004; Carmona-Gil et al., 2019).

Por ser uma condição multifatorial, o protocolo terapêutico da DA inclui variadas abordagens, como a dessensibilização por imunoterapia com alérgenos, uma modalidade frequentemente indicada em cães (Santoro, 2019; Tham e Olivry, 2022), sendo considerada opção segura e eficaz (Tham e Olivry,

2022). Testes sorológicos e intradérmicos não são totalmente sensíveis ou específicos (DeBoer e Hillier, 2001) e, por isso, não são indicados no estabelecimento diagnóstico da DA (Olivry et al., 2010), porém são boas ferramentas para o ajuste do manejo ambiental e a seleção dos extratos alergênicos para imunoterapia com alérgenos (DeBoer e Hillier, 2001; Thomas, 2017).

Em cães atópicos, o teste intradérmico (ID) é considerado o teste-referência no diagnóstico de sensibilização, principalmente por testar o órgão-alvo desta síndrome (Olivry et al., 2010; Miller et al., 2013; Carmona-Gil et al., 2019). Por serem mais rápidos e mais fáceis de serem realizados, muitos testes sorológicos foram desenvolvidos e são amplamente utilizados na prática veterinária para avaliação da sensibilização imunoalérgica em cães com DA (Hillier, 2002; Chong et al., 2024).

Testes com anticorpos policlonais são associados a resultados falso-positivos, sendo considerado mais específico na detecção de imunoglobulina-E (IgE) (Wassom e Grieve, 1998) o teste que detecta a presença de anticorpos contra a cadeia alfa do receptor de IgE de alta afinidade ao mastócito (FceR1-alfa) (Kristensen, 1998). Heska, seu fabricante, afirma que a ligação do receptor FceR1-alfa de cães, gatos, cavalos e humanos com epítomos diferentes de IgE ocorre em menos de 10% dos casos (Foster et al., 2003; Thom et al., 2010), o que fornece a este teste uma melhor especificidade.

Por serem testes bastante distintos entre si, uma vez que o intradérmico detecta IgE alérgeno-específica na pele e o teste sorológico identifica a IgE alérgeno-específica presente no soro, a avaliação da concordância entre ambos tem sido muito variada (Carlotti e Costragent, 1992; McCall, 1997; Hillier, 2002; Chong et al., 2024).

Por isso, para concluir o diagnóstico de sensibilização do paciente alérgico, recomenda-se considerar os valores preditivos positivos e negativos de ambos os testes alérgicos e usá-los em associação ao histórico e exame físico (Oppenheimer e Nelson, 2006; Cox et al., 2011; Chong et al., 2024).

O objetivo desse estudo foi avaliar concordância e parâmetros de acurácia de um teste sorológico policlonal e de outro que utiliza a cadeia FceR1-alfa do mastócito para identificação de sensibilidade aos ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae* e *B. tropicalis* em cães com DA.

Material e métodos

Desenvolveu-se um estudo experimental, transversal, controlado, não pareado e não randomizado, com cães domiciliados, vacinados e vermifugados regularmente, atendidos em clínicas veterinárias do Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina, subdivididos em dois grupos experimentais: cães com DA (G1) e cães hígidos (G2).

No G1 foram incluídos os cães atópicos que apresentaram seis dos oito critérios estabelecidos por Favrot et al. (2010), além da presença de prurido, mesmo após controle de outras dermatopatias pruriginosas, de origem infecciosa ou parasitária; rotina frequente de hidratação da pele com produtos hidratantes, emolientes, umectantes e não irritantes; exclusão da possibilidade de DA induzida pelo alimento, através de dieta de exclusão com proteína original, pelo prazo de oito semanas; e resultado positivo a pelo menos um dos ácaros testados (*D. pteronyssinus*, *D. farinae* e *B. tropicalis*) no teste ID utilizado. Foram excluídos os cães com DA que apresentaram: medicação prévia com glicocorticoides tópicos ou com anti-histamínicos pelo prazo de duas semanas; glicocorticoides sistêmicos por três semanas ou medicação com glicocorticoides de longa duração (injetáveis) pelo prazo de quatro semanas; fêmeas em período de estro, gestação ou lactação; ou cães com temperamento agitado ou agressivo, que impossibilitasse a contenção manual para a realização dos testes.

No G2 foram incluídos cães hígidos, domiciliados, sem histórico de dermatopatias progressas e de prurido, além de resultado negativo aos ácaros tes-

tados no teste ID utilizado. Foram excluídos, os cães saudáveis que apresentaram qualquer sinal clínico de doença tegumentar ou medicalização progressa conforme os critérios do G1.

Teste intradérmico

Na seleção dos extratos para a realização do teste ID foram utilizadas solução salina fenolada, como controle negativo, e solução contendo 0,1 mg/mL de histamina-base, como controle positivo.

Os extratos alergênicos foram manipulados a partir de soluções contendo corpo inteiro de ácaro, com as seguintes concentrações de alérgenos baseadas em estudo prévio de limiar irritativo (Ferreira, 2013): *D. pteronyssinus* - 1.000 PNU/mL (que corresponde a 100 UBE/ml); *D. farinae* - 500 PNU/ml (que corresponde a 100 UBE/ml); *B. tropicalis* - 125 PNU/ml (que corresponde a 50 UBE/ml). Tanto os controles positivo e negativo, quanto os extratos alergênicos, foram manipulados e fornecidos pelo FDA Allergenic (Laboratório de Antígenos, Rio de Janeiro, Brasil).

O teste ID foi realizado conforme o estabelecido por Hillier e DeBoer (2001), com tricotomia de região lateral do tórax, marcação dos pontos de aplicação com três centímetros de distância entre cada um, contenção manual por 5 minutos, sem a necessidade de anestesia ou sedação, para a aplicação intra-dérmica de 50 µL com seringas BD Ultra-fine® de 300 µL e agulhas de 6 mm de comprimento e 0,25 mm de diâmetro (Figura 1A). Quinze minutos após as aplicações, os cães foram novamente contidos por mais 5 minutos para a leitura do teste (Figura 1B).



Figura 1 - (A) Marcação dos pontos de aplicação dos extratos em região lateral do tórax para realização de teste intradérmico em um cão com dermatite atópica. (B) Pápulas e placas eritematosas formadas 15 minutos após aplicação dos extratos do teste no local das aplicações.

Os resultados foram avaliados através da aferição e registro da média dos diâmetros ortogonais das pápulas formadas. O ponto de corte foi estabelecido através do cálculo da média entre os valores obtidos para os controles positivo e negativo. Para os extratos testados, foram considerados resultados negativos os valores menores que o do ponto de corte estabelecido, e resultados positivos as reações papulares, no local da aplicação, com média igual ou superior ao valor do ponto de corte calculado para cada paciente.

Testes sorológicos

Para a realização dos testes sorológicos, os cães foram contidos manualmente para coleta de 10 ml de sangue, cujo soro foi separado e aliqotado em amostras de 500 μ L e mantido a -20°C até o momento da análise.

Protocolo do teste sorológico policlonal

Os mesmos extratos alergênicos do teste ID foram utilizados neste teste sorológico. Cada placa de poliestireno para ensaios ELISA (Costar 3590®, Corning Incorporated, EUA) foi dividida em quadrantes (Figura 2A). Em seguida, adicionou-se cada um dos extratos alergênicos, diluídos com solução tampão, 100 μ L por poço, com exceção do último quadrante e da última coluna da placa, os quais serviram como controles negativos para cada soro e para a placa, respectivamente. Em seguida, as placas foram incubadas durante a noite (2 a 8°C), lavadas com PBS-Tween (0,005%) e bloqueadas durante 90 minutos em temperatura ambiente com solução de albumina do soro bovino (BSA - Sigma) a 1%.

Após o bloqueio, foram aplicados 100 μ L por poço dos soros diluídos em BSA a 1%, em toda a placa, com exceção da primeira e última colunas, onde foram aplicados apenas BSA a 1% (100 μ L por poço), com objetivo de atuarem com controles do método. As placas foram então incubadas em temperatura ambiente por 60 minutos. Após lavagem, foram aplicados 100 μ L, por poço do conjugado, de anti-IgE canino, policlonal purificado de cabra, em toda a placa, com exceção da última coluna. As placas foram então incubadas em tempe-

ratura ambiente por 75 minutos. Em seguida, foram aplicados 100 μ L de substrato (KPL Peroxidase Substrate®, Gaithersburg, EUA) por poço, e as placas incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos. As reações foram paralisadas após 20 minutos com ácido fosfórico 1M (Figura 2B) e as leituras das placas realizadas em espectrofotômetro (leitor de ELISA) com filtro de 450 nm.

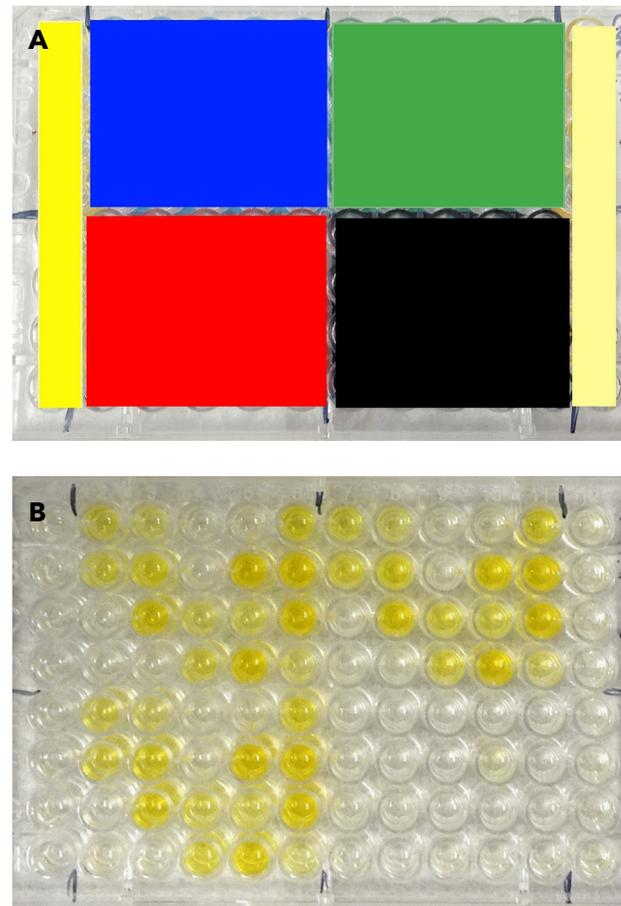


Figura 2 - (A) Divisão dos quadrantes da placa de ELISA. (B) Placa contendo amostras prontas para leitura no espectrofotômetro.

Protocolo do teste sorológico FceR1-alfa

Neste protocolo, utiliza-se a fração FceR1-alfa, de receptor de mastócito de humanos, que reconhece de forma específica a molécula de IgE e minimiza reações falso-positivas com outras imunoglobulinas.

As amostras foram processadas no laboratório TECSA, seguindo o protocolo padrão do teste Allercept®: 100 µl da amostra diluída (1:6) foram adicionados a microplacas revestidas e incubados durante a noite (16-18h) a 4-8 °C. Os poços foram então lavados com solução salina tamponada com Tris, contendo 0,05% de Tween-20 (TBST), e foram adicionados 100 µl do receptor FceR1a, devidamente diluído. Após 2 horas de incubação a 22 °C, os poços foram novamente lavados com TBST e 100 µl de estreptavidina-fosfatase alcalina (SA-AP) devidamente diluída foram adicionados. Após 60 minutos de incubação a 22 °C, realizou-se uma lavagem final (quatro vezes com TBST) e 100 µl de substrato p-NPP foram adicionados. A reação de cor enzimática foi interrompida após 60 minutos pela adição de 50 µl de cisteína 20 mM e a leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro, com filtro de 405 nm.

Interpretação do teste sorológico

A leitura das placas, realizada em espectrofotômetro, e a interpretação do teste sorológico policlonal foram realizadas considerando a média dos resultados obtidos em triplicata para cada soro (quadrantes 1, 2 e 3). A interpretação do teste sorológico FceR1-alfa foi realizada com base em um ponto de corte padrão, sendo consideradas reações positivas todas as maiores ou iguais a 150 unidades.

Análise estatística

Os parâmetros de acurácia dos testes sorológicos foram calculados conforme descrito por Pereira (1995). Para o cálculo da concordância entre os testes sorológicos, realizou-se análise de concordância kappa, conforme descrito por Fleiss (1981) e interpretado conforme Landis e Koch (1977).

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade do Paraná, sob o número de protocolo 833. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais de bem-estar animal.

Resultados

Teste intradérmico

O teste ID foi realizado em todos os 78 participantes deste estudo, sendo 55 cães do G1 e 23 cães do G2. Dos 55 cães com DA testados, 22 (40%) reagiram para algum dos três ácaros avaliados, enquanto 33 (60%) apresentaram reação negativa. Dos 23 cães saudáveis testados, apenas um (4%) apresentou reação positiva a algum dos ácaros avaliados no teste ID (*B. tropicalis*).

Testes sorológicos

Dos 22 cães com DA com resultado positivo no teste ID, foram selecionados aleatoriamente 20 soros para a realização dos testes sorológicos. Dos 22 cães saudáveis com resultado negativo no teste ID, houve perda amostral de três soros, sendo realizado o exame em 19 cães.

Dentre os 20 cães pertencentes ao G1, 14 (70%) foram positivos no teste ID para *D. pteronyssinus*, 11 (55%) para *B. tropicalis* e nove (45%) para *D. farinae*. No teste sorológico policlonal, sete (35%) cães com DA foram positivos para *D. pteronyssinus*, 14 (70%) para *D. farinae* e nove (45%) para *B. tropicalis*. Já no teste sorológico FceR1-alfa, de 20 cães com DA, 12 (60%) foram positivos para *D. pteronyssinus*, oito (40%) para *D. farinae* e nove (45%) para *B. tropicalis*.

Dentre os 19 cães pertencentes ao G2, 100% (19/19) apresentaram reação negativa no teste ID aos três ácaros avaliados, no entanto, houve reação positiva a algum dos três ácaros em 74% (14/19) dos soros pelo teste policlonal e em iguais 74% (14/19) dos soros testados pela metodologia FceR1-alfa. Houve reação negativa aos ácaros avaliados no grupo G2 em 26% (5/19) dos soros testados por ambas as metodologias.

Entre os cães do grupo G2, a avaliação individual da positividade a cada ácaro, dentre os soros testados pela metodologia policlonal, mostrou cinco (26%) reações a *D. pteronyssinus*, 13 (68%) a *D. farinae* e nove (47%) a *B. tropicalis*.

Entre os soros de cães saudáveis testados pela metodologia FceR1-alfa, houve oito (42%) reações positivas a *D. pteronyssinus*, nove (47%) a *D. farinae* e quatro (21%) a *B. tropicalis*.

Os parâmetros de acurácia e os valores preditivos foram calculados e as tabelas de contingência foram montadas, considerando reação a pelo menos um dos três ácaros testados (Tabelas 1 e 2) e a cada ácaro separadamente (Tabela 3). Os cálculos dos parâmetros de acurácia, em uma avaliação geral, considerando-se reação positiva a pelo menos um dos ácaros testados, estão dispostos na Tabela 4. A Tabela 5 descreve parâmetros de acurácia

e valores preditivos obtidos considerando a avaliação individual de resposta positiva a cada ácaro testado comparado com o teste intradérmico.

Avaliação da concordância dos testes realizados

A concordância entre os testes, considerando reação positiva a pelo menos um dos três ácaros testados, é demonstrada na Tabela 6.

Tabela 1 - Acurácia do teste sorológico policlonal, considerando reação positiva a pelo menos um dos três ácaros domiciliares testados (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*)

	Alérgicos	Saudáveis	Total
Policlonal +	14	14	28
Policlonal -	6	5	11
Total	20	19	39

Tabela 2 - Acurácia do teste sorológico FceR1-alfa, considerando reação positiva a pelo menos um dos três ácaros domiciliares testados (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*)

	Alérgicos	Saudáveis	Total
FceR1-alfa +	13	14	27
FceR1-alfa -	7	5	12
Total	20	19	39

Tabela 3 - Acurácia dos testes sorológicos policlonal e FceR1-alfa, considerando reação positiva a cada ácaro separadamente

Ácaros	Alérgicos	Saudáveis	Total
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>			
Policlonal +	5	5	10
Policlonal -	9	14	23
Total	14	19	33
<i>Dermatophagoides farinae</i>			
Policlonal +	7	13	20
Policlonal -	2	6	8
Total	9	19	28
<i>Blomia tropicalis</i>			
Policlonal +	6	9	15
Policlonal -	5	10	15
Total	11	19	30
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>			
FceR1-alfa +	8	8	16
FceR1-alfa -	6	11	17
Total	14	19	33
<i>Dermatophagoides farinae</i>			
FceR1-alfa +	4	9	13
FceR1-alfa -	5	10	15
Total	9	19	38
<i>Blomia tropicalis</i>			
FceR1-alfa +	5	4	9
FceR1-alfa -	6	15	21
Total	11	19	30

Tabela 4 - Parâmetros de acurácia e valores preditivos dos testes sorológicos policlonal e FceR1-alf, considerando reação positiva a pelo menos um dos três ácaros domiciliares testados (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*)

Parâmetros	Policlonal	FceR1-alfa
Sensibilidade (%)	74	65
Especificidade (%)	26	26
Valor preditivo positivo (%)	50	48
Valor preditivo negativo (%)	45	42
Acurácia	0,49	0,46

Tabela 5 - Parâmetros de acurácia e valores preditivos dos testes sorológicos policlonal e FceR1-alf, considerando reação positiva a cada ácaro separadamente

Ácaros	Policlonal	FceR1-alfa
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>		
Sensibilidade (%)	36	57
Especificidade (%)	74	58
Valor preditivo positivo (%)	50	50
Valor preditivo negativo (%)	61	65
Acurácia	0,58	0,58
<i>Dermatophagoides farinae</i>		
Sensibilidade (%)	78	44
Especificidade (%)	32	53
Valor preditivo positivo (%)	35	31
Valor preditivo negativo (%)	75	67
Acurácia	0,46	0,50
<i>Blomia tropicalis</i>		
Sensibilidade (%)	55	45
Especificidade (%)	53	79
Valor preditivo positivo (%)	40	56
Valor preditivo negativo (%)	67	71
Acurácia	0,53	0,67

Tabela 6 - Concordância entre os testes, com intervalos de confiança de 95%

Testes	kappa	p-valor de kappa	Interpretação da concordância
ID x policlonal	0,05 (0,34 a -0,24)	0,74	pobre
ID x FceR1-alfa	-0,09 (0,21 a -0,38)	*	inexistente
Policlonal x FceR1-alfa	0,52 (0,83 a 0,21)	0,01	moderada

Nota: ID = intradérmico. *Não é interpretável e não se aplica teste de significância.

Discussão

Os resultados do teste ID observados no grupo G2 demonstraram a especificidade da metodologia empregada, uma vez que apenas um dos cães saudáveis foi positivo a algum dos três ácaros testados. Similarmente, boa especificidade do teste ID foi demonstrada por Koebrich et al. (2012), que obtiveram 10,3% de reações positivas a ácaros em 17 cães saudáveis, utilizando concentração de histamina-base de 0,1 mg/mL e extratos alergênicos com 250 PNU/ml de ácaros da poeira domiciliar e de estocagem.

Importante ressaltar que a concentração baixa de histamina, utilizada em outros estudos, pode justificar os índices de resultados positivos ao teste ID, em cães com DA, superiores aos observados no presente estudo. Dados de publicações anteriores relatam o uso de concentração de histamina dez vezes menor ao utilizado no presente estudo.

Os parâmetros de acurácia encontrados neste estudo para o teste sorológico policlonal apresentaram baixa especificidade e VPP em cães com DA, similarmente ao observado em outros estudos (Codner e Lessard, 1993; Canning et al., 2021).

O ponto de corte individualizado, assim como os controles individuais de cada soro, é capaz de reduzir as chances de resultados falso-positivos nesta metodologia, no entanto, não causaram grande elevação na especificidade do teste policlonal avaliado. Isso pode decorrer da possibilidade de o reagente policlonal utilizado reconhecer alguns epítomos de IgG, além da IgE (Dérer et al., 1998), causando reações falso-positivas, o que influencia os cálculos dos parâmetros de acurácia (Canning et al., 2021).

Em adição, semelhante ao que foi demonstrado para testes *in vitro* em pacientes humanos (Mari et al., 1999), é possível que a enzima substrato *horse-radish peroxidase* (HRPO), do teste policlonal avaliado, seja capaz de interferir nos resultados, aumentando o número de falso-positivos devido à ligação com a IgE sérica. É possível, também, que as reações sorológicas falso-positivas geradas por carboidratos únicos (CCD), altamente antigênicos, encontrados em alérgenos de plantas e insetos, sejam os causadores de reação cruzada e polissensibilização dos testes sorológicos (Holzweber et al., 2013; Canning et al., 2021).

No passado, ainda era desconhecida a importância desta descoberta médica para os testes veterinários diagnósticos *in vitro* (DeBoer e Hillier, 2001; Canning et al., 2021). No entanto, recentemente, Olivry et al. (2024) mostraram que em uma porcentagem significativa dos cães estudados, o uso dos bloqueadores desses carboidratos antigênicos resultou na negativação completa das reações a todos os alérgenos que expressam CCD, indicando que, em alguns casos, o bloqueio CCD pode eliminar completamente reações cruzadas e fornecer resultados mais específicos ao teste sorológico.

Em relação ao teste sorológico de metodologia que utiliza a fração FceR1-alfa, os parâmetros de acurácia encontrados neste experimento foram discrepantes de muitas publicações, que relatam maiores parâmetros de acurácia (Cook et al., 1996; Bevier et al., 1997; McCall et al., 1997; Wassom e Grieve, 1998; Thom et al., 2010). Isso também pode resultar da falta de padronização metodológica, mostrada pelas diferenças das concentrações de histamina utilizadas no teste ID entre os estudos publicados.

Em testes intradérmicos, o uso de menores concentrações de histamina-base como controle positivo reduz o ponto de corte e aumenta a sua sensibilidade, o que pode elevar o cálculo da especificidade de um teste sorológico, como parece ter ocorrido com as muitas publicações que relatam maiores parâmetros de acurácia para os testes sorológicos, que os encontrados neste estudo (Cook et al., 1996; Bevier et al., 1997; McCall et al., 1997; Wassom e Grieve, 1998; Thom et al., 2010).

Já trabalhos desenvolvidos na Austrália, com teste sorológico de reagente FceR1-alfa, que utilizaram 0,1 mg/ml de histamina-base como controle positivo do teste ID de referência, apesar de não terem calculado os parâmetros de acurácia, encontraram 100% de reações falso-positivas (Roque et al., 2011). Estes achados sugerem baixa especificidade do método sorológico, quando comparado com teste ID de ponto de corte similar ao usado neste experimento.

Em um mecanismo semelhante, a especificidade reduzida encontrada para o teste sorológico de metodologia FceR1-alfa neste experimento pode estar relacionada à maior concentração de histamina-base do controle positivo no teste ID de alta especificidade, utilizado como referência.

A avaliação de resposta positiva a pelo menos um dos ácaros testados evidenciou aumento da acurácia e da especificidade e mostrou VPP maior que VPN. Contudo, considerando os resultados de cada ácaro separadamente, os resultados de VPN maior que VPP observados neste experimento divergem dos dados publicados por alguns pesquisadores (Ginel et al., 1998; Saevik et al., 2003).

Os resultados deste experimento mostram que a acurácia de *D. pteronyssinus* e de *B. tropicalis*, embora superiores a 50%, permaneceram baixas na avaliação individual para cada ácaro, e que a especificidade do teste policlonal é melhor para *D. pteronyssinus*, enquanto a do teste FceR1- alfa é melhor para *B. tropicalis*. Isso pode decorrer de fatores metodológicos especificamente relacionados a cada ácaro, mostrando que talvez a concentração ou a composição do extrato alergênico de um ácaro esteja mais adequada para seu reconhecimento sorológico que a de outro. Estudos futuros, portanto, devem considerar a identificação dos principais alérgenos de cada ácaro, envolvidos na sensibilização, e testá-los individualmente, uma vez que tal avaliação pode melhorar a especificidade e o VPP dos testes sorológicos.

São poucos os artigos que comparam dois testes sorológicos (Haemmerling e Weck, 1998), principalmente os que calculam sua acurácia. A análise das pesquisas a respeito mostra que testes sorológicos policlonais tendem a apresentar resultados menos específicos em comparação aos testes de metodologia monoclonal ou aos que utilizam a fração FceR1-alfa (Wassom e Grieve, 1998; Saevik et al., 2003).

No presente estudo, no entanto, os resultados de especificidade do teste policlonal foram similarmente baixos quando comparados aos resultados do teste de metodologia FceR1-alfa. Assim, a indicação desses testes sorológicos como triagem para escolha do protocolo de imunoterapia com alérgenos não foi acuraz, uma vez que muitos dos cães saudáveis avaliados apresentaram resultados falso-positivos e que o estabelecimento de protocolos de imunoterapia com alérgenos para animais não verdadeiramente sensibilizados pode agravar a doença clínica (Mueller, 2014). No entanto, esses testes sorológicos identificam a presença de IgE sérica contra determinado alérgeno, podendo indicar se houve exposição do animal com o alérgeno testado.

Por esse motivo, os testes sorológicos avaliados podem ser indicados para guiar protocolos de controle e exclusão ambientais.

A concordância encontrada entre ambos os testes sorológicos avaliados neste experimento foi similar à relatada por Plant et al. (2014), que avaliaram a concordância de quatro testes sorológicos, inclusive um policlonal e o que utiliza a fração Fc do mastócito.

A concordância entre os resultados do teste ID e os métodos sorológicos avaliados foi de encontro aos dados publicados por Bevier et al. (1997), com relação ao teste que utiliza a fração Fc do mastócito e aos dados publicados por Chong et al. (2024), que mostraram que a concordância entre os resultados do teste ID de alta especificidade e de um teste sorológico policlonal variou de acordo com o grupo de alérgenos, sendo mais alta para árvores, gramíneas e ervas daninhas, mais baixa para pulgas e moderada para ácaros da poeira domiciliar. A maioria dos pesquisadores, porém, tem relatado baixa concordância entre os testes sorológicos e o teste ID (Carlotti e Costragent, 1992; Codner e Lessard, 1993; Bond et al., 1994; Park et al., 2000; Foster et al., 2003; Patterson et al., 2005; Chong et al., 2024).

A comparação entre as mensurações de IgE alérgeno-específica por diferentes métodos apresenta importantes limitações, uma vez que a imunogenicidade entre os extratos alergênicos pode variar, assim como a potência entre os fornecedores e as partidas dos extratos (Hamilton e Adkinson Jr, 2003). Além disso, é esperada a baixa concordância entre o teste ID e o sorológico, não somente por diferenças entre os extratos alergênicos, mas também de metodologia e reagentes, como as observadas neste experimento (DeBoer e Hillier, 2001; Olivry et al., 2024).

Conclusão

O presente estudo permitiu concluir que os testes sorológicos com anticorpos policlonais e baseados no reconhecimento da fração FceR1-alfa da IgE apresentam baixa acurácia e valores preditivos, embora os VPN possam elevar-se, quando consideradas as respostas individuais a cada ácaro. A concordância entre os testes sorológicos é moderada e não há concordância com o teste intradérmico.

A baixa acurácia (< 0,5) para ambas as metodologias indica que não são superiores ao acaso na seleção de alérgenos para imunoterapia, ficando o diagnóstico definitivo e a decisão da escolha do protocolo imunoterápico dependentes da avaliação do histórico clínico e do resultado do teste intradérmico, sempre que possível. No contexto clínico veterinário brasileiro, onde o teste intradérmico pode ser limitado, os testes sorológicos avaliados podem indicar contato e auxiliar no manejo ambiental de cães com DA.

Agradecimentos

Aos Profs. Drs. Marconi Rodrigues de Farias e Victor do Espírito Santo Cunha, pela colaboração fundamental para a realização deste trabalho. À empresa FDA Allergenic (Laboratório de Antígenos, Rio de Janeiro, Brasil), pelo apoio, fornecimento dos extratos alérgênicos e pela permissão do uso das suas instalações para a realização de um dos testes sorológicos realizados neste experimento. Ao TECSA Laboratórios (Minas Gerais, Brasil) e ao Luiz Eduardo Ristow, pelo apoio e pelos testes sorológicos HESKA, realizados neste experimento. À CAPES, pelo apoio financeiro através de bolsa de isenção.

Referências

Bevier DE, Mondesire RL, Rose BJ, Wassom DL. FceR1a-based ELISA technology for in vitro determination of allergen-specific IgE in a population of intradermal skin-tested normal and atopic dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 1997; 3:10-6.

Bond R, Thorogood SC, Lloyd DH. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of canine atopy. *Vet Rec*. 1994;135(6):130-3.

Canning P, Brame B, Stefanovski D, Lee KW, Cain CL, Rook K, et al. Multivariable analysis of the influence of cross-reactive carbohydrate determinant inhibition and other factors on intradermal and serological allergen test results: a prospective, multicentre study. *Vet Dermatol*. 2021;32(4):347-e96.

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

Carmona-Gil AM, Sánchez J, Maldonado-Estrada J. Evaluation of skin prick-test reactions for allergic sensitization in dogs with clinical symptoms compatible with atopic dermatitis. A Pilot Study. *Front Vet Sci*. 2019;6:448.

Chong E, Austel M, Banovic F. Evaluation of the correlation of serological and intradermal allergen testing with clinical history in 29 dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2024;35(5):516-23.

Codner EC, Lessard P. Comparison of intradermal allergy test and enzyme-linked immunosorbent assay in dogs with allergic skin disease. *J Am Vet Med Assoc*. 1993;202(5):739-43.

Cook CA, Steadman KE, Frank GR, Wassom DL. The in vitro diagnosis of flea bite hypersensitivity: Flea saliva vs. whole flea extracts. In: *Proceedings of the Third World Congress of Veterinary Dermatology*; Edinburgh, Scotland, 1996. p. 170.

Cox L, Nelson H, Lockey R, Calabria C, Chacko T, Finegold I, et al. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1 Suppl):S1-55.

DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001;81(3-4):277-87.

Dérier, Morrison-Smith, De Weck. Monoclonal anti-IgE antibodies in the diagnosis of dog allergy. *Vet Dermatol*. 1998; 9(3):185-90.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol*. 2010;21(1):23-31.

Ferreira RR. Avaliação de diferentes concentrações de histamina e extratos alérgênicos em cães sadios submetidos a teste intradérmico [tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions*. New York: John Wiley; 1981.

- Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JL, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fcepsilon R1alpha-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;93(1-2):51-60.
- Ginel PJ, Riaño C, Lucena R. Evaluation of a commercial ELISA test for the detection of allergen-specific IgE antibodies in atopic dogs. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1998;45(7):421-5.
- Hamilton RG, Adkinson Jr NF. Clinical laboratory assessment of IgE-dependent hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(2 Suppl):S687-701.
- Hämmerling, de Weck. Comparison of two diagnostic tests for canine atopy using monoclonal anti-IgE antibodies. *Vet Dermatol.* 1998;9(3):191-9.
- Hillier A. Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. *Vet Med.* 2002;97(3):210-24.
- Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):289-304.
- Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W, et al. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy.* 2013;68(10):1269-77.
- Koebrich S, Nett-Mettler C, Wilhelm S, Favrot C. Intradermal and serological testing for mites in healthy beagle dogs. *Vet Dermatol.* 2012;23(3):192-e39.
- Kristensen. Meeting the diagnostic challenge in canine and feline allergic skin disease. *Vet Dermatol.* 1998;9(3):143.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
- Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Di Felice G, et al. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103(6):1005-11.
- McCall CA, Steadman KE, Penner SJ, et al. FcεR1a-based measurement of anti-flea saliva IgE in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian.* 1997; 3:24-8.
- Miller Jr WH, Griffin CE, Campbell KL. *Muller&Kirk's Small Animal Dermatology.* 7 ed. Missouri: Elsevier; 2013.
- Mueller RS. Allergen-specific Immunotherapy. In: Noli C, Foster AP, Rosenkrantz W (Org.). *Veterinary allergy.* Reino Unido: John Wiley & Sons; 2014. p. 85.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* 2010;21(3):233-48.
- Olivry T, Fontao AM, Aumayr M, Ivanovova NP, Mitterer G, Harwanegg C. Validation of a multiplex molecular macroarray for the determination of allergen-specific IgE sensitizations in dogs. *Vet Sci.* 2024;11(10):482.
- Oppenheimer J, Nelson HS. Skin testing. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006;96(2 Suppl 1):S6-12.
- Park S, Ohya F, Yamashita K, Nishifuji K, Iwasaki T. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J Vet Med Sci.* 2000;62(9):983-8.
- Patterson AP, Schaeffer DJ, Campbell KL. Reproducibility of a commercial in vitro allergen-specific assay for immunoglobulin E in dogs. *Vet Rec.* 2005;157(3):81-5.
- Pereira MG. *Epidemiologia: teoria e prática.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
- Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014;25(1):15-e6.
- Roque JB, O'Leary CA, Kyaw-Tanner M, Latter M, Mason K, Shipstone M, et al. High allergen-specific serum immunoglobulin E levels in nonatopic West Highland white terriers. *Vet Dermatol.* 2011;22(3):257-66.
- Saevik BK, Ulstein TL, Larsen HJ. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of allergen-specific IgE antibodies in dogs. *Res Vet Sci.* 2003;74(1):37-45.
- Santoro D. Therapies in canine atopic dermatitis: an update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2019;49(1):9-26.

Santoro D, Saridomichelakis M, Eisenschenk M, Tamamoto-Mochizuki C, Hensel P, Pucheu-Haston C. Update on the skin barrier, cutaneous microbiome and host defence peptides in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2024;35(1):5-14.

Terra SA, Silva DA, Sopelete MC, Mendes J, Sung SJ, Taketomi EA. Mite allergen levels and acarologic analysis in house dust samples in Uberaba, Brazil. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004;14(3):232-7.

Tham HL, Olivry T. Determination of the efficacy rate and time-to-efficacy of subcutaneous immunotherapy in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2022;33(2):155-e44.

Thom N, Favrot C, Failing K, Mueller RS, Neiger R, Linek M. Intra- and interlaboratory variability of allergen-specific IgE levels in atopic dogs in three different laboratories using the Fc-epsilon receptor testing. *Vet Immunol Immunopathol*. 2010;133(2-4):183-9.

Thomas RC. Canine atopic dermatitis: the diagnosis is important. In: NAVC Conference 2017 Small Animal. Orlando, EUA; 2017.

Wassom, Grieve. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1α-based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Vet Dermatol*. 1998;9(3):173-8.