



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EVALUACIÓN CLÍNICA DE PACIENTES CANINOS
ATÓPICOS BAJO TRATAMIENTO DE INMUNOTERAPIA
ALÉRGICO ESPECÍFICA PARA *Dermatophagoides farinae*

ROCÍO GÓMEZ AVENDAÑO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: SONIA ANTICEVIC CÁCERES

SANTIAGO, CHILE
2007



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EVALUACIÓN CLÍNICA DE PACIENTES CANINOS ATÓPICOS BAJO TRATAMIENTO DE INMUNOTERAPIA ALÉRGICO ESPECÍFICA PARA *Dermatophagoides farinae*

ROCÍO GÓMEZ AVENDAÑO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL:

| | NOTA | FIRMA |
|---|-------|-------|
| PROFESOR GUÍA : DRA. SONIA ANTICEVIC | | |
| PROFESOR CONSEJERO : DR. ULISES VERGARA | | |
| PROFESOR CONSEJERO : DRA. LORETO MUÑOZ | | |

SANTIAGO, CHILE

2007

ÍNDICE

| | |
|------------------------------------|-----|
| Introducción..... | 1 |
| Revisión Bibliográfica..... | 3 |
| Alérgenos..... | 3 |
| Dermatitis Atópica canina..... | 15 |
| Inmunoterapia..... | 31 |
| Objetivos..... | 52 |
| Materiales y Métodos..... | 53 |
| Selección de los pacientes..... | 53 |
| Prueba de intradermorreacción..... | 53 |
| Inmunoterapia..... | 54 |
| Evaluación..... | 56 |
| Resultados..... | 58 |
| Discusión..... | 80 |
| Conclusiones..... | 88 |
| Bibliografía..... | 89 |
| Anexo 1..... | 101 |
| Anexo 2..... | 102 |
| Anexo 3..... | 104 |
| Anexo 4..... | 105 |

RESUMEN

La dermatitis atópica canina ha sido definida como una enfermedad alérgica prurítica, inflamatoria y predispuesta genéticamente que se cree afecta a un 10-15% de la población canina. La inmunoterapia es, según la OMS, el único tratamiento que puede alterar el curso de las enfermedades alérgicas y ha sido definida como la práctica de administrar gradualmente cantidades crecientes de un extracto alergénico a un sujeto alérgico para aminorar los síntomas asociados con exposición subsiguiente al alergen causante. En Medicina Veterinaria, varios estudios han reportado la eficacia de la inmunoterapia. Sin embargo, con raras excepciones, estos estudios han sido diseñados como experimentos abiertos y no controlados. Los objetivos de este estudio fueron averiguar la proporción de perros atópicos positivos a *Dermatophagoides farinae* en una prueba de intradermorreacción, describir la población en estudio en cuanto a raza, sexo y edad, describir los cambios clínicos en perros atópicos bajo tratamiento con inmunoterapia alérgica específica para *D. farinae* y describir los cambios en el resultado de una segunda prueba de intradermorreacción después de la inmunoterapia. Se realizó una prueba de intradermorreacción a treinta perros atópicos. Quince de los perros positivos a *D. farinae* fueron ingresados al estudio y colocados al azar en dos grupos. Un grupo (n = 10) fue tratado con inmunoterapia para *D. farinae* durante 6 meses, y el otro grupo (n = 5) no fue tratado. Los perros fueron evaluados mensualmente para los signos clínicos de prurito, eritema, hiperpigmentación, tinción salival, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor. Después del tratamiento, se repitió la prueba de intradermorreacción para *D. farinae*. El 75% de los perros fueron positivos a *D. farinae*. El 26,66% de los perros ingresados al estudio fueron mestizos, el 80% fueron hembras y el promedio de edad fue de 4,6 años. Hubo diferencia significativa entre ambos grupos para los signos de prurito, eritema y tinción salival, pero no la hubo para hiperpigmentación, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor. No hubo diferencia significativa entre los grupos para la disminución del tamaño de la pápula de *D. farinae* en la segunda prueba de intradermorreacción.

SUMMARY

Canine atopic dermatitis has been defined as a genetically predisposed, inflammatory and pruritic allergic skin disease, believed to affect 10-15% of the canine population. Immunotherapy is, according to WHO, the only treatment that can change the course of allergic diseases and has been defined as the practice of administering gradually increasing quantities of an allergen extract to an allergic subject to ameliorate the symptoms associated with subsequent exposure to the causative allergen. In Veterinary Medicine, several studies have reported on the efficacy of immunotherapy. However, with rare exceptions, these studies have been designed as open and uncontrolled experiments. The aims of this study were to ascertain the proportion of atopic dogs positives to *Dermatophagoides farinae* in an intradermal testing, to describe the studied population for breed, sex and age, to describe clinical changes in atopic dogs with *D. farinae* allergen specific immunotherapy treatment, and to describe the changes in the outcomes of a second intradermal testing after immunotherapy. It carried out an intradermal testing in thirty atopic dogs. Fifteen of the *D. farinae* positives dogs were admitted in the study and they were allocated at random in two groups. One group (n = 10) was treated with *D. farinae* allergen specific immunotherapy for six months, and the other group (n = 5) was not treated. Dogs were evaluated monthly for pruritus, erythema, hyperpigmentation, salivary staining, pioderma, alopecia, lichenification, otitis, seborrhoea, lips inflammation, conjunctivitis and bad smelling. After treatment, it was repeated *D. farinae* intradermal testing. In the intradermal testing, 75% of the dogs were positive for *D. farinae*. In the study, 26,66% of the dogs were mixed breed, 80% were females and age average was 4,6 years old. There was significant differences between both groups for pruritus, erythema and salivary staining, but there was no significant differences for hyperpigmentation, pioderma, alopecia, lichenification, otitis, seborrhoea, lips inflammation, conjunctivitis and bad smelling. There was no significant differences between both groups for *D. farinae* papule size decreasing in the second intradermal testing.

INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica canina es un estado de hipersensibilidad clínica de base hereditaria la cual se manifiesta como una dermatitis prurítica, que recurre crónicamente y la cual se estima afecta al 10-15% de la población canina. Como consecuencia del prurito, la piel se altera y con ello aumenta la predisposición a otras enfermedades dérmicas como por ejemplo piodermas, infecciones por *Malazzesia paquydermatis* y otitis.

Esta enfermedad resulta agotadora tanto para el dueño del paciente como también para el médico veterinario, debido a que los tratamientos hasta ahora disponibles en Chile han consistido en terapia sintomática (principalmente glucocorticoides y antihistamínicos), la cual puede ser útil temporalmente en el control de los signos clínicos, pero su uso prolongado puede ser causa de importantes efectos secundarios.

Por otro lado, la eliminación de los alérgenos identificados como responsables de la dermatitis atópica, es la mejor forma de tratamiento. Sin embargo, la gran mayoría de los casos son producidos por una hipersensibilidad a ácaros del polvo (en especial por *Dermatophagoides farinae*), los cuales están presentes en los más variados ambientes y son imposibles de eliminar en un 100%.

La inmunoterapia, tratamiento que consiste en administrar a un sujeto alérgico cantidades gradualmente crecientes de un extracto alérgénico con el objetivo de mejorar la sintomatología causada por la exposición posterior al alérgeno causante, es según la OMS, la única terapia que puede alterar el curso natural de las enfermedades alérgicas.

La inmunoterapia, también llamada hiposensibilización, es una terapia que se ha empleado en el ser humano desde principios del siglo XX. En el perro, apareció en los años 40, se desarrolló en EEUU en los años 60 y en algunos países de Europa en los años 80. Sin embargo, la tendencia ha sido utilizar extractos alérgénicos acuosos, los cuales si bien son más baratos que los extractos “depot” (aquellos modificados generalmente por

precipitación en hidróxido de aluminio), también resultan en un tratamiento que requiere inyecciones más frecuentes y un mayor tiempo de aparición de mejoría clínica.

Los estudios concernientes a la inmunoterapia en caninos con extractos alérgicos “depot” han sido bastante limitados, por lo tanto resulta de gran relevancia investigar la evolución clínica de pacientes sometidos a este tipo de tratamiento.

Debido a todo lo explicado anteriormente, el presente estudio pretende evaluar de manera cercana y continua el efecto de un protocolo de inmunoterapia con extracto alérgico “depot” de *D. farinae* en pacientes caninos atópicos durante seis meses.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ALÉRGENOS

INTRODUCCIÓN

Un alérgeno es un antígeno que favorece el desarrollo de una respuesta de hipersensibilidad (Olivry *et al.*, 2001).

Los alérgenos se asocian con anticuerpos sensibilizantes, que con mayor frecuencia son de la clase IgE y que se encuentran previamente fijados en la superficie de mastocitos o basófilos, liberándose tras la unión antígeno-anticuerpo sustancias mediadoras de la inflamación, apareciendo los síntomas alérgicos. La respuesta individual depende de múltiples factores, tanto inherentes al propio sujeto alérgico, como al propio alérgeno; por ejemplo, estado del sistema inmunitario, cantidad de alérgeno, poder antigénico, frecuencia, vía de penetración, características físicoquímicas, etc (Ferrer y Brasó, 2003).

GENERALIDADES

La mayoría de los alérgenos son proteínas, con un peso molecular variable entre 4.000 y 40.000 Da. Son proteínas solubles en soluciones acuosas, de manera que cuando las estructuras superiores que las contienen entran en contacto con las mucosas, los alérgenos se solubilizan, atraviesan la barrera epitelial y entran en contacto con las células presentadoras de antígenos (Ferrer y Brasó, 2003).

Los alérgenos contenidos en una sustancia no tienen la misma potencia de alergenidad ni de sensibilización, distinguiéndose alérgenos mayores y menores. Los alérgenos mayores son aquellas fracciones antigénicas que se unen a las IgE, al menos en un 50% de los pacientes sensibilizados. Los alérgenos menores reaccionan en un 10 % de los enfermos alérgicos (Ferrer y Brasó, 2003).

PRINCIPALES ALÉRGENOS DE INTERÉS EN ALERGOLOGÍA

Polvo doméstico y ácaros

El polvo doméstico es un ecosistema muy complejo, donde se encuentran una mezcla heterogénea de sustancias con potencial alergénico: pelos, plumas, fibras textiles, (lana, algodón, fibras sintéticas), restos de insectos (cucarachas), ácaros microscópicos (*Dermatophagoides*) y sus productos, restos de alimentos, pólenes, hongos, bacterias, endotoxinas y restos de productos químicos (detergentes, limpiadores, insecticidas) (Ferrer y Brasó, 2003).

Aunque no todos los pacientes sensibles al polvo doméstico reaccionan a los ácaros, (Ferrer y Brasó, 2003), debe constar que los antígenos de ácaros habitualmente ocupan el grueso de todo lo relacionado con la alergia al polvo doméstico y a ellos debe darse importancia preferente (Arlan y Platts-Mills, 2001). Los ácaros son considerados alérgenos importantes en el perro (Halliwell *et al.*, 1998; Hill y DeBoer, 2001).

Descripción taxonómica

Los ácaros pertenecen al phylum *arthropoda*, clase *aracnida*, orden *acari* y suborden *astigmata* (Arlan y Platts-Mills, 2001).

El término “ácaros domésticos” es usado para denominar a varios ácaros de vida libre que habitan viviendas humanas, incluyendo los ácaros del polvo doméstico (familia *Pyroglyphidae*), ácaros de almacenamiento (familias *Acaridae*, *Glycyphagidae* y *Chortoglyphidae*) y sus ácaros depredadores (familia *Cheyletidae*) (Platts-Mills *et al.*, 1997).

El tamaño aproximado de los ácaros es 100-300 μ (Ferrer y Brasó, 2003). Su ciclo vital es de 3 meses. Presentan dimorfismo sexual; las hembras tienen mayor tamaño que los machos. Se alimentan fundamentalmente de escamas dérmicas. Requieren una temperatura de más de 20°C y una humedad relativa mayor del 50% (Arlan y Platts-Mills, 2001).

Los ácaros domésticos (aquellos que predominan en el polvo doméstico) más frecuentes son: *D. pteronyssinus* y *D. farinae* (Hill *et al.*, 2001; Bensignor y Carlotti, 2002; Zur *et al.*, 2002; Foster *et al.*, 2003; Nuttall *et al.*, 2006). En los hogares europeos predomina *D. pteronyssinus* (Jackson *et al.*, 2005), mientras que en los norteamericanos predomina *D. farinae* (Randall *et al.*, 2003). Entre los ácaros de almacenamiento (los que

predominan en lugares donde se almacenan harinas, granos de cereales, henos y otros alimentos), los más frecuentes son *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro* y *Tyrophagus putrescentiae*, causa importante de sensibilización en el medio rural y personas que manipulan harinas (Ferrer y Brasó, 2003; Nuttall *et al.*, 2006).

Entre todos los ácaros existe reactividad cruzada, con un grado muy variable, siendo mayor cuanto más relación filogenética existe entre ellos (Ferrer y Brasó, 2003; Jackson *et al.*, 2005).

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de los principales ácaros productores de alergia

| Familia | Género | Especie |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Acarida</i> | <i>Acarus</i> | <i>A. siro</i> |
| | <i>Aleuroglyphus</i> | <i>A. ovatus</i> |
| | <i>Tyrophagus</i> | <i>T. putrescentiae</i> |
| <i>Chortoglyphidae</i> | <i>Chortoglyphus</i> | <i>C. arcuatus</i> |
| <i>Glycyphagidae</i> | <i>Glycyphagus</i> | <i>G. dometicus</i> |
| | <i>Lepidoglyphus</i> | <i>L. destructor</i> |
| | <i>Blomia</i> | <i>B. kulagini</i> |
| | | <i>B. tropicalis</i> |
| <i>Gohieria</i> | <i>B. freemani</i> | |
| <i>Pyroglyphidae</i> | <i>Dermatophagoides</i> | <i>D. pteronyssinus</i> |
| | | <i>D. farinae</i> |
| | | <i>D. microceras</i> |
| | | <i>D. siboney</i> |
| | <i>Europhyphus</i> | <i>E. maynei</i> |
| <i>Tetranychidae</i> | <i>Tetranychus</i> | <i>T. urticae</i> |

(Ferrer y Brasó, 2003).

Factores biológicos y ambientales

Los ácaros domésticos han adaptado sus requerimientos ecológicos al hábitat humano, viviendo y multiplicándose en los hogares, donde ellos juegan un rol beneficioso en el reciclaje de productos biológicos de desecho. Estos ácaros prefieren sustancias ricas

en proteínas como restos de comida, esporas de hongos y escamas dérmicas (Nuttall *et al.*, 2006).

Para la mayoría de los ácaros domésticos, son óptimas temperaturas de 20 a 30°C y una humedad relativa entre 70 y 90% (Nuttall *et al.*, 2006).

Su ciclo vital pasa por las fases de huevo, larva, protoninfa y adulto. Su duración desde huevo al adulto es de 30 días a 25°C y de hasta 110 días a 20°C (Arlan y Platts-Mills, 2001).

En las zonas cálidas los ácaros predominan en los meses estivales aunque algunos pueden sobrevivir tras la estación calurosa. Las formas protoninfas son más resistentes a la desecación y posiblemente son la fuente de resurgimiento de los ácaros durante la primavera (Ferrer y Brasó, 2003).

Los ácaros se acumulan en el polvo de colchones, alfombras, armarios, ropas, etc. Habitualmente el colchón es el lugar donde existen mayores concentraciones (Arlan y Platts-Mills, 2001; Ferrer y Brasó, 2003; Nuttall *et al.*, 2006).

Pólenes

Los pólenes constituyen una fuente importante de morbilidad alérgica en el ser humano. Su manifestación clínica clásica la constituyen los ataques de rinitis alérgica estacional tras la exposición a campos de heno en flor, por lo que este cuadro clínico fue denominado “fiebre del heno” o polinosis, considerada hoy un importante problema de salud pública (Amato *et al.*, 2007).

Para que los pólenes sean alergénicos han de reunir las siguientes características: deben tener antígenos capaces de desarrollar una respuesta mediada por IgE específica en los individuos atópicos, debe ser producido en altas cantidades por plantas que crecen en abundancia y deben tener un tamaño suficientemente pequeño para permanecer suspendidos en el aire y ser transportados por largas distancias (Amato *et al.*, 2007).

Las plantas de interés alergológico comprenden (Ferrer y Brasó, 2003):

1. Hierbas. Las gramíneas son la causa más frecuente de polinosis en el mundo, por su gran alergenicidad y extensa distribución. Comprenden cerca de 10.000 especies.
2. Árboles. Los árboles son responsables de manifestaciones alérgicas menos frecuentemente que las gramíneas. Los períodos de polinización son cortos, en

comparación con los de las gramíneas, y la duración de los síntomas también suele ser menor.

3. Arbustos.

Alergenos animales

Se han descrito al menos 300 especies de animales capaces de producir alergia en seres humanos. Para que se produzca la sensibilización a un animal, se requiere un contacto previo, mayor o menor dependiendo de la especie en cuestión y de su capacidad sensibilizante (Ferrer y Brasó, 2003).

Se puede distinguir la alergia que se produce en relación con determinadas profesiones en contacto con animales (granjeros, personal de laboratorios, trabajos relacionados con caballos) y la alergia a animales domésticos (principalmente gatos y perros). Esta última es mucho más frecuente dado que se trata de alérgenos potentes y de que los animales domésticos constituyen un habitante común de las viviendas modernas (Chapman y Wood, 2001).

Los alérgenos animales más importantes son los derivados de mamíferos, principalmente los de gatos, perros, ratas, ratones, caballos y vacas (Chapman y Wood, 2001).

De los alérgenos procedentes de animales, el pelo no parece ser el más importante, ya que no flota en el aire ni es soluble en el agua. Parecen más importantes las proteínas hidrosolubles de origen epidérmico o salival unidas al pelo (Ferrer y Brasó, 2003). Por ejemplo, los principales alérgenos felinos son producidos por las glándulas sebáceas y secretados hacia la piel y el pelo. Otros alérgenos son producidos por las glándulas salivales y anales del gato (Chapman y Wood, 2001).

Hongos

Muchos hongos responsables de síntomas alérgicos proceden de la materia vegetal orgánica medioambiental, pero las esporas de los hongos transportados por el aire son las que suelen provocar síntomas alérgicos (Ferrer y Brasó, 2003).

Se tiene conocimiento del papel de las esporas de los hongos en la sintomatología alérgica de las personas sensibles; sin embargo, no siempre es fácil demostrar que los

síntomas atribuidos a los hongos se deban a una sensibilización alérgica a éstos. La sensibilización a hongos provoca diversas reacciones alérgicas: se consideran un factor etiológico de gran importancia en la rinitis alérgica y en el asma (Bush y Portnoy, 2001).

Los hongos de interés alergológico son: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y otros (Bush y Portnoy, 2001).

EXTRACTOS ALERGÉNICOS

Generalidades

Son productos biológicos obtenidos mediante la extracción de los componentes alérgicamente activos, presentes en la materia prima natural a la que están sensibilizados los pacientes. Habitualmente suelen ser mezclas de alérgenos individuales. Son preparados por laboratorios especializados según una serie de procedimientos. Los extractos alérgicos se utilizan en el diagnóstico (pruebas cutáneas) y en el tratamiento (inmunoterapia). Es importante conocer (Ferrer y Brasó, 2003):

1. *Tipo de extracto.*
2. *Grado de purificación.* Actualmente se prefieren los extractos semipurificados, que contienen tanto los alérgenos mayores como menores; y en los que se ha eliminado el material no alérgico (componentes de bajo peso molecular, que son irritantes).
3. *Estandarización.* El extracto debe estar estandarizado, es decir, debe proceder de una fuente de material alérgico adecuada; han de conocerse su composición en cuanto a alérgenos relevantes y su potencia alérgica, que es constante entre los distintos lotes. La estandarización exige que estén presentes todos los alérgenos relevantes (todos aquellos que fijan la IgE en los sujetos sensibles) siempre en la misma proporción y debe definirse su potencia o actividad alérgica total.
4. *Etiquetado correcto.* En el etiquetado debe figurar la concentración del extracto, en caso de componentes individuales muy bien caracterizados puede indicarse su cantidad absoluta (por ejemplo en microgramos), la potencia (indicando el tipo de unidades utilizadas) y la fecha de caducidad (Ferrer y Brasó, 2003).

Tipo de extractos

1) No modificados

Son los extractos acuosos, es decir, productos alérgicos usados directamente en una formulación amortiguada, sin adyuvantes ni modificaciones químicas (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006).

La mayor parte de las vacunas alérgicas acuosas que se utilizan en inmunoterapia son mezclas heterogéneas de alérgenos y materiales no alérgicos. Se presentan en solución o liofilizadas con el fin de reconstituirlas antes de su uso (Nieto *et al.*, 2003).

Los inconvenientes de este tipo de extracto son el mayor número de dosis que requiere en la fase de inicio, la rápida degradación de los alérgenos y la mayor frecuencia de reacciones adversas, sobre todo sistémicas (Nieto *et al.*, 2003).

2) Modificados

Las modificaciones que se realizan sobre los extractos acuosos pretenden mejorar la eficacia y la seguridad de la inmunoterapia (Nieto *et al.*, 2003). La modificación puede realizarse por procedimientos físicos (aceite mineral, hidróxido de aluminio, alum-piridina, tirosina, fosfato cálcico), químicos (formaldehído, glutaraldehído, alginatos, D-glutámico, D-lisina, metoxi-polietilenglicol), físicoquímicos (tirosina-glutaraldehído, hidróxido de aluminio-glutaraldehído) o por técnicas biológicas moleculares (alérgenos recombinantes, es decir, alérgenos clonados y secuenciados) (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006).

Otro tipo de clasificación que, sin embargo, orienta respecto al mecanismo de acción es la siguiente (Ferrer y Brasó, 2003):

Modificación física (extractos “depot”). Se realiza por métodos de adsorción, absorción, inclusión, etc., en otras sustancias con el fin de disminuir el número de inyecciones y, supuestamente, las reacciones adversas. Se intenta conseguir una absorción gradual y sostenida del extracto. Además, la sustancia utilizada puede actuar como un adyuvante que aumenta la respuesta inmunológica. Los más utilizados son (Ferrer y Brasó, 2003):

1. *Hidróxido de aluminio.* Son los más usados en la actualidad. En ocasiones pueden producir nódulos subcutáneos inflamatorios, que desaparecen de manera espontánea.
2. *Alum-piridina.* Son extractos extraídos con piridina y adsorbidos en hidróxido de aluminio. Su eficacia se ha demostrado con extractos de pólenes de gramíneas; pero no

debe usarse en otros casos, ya que se ha comprobado que la extracción con piridina desnaturaliza algunos alergenicos.

3. *Tirosina*. Su efecto clínico es similar a los adsorbidos en aluminio.
4. *Fosfato cálcico*.

Modificaciones para disminuir la alergenicidad. Se realizan tratamientos químicos o físico-químicos en un intento de disminuir la alergenicidad (reactividad con la IgE), conservando la inmunogenicidad (capacidad de despertar una respuesta inmunitaria). Se denominan genéricamente *alergoides*. Por su baja alergenicidad, son los preferidos en pautas rápidas, con dosificaciones más agresivas (Ferrer y Brasó, 2003):

1. *Modificados con formaldehído*. Fueron los primeros alergoides.
2. *Polimerizados con glutaraldehído*. El glutaraldehído se emplea como sustancia capaz de unir moléculas del alérgeno, para formar polímeros de alto peso molecular; también son más seguros que los modificados con formaldehído.
3. *Conjugados con alginato*. Unen el extracto alergénico acuoso a una molécula de alginato sódico, que actúa como un extracto *depot* y como un modificador de alergenicidad.
4. *Tirosina-glutaraldehído*. Los extractos se tratan primero con glutaraldehído y luego se adsorben en tirosina.
5. *Aluminio-glutaraldehído*.

Algunas veces, el proceso de polimerización no es del todo satisfactorio, ya que existen componentes de bajo peso molecular adsorbidos en la matriz proteica del alérgeno. Por ello, se han desarrollado técnicas de *despigmentación* que permiten la separación y posterior eliminación de flavonoides y otros constituyentes extraños (taninos, melanoidinas y melaninas) de bajo peso molecular adsorbidos por las proteínas alergénicas. Las taninas y otros derivados eliminados por despigmentación no son inmunogénicos, pero son antioxidantes y, a su vez, activadores no específicos del sistema del complemento. También interfieren en distintos procesos metabólicos por formación de complejos con proteínas, en especial con enzimas fisiológicas y, por tanto, no son deseables. No obstante, el proceso de despigmentación no afecta las propiedades inmunológicas (Nieto *et al.*, 2003).

Dado que los componentes de bajo peso molecular adsorbidos bloquean grupos aminos libres de los alergenicos proteicos, la despigmentación libera lugares reactivos,

críticos para el proceso de entrecruzamiento durante la polimerización con glutaraldehído. Por tanto, las proteínas despigmentadas representan una fuente importante en la producción de extractos polimerizados (alergoides) que tendrían como ventajas igual o mayor efectividad clínica que el extracto nativo, pero menos reacciones adversas y un margen terapéutico más amplio que los extractos no modificados (Nieto *et al.*, 2003).

Modificaciones para inducir tolerancia específica. En teoría, se trataría de alérgenos modificados que actuarían suprimiendo la producción de IgE específica. Este mecanismo sólo se ha demostrado en modelos animales, pero no en el ser humano; en quien este tipo de extracto parece actuar de la misma forma que los convencionales. Algunas modificaciones de este tipo son (Ferrer y Brasó, 2003):

1. Desnaturalizados con urea.
2. Conjugados con polietilenglicol.
3. Conjugados con D-glutámico: D-lisina.

Estandarización de extractos

La calidad de los extractos alérgenos es un asunto clave para los resultados en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas. La heterogenicidad de los extractos alérgenos y las propiedades desconocidas de muchos de sus ingredientes han hecho necesario desarrollar metodologías que aseguren su potencia y su consistencia (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006).

Un extracto alérgico estandarizado se define como aquel con composición conocida procedente de una fuente de material alérgico adecuada y una potencia alérgica total conocida, que es constante lote tras lote (García *et al.*, 2003).

La extracción de fuentes de material alérgico debe realizarse de manera que se asegure una alta alergenidad y que todos los alérgenos importantes permanezcan en proporciones similares a las que se encuentran en la naturaleza (Ferrer y Brasó, 2003).

1) Estandarización en unidades de masa

Cuando se conocen los alérgenos individuales que componen un extracto, una forma de asegurar la identidad entre dos extractos alérgicos consiste en comprobar que contienen los mismos alérgenos y en la misma proporción. Cada alérgeno puede cuantificarse en unidades de masa (por ejemplo, µg/ml) (Ferrer y Brasó, 2003).

Los métodos que siguen este principio son:

Unidades Noon o peso/volumen. Introducidas para cuantificar la potencia de extractos de pólenes. Se definieron como la cantidad de principio activo que puede ser extraída de 1µg de polen. Se trata de una unidad peso/volumen (cantidad de extracto/ml). No se relaciona con la potencia biológica, ya que la cantidad de alérgeno extraíble de materia prima de distintos orígenes puede variar ampliamente (Ferrer y Brasó, 2003).

Unidades de nitrógeno proteico o PNU/ml. Se basa en que los alérgenos son proteínas. La cantidad de proteínas presente en un extracto está directamente relacionada con el nitrógeno proteico. Una PNU representa la cantidad de nitrógeno presente en 62 ng de proteína. Los extractos pueden ser cuantificados en PNU/ml (que es lo mismo que mg de proteína/ml). Sin embargo, la cantidad de proteínas de un extracto no representa su actividad alérgica. Un extracto posee proteínas alérgicas y no alérgicas, y la proporción entre ellas varía ampliamente (Ferrer y Brasó, 2003).

Cuantificación de los alérgenos mayores. Un alérgeno presente en un extracto o materia prima se define como alérgeno mayor cuando al menos el 50% de los pacientes sensibles al extracto poseen IgE específica frente a dicho alérgeno (van Ree y The CREATE partnership, 2004).

Una vez identificados los alérgenos mayores, es posible cuantificarlos en unidades de masa empleando métodos bioquímicos o inmunológicos. El método supone que es posible asegurar la identidad de dos extractos si poseen los mismos alérgenos mayores y en la misma cantidad. Sin embargo, se ha demostrado que ello no guarda relación estricta con la potencia alérgica total; probablemente porque se ignoran los alérgenos menores. A pesar de ello, representa un buen complemento de la estandarización biológica (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006).

2) Estandarización basada en la potencia alérgica

Se trata de determinar la actividad biológica del extracto (actividad alérgica total). Es el tipo de estandarización más utilizado. Puede realizarse por métodos *in vivo* o *in vitro* (Ferrer y Brasó, 2003).

- ***Métodos in vitro***

Se utiliza el RAST-inhibición, o su equivalente, el ELISA-inhibición para comparar la potencia de un extracto producido respecto a un extracto de referencia, del que se conoce

su potencia. La potencia del extracto producido se define en unidades de RAST (RAST-U) que son arbitrarias (Ferrer y Brasó, 2003).

- **Métodos in vivo**

Se utilizan las pruebas cutáneas cuantitativas. La potencia se determina en función de la respuesta cutánea que produce el extracto en un grupo de sujetos alérgicos. La mayoría de los laboratorios utilizan este método para determinar la potencia de sus extractos de referencia. Para ello se seleccionan una serie de sujetos sensibles, y se realizan pruebas cutáneas con distintas diluciones del extracto, midiendo las reacciones obtenidas. Se han propuesto varios métodos (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006):

Métodos basados en la prueba por punción (“prick test”). Entre los métodos basados en esta prueba se encuentran las unidades HEP (histamina-equivalente “prick”), las unidades biológicas nórdicas y las UB o unidades biológicas (Alvarez-Cuesta *et al.*, 2006).

1. *Unidades HEP o histamina-equivalente “prick”.* Se admite que una dilución de un extracto tiene una potencia de 1 HEP cuando, al realizar la prueba por punción en 20 sujetos sensibles, se obtiene una media geométrica de pápula igual a la de la histamina a 1 mg/ml (aproximadamente 4,5 mm). A un HEP se le atribuyen 1.000 UB. Posteriormente se ha comprobado que los resultados son más reproducibles si la histamina se utiliza a 10 mg/ml (Ferrer y Brasó, 2003).
2. *Unidades biológicas nórdicas (UB/ml).* Es una variante del método anterior. Se realizan pruebas por punción en al menos 20 pacientes sensibles, con tres diluciones del extracto separadas por un factor de 10. La concentración del extracto que produce una pápula igual a la del clorhidrato de histamina a 10 mg/ml en la mediana de los pacientes sensibles posee una actividad de 10.000 UB/ml. La UB nórdica se ha demostrado reproducible en distintas regiones y con diferentes muestras de pacientes (Ferrer y Brasó, 2003).
3. *UB o unidades biológicas.* Se dice que una dilución de un extracto tiene una potencia de 100 UB/ml cuando, al realizar una prueba por punción en 30 sujetos clínicamente sensibles, se produce una media geométrica de pápula de 75 mm². No se utiliza ninguna sustancia de referencia (Ferrer y Brasó, 2003).

Métodos basados en los tests intracutáneos. Consisten fundamentalmente en métodos basados en AU o unidades de alergia (Ferrer y Brasó, 2003).

1. *AU o unidades de alergia*. Se realizan pruebas intracutáneas con concentraciones del alérgeno que se incrementan en un factor de 3. Se miden los eritemas, sumando su diámetro más largo y el ortogonal en su punto medio ($\Sigma 50$). Todos los pacientes tienen que ser altamente sensibles. Una preparación alérgica tiene 100.000 AU si la mediana de los pacientes sensibles reacciona con un $\Sigma 50 = 50$ mm a la dilución número 15. Es el método aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) (Ferrer y Brasó, 2003).

Es imposible comparar o establecer equivalencias entre los distintos sistemas de unidades, que no son interconvertibles entre sí. Ello hace necesario al cuantificar la potencia, indicar el método utilizado (Ferrer y Brasó, 2003).

3) Unidades de tratamiento

La estandarización biológica por pruebas cutáneas no es un método válido para las preparaciones alérgicas utilizadas en inmunoterapia. Alérgenos de diferente procedencia, con igual potencia biológica, pueden mostrar diferentes patrones de seguridad y eficacia. Por ello se han introducido las unidades de tratamiento, que indican la cantidad óptima de un extracto, para obtener un máximo de eficacia terapéutica con un mínimo de riesgo; estando basadas en conceptos de tolerancia y eficacia, y no sólo en potencia biológica. No hay un consenso internacional con respecto a estas unidades y cada laboratorio suele utilizar unidades propias (Ferrer y Brasó, 2003).

DERMATITIS ATÓPICA CANINA

La dermatitis atópica ha sido definida como una enfermedad alérgica de la piel programada genéticamente, de características inflamatorias y pruríticas, y es más comúnmente asociada con inmunoglobulinas de la clase E (IgE) a alérgenos ambientales (Olivry *et al.*, 2001).

CAUSA Y PATOGÉNESIS

La dermatitis atópica es reconocida hace tiempo como una enfermedad con antecedentes genéticos, debido a su fuerte predilección racial y a su compromiso familiar (Sinke *et al.*, 2002). Adicionalmente, se ha revelado que la capacidad de producir altos niveles de IgE contra una variedad de alérgenos está determinada genéticamente de una manera dominante (De Weck *et al.*, 1997). En un estudio realizado en perros Golden y Labradores Retrievers, se reportó una heredabilidad de la dermatitis atópica de 0,47 (0,13 a 0,81) (Shaw *et al.*, 2004).

La atopia canina ha sido clasificada tradicionalmente como una reacción de hipersensibilidad tipo I (Criep, 1968), pero últimamente ha adquirido importancia la hipótesis de que su desarrollo se debe a una reacción de hipersensibilidad tipo IV (Sinke *et al.*, 2002). Los perros predispuestos genéticamente absorben en forma percutánea, por inhalación y posiblemente por ingestión varios alérgenos que provocan la producción de IgE (o IgG) alérgeno-específica (Scott *et al.*, 1995).

En los Estados Unidos de América, ha sido tradicional el adherir la importancia primaria a la IgE alérgeno-específica (Rockey y Schwartzman, 1967; Criep, 1968; Scott *et al.*, 1995; Halliwell y DeBoer, 2001). La visión europea corresponde a que la IgG alérgeno-específica (subclase IgGd) es la clave y que la IgE alérgeno-específica incluso no puede ser detectada en muchos perros atópicos y en perros normales sensibilizados experimentalmente a alérgenos (Willemse y Noordzij, 1985). Un estudio reciente describió que algunos antígenos pueden inducir respuestas con diferentes subclases de IgG (IgG1 e IgG4). Sin embargo, las respuestas se observaron en perros sanos y atópicos, por lo que es

presumible que representen simplemente el reconocimiento de proteínas extrañas, más que estar involucradas en la patogénesis de la dermatitis atópica (Hou *et al.*, 2006).

La IgE (o IgGd) se fija a los mastocitos tisulares, especialmente en la piel, la cual es el órgano blanco primario en la atopia canina (Halliwell y Schwartzman, 1971; Scott *et al.*, 1995). Cuando el mastocito fijado a IgE reacciona con su alérgeno o alérgenos específicos, da como resultado la degranulación del mastocito y la liberación o producción de muchos compuestos activos farmacológicamente. Los perros atópicos también desarrollan reacciones de fase tardía (a las 6 horas) a alérgenos inyectados intradérmicamente, aunque la importancia clínica o terapéutica de estas reacciones es desconocida (Scott *et al.*, 1995).

El rol exacto de la IgE en la patogenia de la atopia permanece sin ser aclarado. En la atopia humana se ha observado que el 20% tiene niveles séricos normales o bajos de IgE y que los niveles séricos de IgE anormalmente aumentados no fluctúan consistentemente durante exacerbaciones, remisiones o tratamiento. Adicionalmente, ni en humanos ni en perros los resultados positivos de las pruebas dérmicas que detectan la presencia IgGd o IgE alérgeno-específica, producen el tipo de lesión dérmica vista en la enfermedad clínica. De hecho, muchos perros incluso no presentan prurito en el sitio de inyección de la prueba (Scott *et al.*, 1995).

La aparición de pruebas “in vitro” que miden los niveles séricos de IgE alérgeno-específica ha ofrecido otra herramienta para la medición de la producción de IgE. Estos “test” han demostrado en un número de estudios que los perros normales también producen IgE alérgeno-específica y que los títulos no se correlacionan con enfermedad clínica. Estas observaciones en perros han conducido a la hipótesis de que puede existir heterogeneidad de IgE, en que sólo uno o algunos tipos selectos se relacionen con la enfermedad atópica (Scott *et al.*, 1995).

Un concepto más nuevo también cuestiona el sitio inicial de estimulación inmunológica. En pacientes atópicos, la IgE ha sido encontrada en células de Langerhans epidérmicas. Este hallazgo ha llevado a preguntarse si la disfunción inmune ocurre siguiendo la absorción percutánea del alérgeno y si su procesamiento por células de Langerhans anormales es el paso inicial en la inducción y desarrollo de la enfermedad atópica. Estas células de Langerhans procesadoras de alérgenos normalmente migran a linfonódulos regionales, donde ellas estimulan una respuesta de células T helper. En

humanos con dermatitis atópica, sin embargo, las células de Langerhans pueden ser capaces de estimular células T localmente. En el paciente atópico, esta habilidad puede llevar a una respuesta exagerada de linfocito. Se ha revelado que los perros atópicos aumentan su producción de linfocitos T helper de la subclase Th2. Estas células T helper inducen preferentemente producción de IgE por las células B y de IL-4, IL-5 e IL-10 por ellas mismas (Nuttall *et al.*, 2002). Estas interleucinas estimulan la activación y proliferación de los mastocitos y eosinófilos. Aunque los eosinófilos no han sido vistos en la piel lesionada de humanos con dermatitis atópica, la presencia de proteínas catiónicas y básicas mayores derivadas de eosinófilos indica que los eosinófilos estuvieron presentes (Scott *et al.*, 1995).

En este modelo de desarrollo de dermatitis atópica, la presencia de células T-helper alérgeno-específicas es el factor clave en la iniciación de las lesiones dérmicas. El rol de la IgE ha variado de ser un agente sensibilizador crucial de las células efectoras a ser un facilitador de la presentación de antígenos por las células de Langerhans (Sinke *et al.*, 2002). Recientemente, fue demostrado que la IgE no es esencial para la inducción de la inflamación de la piel mediante sensibilización epicutánea en dermatitis alérgica (Spergel *et al.*, 1999). Estas observaciones sugieren que la IgE en la dermatitis atópica es meramente un reflejo del balance Th1/Th2 cambiado y no necesariamente una causa relacionada al desarrollo de las lesiones dérmicas (Sinke *et al.*, 2002). En resumen, el desbalance Th1/Th2 parece ser el principal contribuyente en la patogénesis de la dermatitis atópica canina (Shida *et al.*, 2004).

En humanos, cambios similares a las lesiones ocurridas naturalmente pueden ser inducidos con la prueba de parche en pacientes con dermatitis atópica, pero no en pacientes normales o en pacientes con rinitis o asma (Scott *et al.*, 1995). Hace tiempo se sospecha que la absorción percutánea es importante en el perro (Olivry *et al.*, 1996). Las lesiones inducidas por la prueba de parche en el perro son groseramente similares a las que ocurren en lesiones de dermatitis atópica, en contraste a lo ocurrido con las pruebas intradérmicas, por lo que la prueba de parche representa un modelo experimental de relevancia para el estudio de la dermatitis atópica canina (Olivry *et al.*, 2006). Estas observaciones implican que la absorción percutánea es importante y que la patogénesis abarca células T helper y eosinófilos. Además, la predominancia de lesiones dérmicas en la atopia canina en áreas de

contacto, apoyaría la importancia de la penetración percutánea del alérgeno (Scott *et al.*, 1995).

Un resumen de la posible patogénesis de la enfermedad dérmica atópica puede ser como sigue: los alérgenos absorbidos percutáneamente (penetración del alérgeno probablemente acentuada por un defecto intrínseco en la función de la barrera epidérmica) encuentran la IgE alérgeno-específica sobre las células de Langerhans, donde los alérgenos son atrapados, procesados, y presentados a los linfocitos T alérgeno-específicos. Subsecuentemente, hay una expansión preferencial de células Th2 alérgeno-específicas, las cuales producen IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, e IL-10. El desequilibrio entre células Th2 alérgeno-específicas (con el resultante incremento de la IgE alérgeno específica estimulado por la IL-4) y células Th1 alérgeno-específicas (con la resultante reducción de la inhibición del interferón alfa sobre la producción de la IgE alérgeno-específica) culmina en la producción acentuada de IgE alérgeno-específica por los linfocitos B (Scott *et al.*, 1995).

ASPECTOS CLÍNICOS

La atopia es universalmente reconocida y en áreas con pulgas, es el segundo desorden cutáneo de hipersensibilidad más común en el perro (Scott *et al.*, 1995; Reedy *et al.*, 1997). Si bien no se conoce con certeza su prevalencia (Hillier y Griffin, 2001), se estima que puede ser de un 3-15% (Reedy *et al.*, 1997) o alrededor de un 10% (Scott *et al.*, 1995).

Al igual que las alergias en humanos, se ha observado que la dermatitis atópica canina ha aumentado en las últimas décadas (Scott, 1981; Scott y Paradis, 1990).

La predisposición racial definitivamente es vista en la dermatitis atópica. Se ha reportado que las siguientes razas tienen un riesgo relativo mayor: Beauceron, Boston terrier, Boxer, Cairn terrier, Shar pei chino, Cocker Spaniel, Dálmata, Bulldog inglés, Setter inglés, Fox terrier, Setter irlandés, Labrador retriever, Labrit, Lhasa apso, Schnauzer miniatura, Pug, Scottish terrier, Sealyham terrier, Setter, West Highland white terrier, Wire haired fox terrier y Yorkshire terrier (Griffin y DeBoer, 2001).

Los reportes de predilección sexual son inconsistentes, de modo que en la actualidad, este tema se considera sin resolver (Griffin y DeBoer, 2001). La predilección

sexual por machos ha sido descrita en un estudio (Nesbitt, 1978), la predilección por hembras se ha descrito en otros (Halliwell y Schwartzman, 1971; Nesbitt *et al.*, 1984; Scott, 1981) y en algunos estudios no se ha demostrado predilección por ninguno de los sexos (Carlotti y Costargent, 1994; Saridomichelakis *et al.*, 1999; Willemse y van den Brom, 1983).

La típica edad de inicio de los signos clínicos en los perros atópicos es entre los 6 meses y los 3 años, siendo poco probable (aunque posible) que se presenten antes de los 6 meses o después de los 7 años (Griffin y DeBoer, 2001).

Los signos clínicos pueden inicialmente ser estacionales o no estacionales, dependiendo de los alérgenos involucrados. La mayoría de los perros atópicos eventualmente tendrán signos clínicos no estacionales. Casi el 80% de los perros atópicos en un principio manifiestan signos clínicos en el periodo de primavera a otoño, y casi el 20% comienza en invierno (Scott, 1981; Griffin y DeBoer, 2001).

Un típico perro con dermatitis atópica exhibirá prurito en la cara, orejas, cojinetes, extremidades o vientre. Cualquiera de estas áreas, cualquier combinación o todas ellas pueden estar afectadas. El prurito generalizado se describe en el 40% o más de los perros (Scott, 1981; Nesbitt *et al.*, 1984, Griffin y DeBoer, 2001).

Los estudios varían en la estimación de la naturaleza de las lesiones iniciales que pueden ser vistas en la dermatitis atópica canina (Griffin y DeBoer, 2001). Algunos autores sugieren que no hay lesiones primarias (Halliwell y Schwartzman, 1971; Scott, 1981); algunos describen una erupción primaria tipo placa o mácula eritematosa (Criep, 1968; Rockey y Schwartzman, 1967), y otro describe una erupción papular eritematosa (Chamberlain, 1974). Un estudio que describió prurito facial en todos los pacientes también notó que el 33% de los perros no exhibieron lesiones en estas áreas pruríticas (Willemse y van den Brom, 1983). Así, el consenso parece ser que algunos perros con dermatitis atópica no tienen lesiones primarias visibles incluso en áreas pruríticas y que las lesiones primarias de dermatitis atópica (cuando se presentan) consistiría básicamente en eritema (Griffin y DeBoer, 2001).

Las lesiones secundarias son comunes en la dermatitis atópica y son el reflejo del prurito crónico y trauma, inflamación crónica e infecciones secundarias concurrentes o sobrecrecimiento bacteriano (Griffin y DeBoer, 2001). Estas lesiones incluyen alopecia

parcial o completa, tinción salival, pápulas, pústulas, pápulas costrosas circulares, hiperpigmentación, y liquenificación. Las lesiones por lo general se observan en los sitios de prurito, como la cara, patas, extremidades distales, codos anteriores, y vientre, o alguna combinación de los anteriores. Otitis externa atópica y conjuntivitis puede estar presente en cerca del 50% de los perros (Scott, 1981). Pioderma bacteriano secundario (foliculitis, furunculosis), dermatitis piodtraumática, o dermatitis por lamido de los miembros puede estar presente en el 68% de los perros atópicos (Scott *et al.*, 1995). La seborrea marcada se describe en el 12-23% de los perros atópicos. La hiperhidrosis puede estar presente en 10 a 24% de los perros atópicos (Scott, 1981; Willemse y van den Brom, 1983). Enfermedad seborreica, infecciones bacterianas secundarias, e infecciones secundarias por *Malassezia* pueden contribuir al olor objetable de los perros atópicos (Scott *et al.*, 1995).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la dermatitis atópica canina se basa en combinar epidemiología, hallazgos clínicos y diagnósticos y en descartar otras condiciones (Willemse, 1986; DeBoer y Hillier, 2001b).

El diagnóstico diferencial es largo, considerando la amplia variación de signos que se presentan y complicaciones secundarias que pueden ocurrir. Las consideraciones más comunes en los diagnósticos diferenciales son: hipersensibilidad a la mordida de pulga, hipersensibilidad alimentaria, sarna, hipersensibilidad a insectos, dermatitis por contacto (irritantes primarios o hipersensibilidad), hipersensibilidad a parásitos intestinales, foliculitis bacteriana, y dermatitis por *Malassezia* (Scott *et al.*, 1995).

La revelación de los alérgenos involucrados puede ser hecha con una prueba intradérmica y, hasta cierto punto, con pruebas “in vitro” (serológicas). Se piensa que las pruebas intradérmicas son superiores a las pruebas de rascado, de “prick” e “in vitro” (Scott *et al.*, 1995; Griffin y Hillier, 2001; DeBoer y Hillier, 2001a). Debido a la común ocurrencia de reacciones falsas positivas (clínicamente insignificantes), las pruebas “in vitro” no deberían ser usadas solas para diagnosticar atopia, pero pueden ser de ayuda en determinar cuales alergenos incluir en una fórmula de hiposensibilización (Scott *et al.*, 1995).

Prueba de intradermorreacción

Es el proceso de introducir antígenos en la dermis de pacientes atópicos para obtener reacciones de hipersensibilidad macroscópicas (Olivry *et al.*, 2001).

Un número limitado de estudios han estado dirigidos a documentar procedimientos óptimos de pruebas intradérmicas. Algunas veces diferentes fuentes alérgicas comerciales fueron usadas, haciendo imposibles las comparaciones, y los estudios no han comparado directamente distintas fuentes comerciales de alérgenos. En general, la concentración de alérgeno acuoso recomendada para la prueba es de 1000 PNU/ml o 1:1000 peso/volumen (p/v) (Scott *et al.*, 1995). Las soluciones acuosas son las más usadas. Los extractos glicerinados y precipitados en alumbre a menudo rinden resultados falsos positivos (Sousa, 1996).

Selección del alérgeno para la prueba de intradermorreacción

Grandes problemas sin resolver rodean la estandarización de los extractos alérgicos, incluyendo estándares para recolección de materia prima, métodos de medición de pureza de la materia prima, técnicas para identificar muchas sustancias, una variedad de métodos de manufactura, y determinación de estabilidad y potencia del alérgeno. Discusiones con la casa abastecedora, considerando los alérgenos más importantes para el área de práctica, puede ser la manera más apropiada de llevar a cabo pruebas exactas y rentables para el presupuesto del cliente (Scott *et al.*, 1995).

Los alérgenos que comúnmente se reportan como importantes son ácaro del polvo doméstico, ácaros de almacenamiento, polvo de casa, caspa humana, plumas, hongos, insectos, fibras y pólenes de hierbas (malezas), pastos y árboles (Scott, 1981; Schick y Fadock, 1986; Carlotti y Costargent, 1994; Scott *et al.*, 1995; Hill y DeBoer, 2001; Zur *et al.*, 2002). En los Estados Unidos de América (EEUU), la mayoría de los animales son multisensibles (Scott, 1981; Schick y Fadock, 1986; Scott *et al.*, 1995), pero la polisensibilización es raramente reportada en Europa. De hecho, los perros europeos son a menudo sensibles sólo a ácaros del polvo doméstico, e incluso cuando otros alérgenos dan reacciones positivas, la hiposensibilización es frecuentemente emprendida usando sólo ácaro del polvo y re-evaluada en 1 año (Scott *et al.*, 1995).

Es esencial recordar que una reacción cutánea positiva sólo denota que el paciente tiene anticuerpo sensibilizante de la piel, mastocitos que se degranulan con la exposición antigénica y tejidos blancos que responden a los mediadores liberados, y no implica necesariamente que el sujeto tenga alergia clínica por los alérgenos inyectados. Por ello, es prudente que las reacciones cutáneas positivas sean interpretadas en función de los antecedentes del paciente (Sousa y Norton, 1990). Con el mismo razonamiento, una prueba negativa no siempre significa que el paciente no sea atópico. El 10 al 30% de los perros atópicos clásicos pueden tener reacciones negativas. Esto probablemente implique una insuficiencia (por el número limitado de alérgenos usados en las pruebas) en el desafío de los perros con los alérgenos apropiados o la intervención de varios factores conocidos por producir reacciones falsas negativas (Scott *et al.*, 1995).

Muchos factores pueden motivar reacciones cutáneas falsas (positivas y negativas) en los perros. Estos factores deben ser considerados con cautela cuando se realizan las pruebas cutáneas. La causa más regular de reacciones negativas es la administración reciente de ciertas drogas: glucocorticoides, antihistamínicos, progestágenos. Las reglas generales para la suspensión de la farmacoterapia previa a las pruebas cutáneas abarcan: 3 semanas para glucocorticoides orales y tópicos, 8 semanas para glucocorticoides inyectables, 10 días para antihistamínicos y 10 días para productos que contienen ácidos grasos omega-3/ omega-6 (Scott *et al.*, 1995).

Pueden darse intradermorreacciones falsas positivas por las siguientes razones:

1. Concentración excesiva de alérgeno de prueba.
2. Dosis muy alta del alérgeno de prueba.
3. Alérgenos irritantes, en particular los que contienen glicerina y vacunas bacterianas.
4. Alérgenos contaminados.
5. Mala técnica, incluida la colocación traumática de la aguja, aguja poco afilada o áspera.
6. Presagio de sensibilidad futura o remanente de sensibilidad pasada.
7. Uso de sustancias que causan la liberación no inmunológica de histamina, incluidos los narcóticos (derivados de la morfina).
8. Potenciación no específica mediante un reflejo axónico a partir de una reacción fuerte próxima.

9. Dermografismo: gran reacción a todas las sustancias inyectadas incluido el control negativo (solución salina).

Las razones específicas para las reacciones falsas negativas comprenden:

1. Técnica inadecuada, incluida la inyección subcutánea del alérgeno y la inyección de aire (“salpicadura”).
2. Alérgeno insuficiente causado por mezclas o grupos de alérgenos sin relación antigénica, extractos viejos o vencidos, mala potencia inicial, falta de estabilidad y alérgenos muy diluidos.
3. Interferencia farmacológica, como los glucocorticoides, antihistamínicos, tranquilizantes, sedantes, compuestos de progesterona, cromoglicato y cualquier medicación que disminuya la presión sanguínea.
4. Factores propios del huésped, como enfermedad sistémica crónica, estro o falsa preñez, estrés intenso, temor o forcejeo desmedido e inmunosupresión.
5. Ausencia de alérgeno ofensivo.
6. Alergia prolongada.
7. Fines de la estación alérgica (bajo nivel de anticuerpos específicos para el alérgeno).
8. Hiposensibilización anterior con ese alérgeno.
9. Pigmentación del manto (la reacción a ciertos extractos alergénicos disminuye a medida que aumenta la pigmentación del pelaje) (Sousa, 1996).

Por cierto, la prueba ID no es un procedimiento que deba emprenderse a la ligera. Requiere la atención en los detalles y posibles inconvenientes, junto a la experiencia y pericia con su práctica. No obstante, es el método preferido para el diagnóstico de la atopia canina y la determinación de la inmunoterapia adecuada (Codner y Lessard, 1993; Scott *et al.*, 1995).

Procedimiento para la prueba intradérmica

Un procedimiento empleado regularmente para la prueba ID es el siguiente:

1. Para confirmar que el paciente sea evaluable vía ID, se inyecta fosfato de histamina 1:100.000 en dosis de 0,05 ml. Una roncha con un diámetro de 10 a 20 mm debería presentarse en 15 a 30 minutos después de la inyección. Si la roncha es pequeña (<10mm) o no aparece, posponer el estudio y valorar al animal con histamina sobre una base semanal hasta que se observe la reacción esperada (Scott *et al.*, 1995).

2. La mayoría de los animales toleran el estudio sin anestesia (Sousa, 1996), pero a menudo se recomienda la sedación para disminuir el estrés del paciente, estrés que podría causar liberación de corticoesteroides endógenos o inyección subcutánea accidental, situaciones que podrían alterar el resultado de la prueba (Frank *et al.*, 1992; Hillier y DeBoer, 2001). Usualmente se recomienda xilazina, 0,45 a 2 mg/kg vía endovenosa y sulfato de atropina, 0,04 mg/kg vía endovenosa (Beale *et al.*, 1990; Sousa, 1996, Graham *et al.*, 2003).
3. El sitio de prueba sugerido es la piel del tórax lateral. Debido a que las diferentes áreas de piel varían en sensibilidad, el sitio empleado debería ser constante de un paciente a otro. Rasurar suavemente, sin utilizar una preparación química para limpiar la zona de prueba. Emplear un marcador para señalar cada sitio de inyección. Los sitios de inyección deben estar separados por un mínimo de 1,5 cm evitando áreas con dermatitis (Scott *et al.*, 1995).
4. Con el uso de una aguja de 3/8 pulgadas (0,9 cm), calibre 26 o 27, acoplada a una jeringa de 1 ml, inyectar cuidadosamente (vía ID) 0,05 ml de solución salina o diluyente (control negativo), 0,05 ml de fosfato de histamina 1:100.000 (control positivo) y todos los alérgenos bien mezclados. Leer los sitios de prueba entre 15 y 30 minutos después. Impedir que el animal se traumatice el área de estudio (Scott *et al.*, 1995).
5. Por convención, una reacción 2+ o mayor se considera potencialmente significativa y debe correlacionarse en forma cautelosa con la anamnesis del paciente. Una reacción positiva entonces puede definirse objetivamente como una roncha que tiene un diámetro que es igual o mayor que la equidistancia entre los controles de solución salina e histamina. Sumada a la valoración objetiva del tamaño, también se emplea la valoración subjetiva del eritema y turgencia de las ronchas para determinar la reacción positiva. El tamaño de las reacciones cutáneas positivas no necesariamente se correlacionan con su importancia clínica. A veces hay prurito en algunas reacciones positivas y se les puede controlar con paños fríos o esteroides tópicos. Las reacciones sistémicas (anafilaxia) son excepcionales en las pruebas ID caninas (Scott *et al.*, 1995).

Cuadro 2: Criterios para la graduación de las intradermorreacciones.

| | |
|-------------------|--|
| Subjetivos | <ol style="list-style-type: none"> 1. Comparar el tamaño y color de la roncha y la inclinación de la pared. 2. Comparar controles positivo y negativo con la reacción al alérgeno. 3. Grados 0 a 4 de las reacciones individuales: <ol style="list-style-type: none"> a. Control negativo = 0 b. Control positivo = 4 c. 2 x tamaño de control negativo = 1 d. 3 x tamaño de control negativo = 2 e. 4 x tamaño de control negativo = 3 f. Igual tamaño del control positivo = 4 4. El aumento del eritema y/o inclinación de las paredes tiene influencia positiva sobre el grado 5. Una reacción irritante leve del alérgeno conocido tiene influencia negativa sobre el grado |
|-------------------|--|

| | |
|------------------|---|
| Objetivos | <ol style="list-style-type: none"> 1. Medición del diámetro del control negativo 2. Medición del diámetro de las reacciones individuales 3. Graduación: <ol style="list-style-type: none"> a. Reacción negativa = < 3 mm más grande que el control negativo b. Reacción positiva = > 3 mm más grande que el control negativo <li style="text-align: center;">o c. Promediar el diámetro de los controles negativo y positivo. Toda roncha mayor que el promedio obtenido es una reacción positiva |
|------------------|---|

(Sousa, 1996)

Estudios “in vitro”

1) Pruebas alérgicas serológicas

El análisis radioalergosorbente (RAST), análisis inmunoenzimático (ELISA), y análisis inmunoenzimático en fase líquida (VARL) son tres métodos que detectan niveles relativos de IgE alérgeno-específica en el suero. El RAST y el ELISA acoplan los alérgenos a probar a un sustrato sólido con disco de papel o cubeta de poliestireno. El análisis

inmunoenzimático en fase líquida no emplea una fase sólida en principio, pero combina el alérgeno marcado con el suero del paciente. El complejo anticuerpo-alérgeno marcado combinado luego es unido con rótulo a la cubeta plástica. Este método en el hombre demostró reducir la incidencia de resultados falsos positivos debido a la IgE inespecífica de fondo (Scott *et al.*, 1995). En general, estos métodos no se emplean solos para el diagnóstico de la atopia (Codner y Lessard, 1993).

Los niveles séricos totales de la IgE son muchos más altos en los perros que en las personas, con la concentración media en los perros normales de casi 190 µg/ml, similar a la detectada en los ejemplares atópicos. Los niveles son máximos en los perros con endoparasitosis. También se demostró en el perro que los niveles más altos de IgE total contribuyen a la mayor incidencia de reacciones falsas positivas o irrelevantes (Scott *et al.*, 1995).

Las pruebas alérgicas serológicas poseen numerosas ventajas sobre las ID, incluidas: ausencia de riesgo para el paciente (no demanda sedación, no hay peligros de reacciones anafilácticas); conveniencia (no requiere rasurar el pelo, sujeción química o internación del enfermo para la preparación, ejecución y evaluación del testeo); menor probabilidad de influencias por farmacoterapias previas o vigentes; posibilidad de emplear en pacientes con dermatitis diseminada o dermatografismo (Sousa y Norton, 1990). Las desventajas de los estudios serológicos son sus costos (más altos), empleo de mezclas de alérgenos y resultados falsos positivos (sin interés clínico) habituales (Codner y Lessard, 1993; Scott *et al.*, 1995).

Los resultados de las pruebas alérgicas serológicas se correlacionan sólo parcialmente con los de los métodos ID; sin embargo, la importancia de los resultados discrepantes es desconocida (DeBoer y Hillier, 2001a).

Considerando toda la información vigente disponible, la prueba ID es el método preferido para el diagnóstico de la atopia canina (Beale *et al.*, 1990; Codner y Lessard, 1993; Scott *et al.*, 1995). Cuando la misma no es accesible, sus resultados son negativos en un perro con atopia clásica o resulta infructuosa la hiposensibilización basada en las pruebas ID, pueden emplearse los estudios alérgicos serológicos (Scott *et al.*, 1995).

2) Prueba de degranulación basofílica

La degranulación basofílica “in vitro” demostró ser promisoría en el diagnóstico de la atopia canina. El estudio requiere sangre reciente, debe efectuarse dentro de las 24 horas, lleva tiempo y es de ejecución intensiva y es poco probable que supere su ámbito como herramienta de investigación (Scott *et al.*, 1995).

Criterios diagnósticos mayores y menores

Debido a las dificultades asociadas con el diagnóstico “in vivo” e “in vitro” de la atopia, el concepto de rasgos diagnósticos mayores y menores fue introducido en el intento de brindar regularidad en los diagnósticos de la atopia canina y humana (Willemse, 1986; Scott *et al.*, 1995). Se considera al animal como atópico cuando presenta al menos tres características principales y tres secundarias (Rejas *et al.*, 2004).

Cuadro 3: Características principales y secundarias en los perros atópicos

| Características principales | Características secundarias |
|--|---|
| -Prurito | -Comienzo de síntomas antes de los 3 años |
| -Afectación facial y / o digital | -Eritema facial y queilitis |
| -Liquenificación de la superficie flexora del tarso o de la superficie extensora del carpo | -Conjuntivitis folicular bilateral |
| -Dermatitis crónica o crónica recurrente | -Foliculitis superficial estafilocócica |
| -Historia familiar o individual de atopia | -Xerosis |
| -Predisposición de raza | -Hiperhidrosis |
| | -Positividad a la prueba intradérmica inmediata |
| | -Aumento de IgGd específica de alérgeno |
| | -Aumento de IgE específica de alérgeno |

(Willemse, 1986)

Hasta el momento, ningún estudio ha documentado la validez y confiabilidad de usar estos criterios en el diagnóstico de la atopia canina. Asimismo, se sugirió que el diagnóstico tentativo de la enfermedad atópica requiere la exclusión de otras posibilidades principales, porque los criterios enumerados determinan que el paciente puede tener atopia, pero no descartan la probabilidad de algún otro diagnóstico (Scott *et al.*, 1995).

MANEJO CLINICO

En cuanto al pronóstico, los perros atópicos tienen casi un 80% de posibilidades de experimentar enfermedad no estacional. La desensibilización natural es poco común. En general, más del 90% de los perros atópicos pueden ser controlados de manera satisfactoria. El cliente debe saber, sin embargo, que el tratamiento puede requerirse de por vida y que se aguardan modificaciones terapéuticas con el paso del tiempo. Antes de analizar los detalles terapéuticos con el cliente, es fundamental mencionar que algunos alérgenos pueden ser tolerados por un individuo sin manifestaciones morbosas, pero un pequeño aumento en esa carga (uno o más alérgenos) puede reducir el umbral prurítico e iniciar los signos clínicos. De igual importancia cuando se considera la causa de los trastornos dermatológicos es el concepto de suma de efecto; por ejemplo, una hipersensibilidad subclínica en combinación con infestación de pulgas, pioderma bacteriana leve o ambiente seco puede producir marcado malestar que podría no suceder si alguno de los factores se presentara solo (Scott *et al.*, 1995).

El tratamiento para la dermatitis atópica canina envuelve una aproximación multifacética que incluye evitar el alérgeno, antibióticos y antiinflamatorios, así como inmunoterapia (Olivry y Sousa, 2001a). En la mayoría de los casos, una sola droga no brinda los resultados más seguros y eficaces y el problema debe ser abordado con un plan terapéutico completo (Griffin y Rosenkrantz 1991; Scott *et al.*, 1995). El desarrollo de este plan necesita considerar variables múltiples, incluidas estacionalidad, distribución y grado de afectación cutánea, costos, deseos del cliente para llevar a cabo la terapia, aceptabilidad del paciente y riesgos para el enfermo (Scott *et al.*, 1995).

Anulación

La anulación de los alérgenos no siempre es factible o práctica. Tales manipulaciones y sus beneficios no suelen ser posibles sin la identificación precisa del alérgeno ofensivo mediante pruebas alérgicas. Como muchos pacientes tienen múltiples reactividades y la mayoría de los alérgenos no pueden ser evitados, el uso efectivo de este método rara vez es posible como modalidad única. No obstante, aún es un aspecto

importante del manejo, porque a menudo reducirá la carga de alérgenos. La exposición al ácaro del polvo casero puede reducirse manteniendo al animal más tiempo en el exterior, o al menos fuera de los dormitorios y alejado de telas. La exposición a los mohos puede disminuir eliminando o limpiando elementos enmohecidos, plantas hogareñas, alfombras de baños y manteniendo el pan refrigerado (Scott *et al.*, 1995).

Terapia tópica

La terapia tópica se aplica de dos maneras principales. La primera es mediante champús y enjuagues, que eliminan alérgenos desde la piel y ayudan a combatir la sequedad cutánea. La segunda es mediante agentes antipruríticos tópicos, que suelen ser más eficaces para el tratamiento de áreas localizadas de prurito. En general, la mayoría de los perros atópicos deben bañarse al menos cada 1 o 2 semanas (Scott *et al.*, 1995). La hidroterapia se puede acompañar, según los casos, de champús antisépticos (por ejemplo, clorhexidina al 3%) o con champús hidratantes, preferentemente a base de ácidos grasos (Rejas *et al.*, 2004). Los resultados de algunos estudios sugieren que la aplicación de un ungüento con tacrolimus al 0,1% es útil para reducir la severidad de lesiones dérmicas localizadas de dermatitis atópica canina (Marsella *et al.*, 2003; Bensignore y Olivry, 2005). También hay cierta evidencia de que el uso tópico de interferón- γ sería efectivo (Iwasaki y Hasegawa, 2006).

Agentes antipruríticos sistémicos

1) Drogas no esteroideas

De los numerosos antihistamínicos que se evaluaron en los perros atópicos, los siguientes fueron de mayor provecho: clemastina (0,05 – 0,1 mg/kg/12 horas, bucal), hidroxizina (2,2 mg/kg/8 horas, bucal), clorfeniramina (0,4 mg/kg/8 horas, bucal), y difenhidramina (2,2 mg/kg/8 horas, bucal) (Scott *et al.*, 1995; DeBoer y Griffin, 2001, Marsella y Olivry, 2001). Es esencial recordar que la respuesta a los antihistamínicos es bastante individual y que puede necesitarse el ensayo con varias drogas antes de encontrar la mejor para ese enfermo en particular. Asimismo, los antihistamínicos son más eficientes cuando se emplean como antipruríticos preventivos; por lo general son ineficaces para alcanzar el control rápido de un prurito manifiesto. Por último, cualquier antihistamínico

tiene sólo un 10 a 30% de posibilidades de ser eficaz en un paciente determinado (Scott *et al.*, 1995).

El empleo prudente de los antihistamínicos puede hacer que hasta un 60% de los casos atópicos sean manejados adecuadamente sin esteroides. Asimismo, el uso de estos agentes no esteroidales a menudo permite una reducción sustancial en las dosis necesarias de los glucocorticoides (Paterson, 1994; Scott *et al.*, 1995).

La suplementación con ácidos grasos esenciales es útil en el tratamiento de la dermatitis atópica (Mueller *et al.*, 2003; Saevik *et al.*, 2004).

2) Glucocorticoides sistémicos

Los corticoides parenterales suelen ser muy eficaces para el manejo de la atopia (Scott *et al.*, 1995; Olivry y Sousa, 2001a; Olivry y Sousa, 2001b; Olivry *et al.*, 2003). No obstante, representan la medida más peligrosa, y de uso habitual, en la terapia de la atopia. Como tal, su empleo debería restringirse a los casos con estaciones activas que duran menos de 4 a 6 meses o para los cuales las opciones más seguras son ineficientes. La prednisolona o prednisona se administra por oral (1 mg/kg/día) durante la mañana hasta controlar el prurito (3 a 10 días) y luego en días alternados (por la mañana) según necesidad. Este esquema es relativamente seguro comparado con los corticoides de acción larga. Algunos casos responden cada vez menos a los corticoides con el paso del tiempo. Debe recordarse que la respuesta a los glucocorticoides sistémicos no es un fenómeno del todo o nada y que una droga puede ser muy eficiente cuando otra fracasa. Además, la combinación de otros tratamientos puede permitir la reducción en la dosis necesaria de esteroides (Olivry y Sousa, 2001b; Scott *et al.*, 1995).

3) Otros agentes

Hay buena evidencia para recomendar el uso de ciclosporina oral (Olivry *et al.*, 2003; Steffan *et al.*, 2003; Radowicz y Power, 2005) y evidencia aceptable para usar pentoxifilina oral y misoprostol oral en los perros con dermatitis atópica (Olivry *et al.*, 2003). Además, hay cierta evidencia que indica que extractos de ciertas plantas medicinales chinas parecería ser un tratamiento efectivo, palatable y bien tolerado para perros atópicos (Ferguson *et al.*, 2006).

INMUNOTERAPIA

DEFINICIÓN

La inmunoterapia alérgeno-específica es la práctica de administrar a un sujeto alérgico cantidades gradualmente crecientes de un extracto alergénico con el objetivo de mejorar la sintomatología causada por la exposición posterior al alérgeno causante (Bousquet *et al.*, 1998).

La inmunoterapia pretende la modificación de la respuesta inmunológica (inmunomodulación) y debe distinguirse de la desensibilización; término que suele aplicarse a la administración rápida y progresiva de dosis crecientes de una sustancia alergénica para disminuir la reactividad de las células efectoras. La inmunoterapia no excluye otros tratamientos de las enfermedades alérgicas, como la evitación y el tratamiento farmacológico, aunque como a señalado la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el único tratamiento que puede alterar el curso natural de las enfermedades alérgicas (Brasó y Jorro, 2003).

Los objetivos del tratamiento con inmunoterapia son:

1. Modificar el curso de la enfermedad. La vacunación es la única opción terapéutica con posibilidades de modificar el curso natural de la enfermedad alérgica, junto con la evitación del alérgeno.
2. Fines curativos. El tratamiento inmunológico es el único que se ha mostrado válido. Los alérgenos frente a los cuales la inmunoterapia confiere protección son el veneno de himenóptero, los pólenes, los ácaros del polvo doméstico y de almacenamiento, el epitelio de animales, los hongos y la harina de trigo.
3. Prevención.
 - Reduce la respuesta frente a desencadenantes específicos.
 - Dificulta el desarrollo de nuevas sensibilizaciones.
 - Impide la progresión de la enfermedad alérgica (por ejemplo, aparición de asma en los casos de rinitis existentes previamente).

(López *et al.*, 2003a).

EFICACIA DE LA INMUNOTERAPIA

Son varias las organizaciones científicas europeas y americanas, así como la OMS, que avalan las indicaciones de la inmunoterapia, tratamiento que tras numerosos estudios ha demostrado que produce:

1. Mejoría clínica objetivable, con disminución de los síntomas y del uso de la medicación sintomática.
2. Aumento de la titulación a punto final de las pruebas cutáneas.
3. Incremento de la dosis umbral en las pruebas de provocación específicas.
4. Modificaciones en parámetros inmunológicos.

(Brasó y Jorro, 2003).

Está bien aceptado que la hiposensibilización es un tratamiento efectivo, valioso y relativamente seguro para los perros atópicos (Scott *et al.*, 1995).

En caninos, la inmunoterapia fue primero reportada en el tratamiento exitoso de un perro con fiebre del heno estacional (Wittich, 1941). En los últimos 30 años, numerosos estudios han reportado la eficacia de la inmunoterapia para la dermatitis atópica canina, actualmente considerada uno de los pilares del tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, con raras excepciones, estos estudios han sido diseñados como experimentos abiertos y no controlados, con una alta subjetividad en la valoración de los resultados. De este modo, es muy difícil comparar resultados de estos estudios y sacar conclusiones significativas (Griffin y Hillier, 2001).

Los resultados de numerosos estudios abiertos y no controlados sugieren que los perros atópicos que reciben inmunoterapia alérgeno-específica exhiben mejoría (Halliwell y Schwartzman, 1971; Nesbitt, 1978; Reedy, 1979; Scott, 1981; Willemse *et al.*, 1984; Sousa y Norton, 1990; Miller *et al.*, 1993; Scott *et al.*, 1993; Mueller y Bettany, 1996; Schwartzman y Mathis, 1997; Rosser, 1998; Park *et al.*, 2000; Griffin and Hillier, 2001).

En un estudio controlado con placebo a doble ciego se encontró que el 59% de los perros que recibieron inmunoterapia mostró mejoría, contra un 21% que mejoró con placebo. Sin embargo, se debe ser cuidadoso al interpretar estos datos debido a que hubo un

elevado número de retiro de pacientes en ambos grupos, lo que resulta en una evaluación estadística poco clara (Willemse *et al.*, 1984).

Las variables que pueden afectar la eficacia de la inmunoterapia son:

1. *Selección del alérgeno.* La respuesta a la inmunoterapia parece ser alérgeno-específica. En un estudio realizado, el 18% de los perros tratados con un set de alérgenos estándar (no específico) mostró mejoría de los signos clínicos, mientras que un 70% de los perros tratados con alérgenos específicamente seleccionados mediante una prueba de intradermorreacción mostró mejoría de los síntomas (Willemse *et al.*, 1984).
2. *Mezcla de alérgenos.* En humanos, la inmunoterapia es más efectiva al usar un único alérgeno o una mezcla de alérgenos relacionados. Dos problemas que pueden ocurrir al mezclar alérgenos son: una excesiva dilución (que lleva a una dosificación subóptima y un deterioro más rápido del alérgeno) y pérdida de la alergenidad (como resultado de la actividad enzimática de algunos extractos) (Bousquet *et al.*, 1998).
3. *Ruta de administración.* La vía subcutánea es la ruta estándar para inmunoterapia en perros, debido a que otras rutas no han sido evaluadas (Griffin y Hillier, 2001).
4. *Número de alérgenos.* En el pasado, se sugería que no más de 10 ó 12 alérgenos fueran incluidos en una inmunoterapia. Sin embargo, a la fecha no existen estudios controlados que aseguren una relación entre número de alérgenos y eficacia de la inmunoterapia. Teóricamente, un perro multisensibilizado puede ser tratado con inmunoterapia que no incluya todos los alérgenos (Griffin y Hillier, 2001). El éxito se ha logrado con seguridad con la inclusión de hasta 30 o más alérgenos en las vacunas acuosas para los perros atópicos. En los animales con multisensibilidades (por ejemplo 20 ó 30 o más), los alérgenos deben seleccionarse sobre la base de la anamnesis, la probable presencia de ese alérgeno en el ambiente, la frecuencia con que el alérgeno es reactivo en esa región y la duración de la presencia del alérgeno. En la decisión también puede ser aprovechada la reactividad cruzada. En general, la mayoría de los pastos hacen reacción cruzada y pueden estar representados por uno de dos grupos mayores. Las semillas son el segundo grupo que más reactividad cruzada hace, y los árboles son los menos (Scott *et al.*, 1995).
5. *Dosis del alérgeno.* Se ha demostrado que pacientes que reciben altas dosis de alérgeno obtienen más beneficio y las dosis bajas son ineficaces. Hay que alcanzar la dosis

óptima, que es aquella dosis efectiva que no provoque efectos adversos (Brasó y Jorro, 2003). En medicina veterinaria no hay extractos estandarizados disponibles. Por convención o hábito, los viales de mantenimiento tienen concentraciones de 10.000 a 20.000 PNU/ml. Sin embargo, no hay estudios que confirmen si estas dosis son mejores o peores que otras (Griffin y Hillier, 2001).

6. *Frecuencia de administración.* El intervalo entre inyecciones no ha sido evaluado en perros. Por convención o hábito, el intervalo en la fase de inducción es de 1 a 2 días y en la fase de mantenimiento, de 10 días para inmunoterapia con extractos acuosos (Scott *et al.*, 1995). En cuanto a los extractos “depot”, la aplicación de las dosis se realizan habitualmente con intervalos semanales hasta que se alcanza la dosis de mantenimiento (fase de inducción), la cual, una vez alcanzada, se repite mensualmente (fase de mantenimiento) (Benjumeda *et al.*, 2003).
7. *Duración de la inmunoterapia.* En humanos, la inmunoterapia debe ser mantenida entre 3 y 5 años, para que el beneficio se prolongue después de cesar la administración. Generalmente la eficacia se demuestra durante el primer año de tratamiento (Brasó y Jorro, 2003). El efecto a largo plazo no ha sido evaluado con estudios controlados en el perro (Griffin y Hillier, 2001).
8. *Tipo de alérgeno.* De los distintos estudios, se concluye que la inmunoterapia no es igual de eficaz para todos los alérgenos (Brasó y Jorro, 2003).

INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES

Indicaciones

Según Brasó y Jorro (2003), la inmunoterapia está indicada en sujetos con predominio de componente mediado por IgE, en los que se presentan estas circunstancias:

- No controlados con medidas ambientales y escasa medicación esporádica, bien tolerada y de bajo riesgo.
- Esteroide-dependiente.
- Severidad progresiva.
- Inducido por ácaros.
- Inducido por pólenes.

- Inducido por epitelios.
- Inducido por hongos.

La inmunoterapia está indicada en perros con diagnóstico de dermatitis atópica, en los cuales una prueba intradérmica o determinación serológica de IgE alérgeno-específica, hayan permitido la identificación del alérgeno causante de la enfermedad, cuyo contacto con el paciente es inevitable (De Boer y Hillier, 2001b).

No indicado

Según Brasó y Jorro (2003) la inmunoterapia no estaría indicada en sujetos con predominio de componente mediado por IgE que se encuentren bien controlados con medidas ambientales o con medicación escasa, esporádica, bien tolerada y de bajo riesgo. Tampoco estaría indicada en sujetos en los que no predomina el componente mediado por IgE ni en procesos no mediados por IgE.

Contraindicaciones

Según Brasó y Jorro (2003) la inmunoterapia no debería usarse en sujetos que estén en tratamiento con bloqueantes β , en aquellos que tengan contraindicaciones para el uso de la adrenalina (hipertiroidismo, hipertensión arterial, cardiopatía, etc.) y en aquellos que padezcan de otras enfermedades inmunológicas o dermatitis atópica grave.

MECANISMOS DE ACCIÓN

Introducción

Las características fisiopatológicas clásicas de la respuesta inflamatoria alérgica son la activación de mastocitos y basófilos dependiente de IgE y la eosinofilia tisular (Lopez *et al.*, 2003b), pero en los últimos años, además, se ha demostrado la participación esencial de las citocinas de origen linfocitario en dicha respuesta (Romagnani, 2006).

El mecanismo de acción de la inmunoterapia no está completamente definido. Se sabe que la inmunoterapia produce cambios inmunológicos a distintos niveles. Estos cambios pueden agruparse en modificaciones de la respuesta inmunitaria

(inmunomodulación) y disminución de la reactividad del órgano de choque (desensibilización) (López *et al.*, 2003b).

Se han estudiado los mecanismos de acción de la inmunoterapia con alérgenos y los últimos trabajos sugieren que la base de éstos se encuentra en la actuación primera sobre la respuesta de la célula T que, secundariamente, llevará a modificaciones tanto en los factores humorales como en las células efectoras (Akdis *et al.*, 2004; Shida, 2004; Jutel *et al.*, 2006; Romagnani, 2006).

Existen dos tipos de linfocitos T-CD4+ (T-helper o Th), según el perfil de las citocinas específicas que producen tras su activación:

1. *Linfocitos Th1*. Sintetizan específicamente interferón γ (IFN- γ) e interleucina 2 (IL-2).
2. *Linfocitos Th2*. Producen, sobre todo, interleucinas 4, 5 y 13 (IL-4, IL-5 e IL-13) (Romagnani, 2006).

La IL-5 es un factor de crecimiento importante de los eosinófilos y provoca su diferenciación, activación final y permanencia en los tejidos. Además, IL-4 e IL-13 son importantes para el cambio de isotipo hacia la cadena pesada de IgE, proceso que es inhibido por las citocinas de perfil Th1. Tanto la IL-4 como la IL-5 participan de forma importante en la activación de los linfocitos B. El IFN- γ es inductor de actividad de los macrófagos e interviene también en la producción de IgG por la célula B (López *et al.*, 2003b).

Modificaciones producidas por la inmunoterapia

Durante la inmunoterapia se han descrito las siguientes modificaciones:

1. Las concentraciones séricas de IgE total y de IgE alérgeno-específicas aumentan inicialmente para caer de forma gradual a niveles basales o similares a los de pacientes no alérgicos en el curso de la inmunoterapia, lo cual, además, se correlaciona con la mejoría clínica en estos pacientes (Benjaponpitak *et al.*, 1999). Se ha demostrado que en casos de poca o nula respuesta a la inmunoterapia no se produce este descenso en los niveles de IgE. Esta acción de la inmunoterapia sobre los niveles séricos de IgE no está definida claramente y hay trabajos que apuntan hacia una acción sobre la síntesis de esta inmunoglobulina pareja a la modificación de los niveles de distintas citocinas, sobre todo la disminución de IL-4 e IL-5 y el aumento de IFN- γ (López *et al.*, 2003b).

2. La inmunoterapia provoca la producción de anticuerpos IgG, la mayoría de los cuales actúa como “bloqueantes”, es decir, éstos compiten con la IgE para la fijación de alérgenos y dificulta la activación de mastocitos-basófilos dependientes de IgE. Sin embargo, las subclases de IgG pueden tener distintas implicaciones en la respuesta alérgica. Muchos trabajos demuestran que la inmunoterapia aumenta los niveles de IgG específica, en concreto IgG1 e IgG4, y que los antígenos no alérgicos generan la producción de IgG2 e IgG3; sobre todo, la elevación progresiva y mantenida en el tiempo de la concentración de IgG4 se asocia con la eficacia de la inmunoterapia. Los niveles altos de IgG4 basales se asocian con el fracaso de la inmunoterapia; no es así en el caso de la IgG1 (López *et al.*, 2003b).
3. La inmunoterapia produce un descenso en el número global de linfocitos Th (CD4+) en el foco inflamatorio alérgico, con una disminución de la transcripción del patrón de citocinas Th2 (IL-3, IL-4, IL-5 e IL-13) aunque con un aumento relativo del patrón Th1 (IL-2 e IFN- γ), así como un aumento de células CD25+ (Th activadas), CD8+ (T supresoras, Ts) y NK o *natural killer* (células asesinas naturales) (Akdis y Blaser, 2000; Shida *et al.*, 2004; Jutel *et al.*, 2006). Los niveles séricos de IL-4 alérgeno-específica aumentan los primeros meses de tratamiento con inmunoterapia para ir descendiendo progresivamente y seguir un curso paralelo a los niveles de IgE específica. Esta reducción se asocia con la buena evolución clínica (Benjaponpitak *et al.*, 1999). Esta modulación sobre el binomio respuesta de Th1/respuesta de Th2 se ha llamado *desviación inmunológica*, para explicar el efecto potenciador sobre el perfil Th1. Hoy en día se acepta como principal mecanismo molecular de la efectividad de la inmunoterapia (López *et al.*, 2003b).
4. Con el tiempo se produce una situación de ausencia de respuesta al alérgeno por parte de los linfocitos T, disminuyendo la respuesta proliferativa y la producción de citocinas, salvo la IL-10, tras la exposición al mismo (Brasó y Jorro, 2003).
5. La inmunoterapia disminuye ligeramente la respuesta alérgica inmediata al alérgeno pero inhibe intensamente la respuesta tardía hasta abolirla (Brasó y Jorro, 2003).
6. En el órgano de choque, disminuye la producción de mediadores y el reclutamiento de células efectoras (linfocitos T y eosinófilos) tras la provocación con alérgeno. También disminuye el número de mastocitos (Brasó y Jorro, 2003).

Inmunomodulación

La inmunomodulación es el cambio producido por la inmunoterapia en la respuesta inmunitaria al alérgeno. La inmunomodulación puede producirse a distintos niveles y por distintos mecanismos (Brasó y Jorro, 2003):

Inmunomodulación por anticuerpos. Pueden ser debidas a un mecanismo de antagonismo con la IgE de tipo competitivo o no competitivo. Este mecanismo de actuación es poco probable, ya que la mejoría clínica no guarda relación con los niveles de IgG.

1. *Antagonismo competitivo.* Los anticuerpos IgG específicos, que se producen en grandes cantidades, reaccionarían con el alérgeno, compitiendo con la IgE. Sin embargo, la IgG puede reaccionar con epitopos del alérgeno distintos a los de la IgE.

2. *Antagonismo no competitivo.* La IgG podría formar inmunocomplejos con el alérgeno y alterar la capacidad de éste para producir la agregación de IgE unida a los receptores de membrana de mastocitos y basófilos. También podría alterarse el procesamiento del antígeno por las células presentadoras de antígenos (CPA) y la presentación a los linfocitos T con las señales coestimuladoras adecuadas, lo que llevaría a la anergia (Brasó y Jorro, 2003).

Cambio de fenotipo de los linfocitos T (inmunodesviación). El cambio en el patrón de citocinas secretadas en respuesta al alérgeno se relaciona con un cambio de los linfocitos T alérgeno-específicos desde el fenotipo Th2 al fenotipo Th1. Este cambio se atribuye a que las grandes cantidades de antígeno introducidas con la inmunoterapia producen dos fenómenos:

1. Un cambio de las CPA que presentan el antígeno que, en lugar de LB y células dendríticas DC2, serán macrófagos y células dendríticas DC1. Estas células producen grandes cantidades de IL-12 que favorecen la diferenciación Th1.

2. Se produce una gran intensidad de señal a través del receptor de los linfocitos T, lo que también induce la diferenciación Th1 (Akdis y Blaser, 2000; Jutel *et al.*, 2006).

Tolerancia inmunológica. A diferencia de los mecanismos anteriores, que suponen una respuesta diferente al alérgeno, la tolerancia significa una disminución o abolición de la respuesta. Este fenómeno explica la disminución de la respuesta proliferativa y la secreción

de todas las citocinas tras la activación con el alérgeno. La tolerancia a los alérgenos puede producirse por células supresoras o anergia clonal (Brasó y Jorro, 2003).

1. *Tolerancia por linfocitos T supresores*. Se debe a la diferenciación de linfocitos CD4+ que producen grandes cantidades de IL-10 con actividad inmunosupresora sobre las CPA. Estos linfocitos serían del tipo de los linfocitos CD4 reguladores (Tr). En algunos modelos animales se ha establecido también la participación de CD8+ con actividad supresora (Akdis y Blazer, 2000; Jutel *et al.*, 2006).

2. *Anergia clonal*. Cuando los linfocitos son estimulados por el antígeno de una forma inadecuada y sin las señales coestimuladoras necesarias (segunda señal), entran en un estado de falta de reactividad ante nuevos contactos con el alérgeno. Este fenómeno de anergia puede producirse en la inmunoterapia con elevadas concentraciones de alérgeno. Los fenómenos de inmunodesviación y anergia no son excluyentes y pueden producirse sucesivamente, de forma que primero se cambia al fenotipo Th1 y, posteriormente, los linfocitos Th1 se vuelven anérgicos (Akdis y Blazer, 2000; Jutel *et al.*, 2006).

Desensibilización

La desensibilización es la disminución de la reactividad del órgano de choque tras la provocación con el alérgeno. Se manifiesta como una atenuación de la respuesta alérgica, particularmente de la respuesta tardía, disminución de la liberación de mediadores y del reclutamiento de células inflamatorias tras la provocación con el alérgeno. Es un fenómeno rápido, al contrario de la inmunomodulación que requiere tiempo para consolidarse. El mecanismo de la desensibilización es poco conocido, pero podría relacionarse con una profunda inhibición de los linfocitos Th2 debido a un aumento de la producción local de IL-12. La IL-12 inhibe la producción de IL-4 y otras citocinas Th2 a través de la producción de IFN- γ . El mecanismo de desensibilización permite explicar la eficacia de las pautas rápidas y la profunda inhibición de la respuesta alérgica tardía (Brasó y Jorro, 2003).

Mecanismo de acción en la especie canina

El mecanismo de acción de la inmunoterapia en el canino atópico es desconocido. Similar a los hallazgos en humanos bajo tratamiento con inmunoterapia, se han reportado aumentos significativos en los niveles séricos de IgG alérgeno-específica en perros después

de 6 meses de tratamiento (Hites y Kleinbeck, 1989). Sin embargo, no se ha evaluado si este aumento de IgG alérgeno-específica está asociado con una respuesta clínica, o si corresponde meramente a una respuesta inmunológica frente a la inmunoterapia (Griffin y Hillier, 2001).

Se ha demostrado que la predisposición a las citoquinas de la clase Th2 es el estado predominante en los perros atópicos y que la inmunoterapia alérgeno-específica provoca un cambio hacia el predominio Th1 por el aumento de la expresión de IFN- γ (Shida *et al.*, 2004).

DOSIS DE TRATAMIENTO

En la mayoría de casos no está establecida una dosis estandarizada de alérgeno para el uso terapéutico. A grandes rasgos se distinguen tres tipos de inmunoterapia según la dosis (Brasó y Jorro, 2003):

1) Bajas dosis

Consiste en administrar dosis con la mínima concentración del extracto que es capaz de producir una reacción en la prueba cutánea (reacción de punto final). Se introdujo para tratamiento de la polinosis, pero se ha demostrado que no es más eficaz que el placebo (Brasó y Jorro, 2003).

2) Altas dosis

Supone emplear como pauta de mantenimiento la dosis máxima tolerada. Se ha demostrado que la eficacia es mayor en dosis altas, pero también produce un mayor número de reacciones adversas (Brasó y Jorro, 2003).

3) Dosis óptima

Es el concepto que se utiliza en la actualidad. Se trata de emplear una dosis lo suficientemente alta para asegurar la eficacia clínica, pero con un margen razonable de seguridad para evitar las reacciones sistémicas. La dosis óptima debe ser el objetivo como dosis de mantenimiento para todos los pacientes (Brasó y Jorro, 2003).

Una dosis de 5-20 μg de alérgeno mayoritario por inyección, se asocia con mejoría significativa en la puntuación de síntomas del paciente (López *et al.*, 2003a).

En medicina humana, la dosis de alérgeno para una respuesta clínica óptima ha sido definida para muchos alérgenos estandarizados (Bousquet *et al.*, 1998). En medicina veterinaria, en cambio, no hay extractos alérgicos estandarizados. Por convención o hábito, los viales de mantención con una concentración total de 10.000-20.000 PNU/ml han sido incluidos en los libros. Sin embargo, no hay estudios que confirmen que estas concentraciones sean mejores o peores que cualquier otra concentración o dosis de alérgeno (Griffin y Hillier, 2001). Se emplea una variedad de protocolos de hiposensibilización, pero la mayoría de los regímenes acuosos son modificaciones del siguiente esquema (Scott *et al.*, 1995).

*Cuadro 4: Programa de hiposensibilización para los alérgenos acuosos.**

| Nº inyecciones | Nº de día | Frasco 1** (100-200) | Frasco 2 ** (1000-2000) | Frasco 3 ** (10000-20000) |
|-----------------------|------------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | 1 | 0,1 ml | | |
| 2 | 2 | 0,2 ml | | |
| 3 | 4 | 0,4 ml | | |
| 4 | 6 | 0,8 ml | | |
| 5 | 8 | 1 ml | | |
| 6 | 10 | | 0,1 ml | |
| 7 | 12 | | 0,2 ml | |
| 8 | 14 | | 0,4 ml | |
| 9 | 16 | | 0,8 ml | |
| 10 | 18 | | 1 ml | |
| 11 | 20 | | | 0,1 ml |
| 12 | 22 | | | 0,2 ml |
| 13 | 24 | | | 0,4 ml |
| 14 | 26 | | | 0,8 ml |
| 15 | 28 | | | 1 ml |
| 16 | 38 | | | 1 ml |
| 17 | 48*** | | | 1 ml |

*Las inyecciones se dan vía SC.

** PNU / ml (Unidad de Nitrógeno Proteico / ml). El valor de cada frasco representa el total de todos los alérgenos usados.

***Posteriormente se repiten las inyecciones (1 ml) cada 20 a 40 días según necesidad (Scott *et al.*, 1995).

Existen descripciones anecdóticas de mayor efectividad de la inmunoterapia en perros con dosis de vacuna inferiores a las recomendadas por los productores de la vacuna. Se realizó un estudio para evaluar si la inducción y mantenimiento con una dosis baja de inmunoterapia llevaba a un resultado diferente comparando con la dosis estándar, en el cual no se produjo ninguna evidencia de que la inmunoterapia con dosis bajas fuera más efectiva. Sin embargo, aunque los resultados no fueron significativamente diferentes, hubo alguna evidencia que podría sugerir que el protocolo estándar era superior (Colombo *et al.*, 2005).

PAUTAS DE INMUNOTERAPIA

Existen dos grandes tipos de inmunoterapia, según la época del año en que se administren: las preestacionales y las coestacionales (Brasó y Jorro, 2003).

Pautas preestacionales

Se utilizan en las polinosis. Se inicia el tratamiento varios meses antes de que llegue la primavera, aumentando progresivamente la dosis hasta llegar a una dosis óptima y se suspende cuando llega la época de polinización. Como se trata de pautas rápidas, para evitar reacciones adversas, se prefiere usar extractos modificados (alergoides) (Brasó y Jorro, 2003).

Pautas coestacionales, continuas o perennes

Las dosis se administran durante todo el año. Son más recomendables que las anteriores, ya que permiten una mayor dosis acumulada. Las indicaciones son las siguientes (Brasó y Jorro, 2003):

1. Alérgenos no polínicos o perennes, como ácaros, epitelios de animales, hongos y venenos de himenópteros (Benjumeda *et al.*, 2003). Puede iniciarse en cualquier época del año (Brasó y Jorro, 2003).
2. Polinosis de larga duración o cuando ha fracasado la pauta preestacional. Debe iniciarse antes de la polinización, para llegar a ésta en fase de mantenimiento. Al llegar al periodo polínico, se aconseja reducir la dosis, para evitar una acumulación de exposición alérgica (Brasó y Jorro, 2003).

Cualquier pauta coestacional consta de dos fases:

- a) *Fase de incremento de la dosis.* Se inicia con dosis muy bajas del alérgeno, que se van aumentando progresivamente cada cierto tiempo hasta llegar a una dosis de mantenimiento (Brasó y Jorro, 2003).
- b) *Fase de mantenimiento.* Al llegar a cierta dosis máxima, siempre se administra la misma cada cierto tiempo, mientras dure la inmunoterapia (Brasó y Jorro, 2003).

Según la rapidez con que se llegue a esta dosis de mantenimiento, las pautas pueden ser:

1. *Convencional o lenta.* Es la empleada habitualmente y la más segura. Durante la fase de incremento, se administran dosis progresivamente crecientes cada semana. Al llegar a dosis altas se espacian cada 15 días, hasta llegar a la dosis de mantenimiento, que se espacia cada 21-30 días (Brasó y Jorro, 2003).
2. *Pautas rápidas.* Se basan en una aceleración del período de inducción, donde las dosis iniciales se condensan en poco tiempo, hasta la dosis de mantenimiento. La incidencia de reacciones adversas parece significativamente mayor que con las pautas convencionales (Brasó y Jorro, 2003). Se han descrito varios protocolos: ultrarápidas, rápidas o rush (administración continua de las dosis, cada 30-60 minutos, hasta alcanzar la dosis máxima de mantenimiento en una misma sesión en 24-48 horas) y semirrápidas o cluster (administración de varias dosis en un mismo día, con intervalos de 30 minutos entre cada una de ellas y habitualmente cada 3 a 7 días, con lo que puede alcanzarse la dosis de mantenimiento en 3-4 sesiones) (Benjumeda *et al.*, 2003).

REACCIONES ADVERSAS

Las reacciones adversas (las cuales pueden ser locales o sistémicas) son descritas como poco comunes en los perros (Griffin y Hillier, 2001). Se han reportado incidencias desde un 5% (Angarano y MacDonald, 1991) hasta un 38% (Rosser, 1998).

1) Locales

Son relativamente frecuentes, produciendo eritema, tumefacción, prurito y dolor en la zona de inyección. Pueden durar varias horas y en casos más intensos, hasta un día o más (Reedy *et al.*, 1997).

Inmediatas. Aparecen en menos de 30 minutos después de la inyección del extracto. Se suponen que se deben a un mecanismo mediado por IgE, por interacción del alérgeno con la IgE fijada a los mastocitos locales. Si son de gran intensidad, pueden seguirse de una reacción tardía. Las grandes reacciones locales no predicen el inicio de una reacción sistémica posterior (Brasó y Jorro, 2003).

Tardías. Se manifiestan en una hora o más tras la administración del alérgeno. Son más frecuentes con los extractos “depot”. Se desconoce el mecanismo inmunológico. No son reacciones graves y no predicen la evolución a síntomas sistémicos (Brasó y Jorro, 2003).

2) Sistémicas

Son aquellas que aparecen a distancia del punto de inyección e incluyen debilidad, depresión, ansiedad o somnolencia, diarrea, vómitos, vocalización, urticaria/angioedema, prurito, anafilaxia (Reedy *et al.*, 1997). Pueden clasificarse en inmediatas y tardías (Brasó y Jorro, 2003).

Inmediatas. Son las más frecuentes de este grupo. Se inician en menos de 30 minutos después de la administración (Toubi *et al.*, 1999). Pueden adquirir dos formas:

1. *Organoespecíficas.* Rinitis, asma, angioedema/urticaria localizadas a distancia.
2. *Generalizadas.* Sólo cutáneas como urticaria/angioedema generalizados o anafilaxia donde hay descritos casos fatales. Si aparece una reacción anafiláctica debe ser clasificada según como sigue:

- 0 Sin reacción.
- 1 Leves síntomas sistémicos como rinitis moderada o asma, que cede con antihistamínicos o con un agonista β_2 en aerosol.
- 2 Síntomas sistémicos moderados, como urticaria, angioedema o asma grave que responde al tratamiento.
- 3 Shock anafiláctico, instauración brusca de eritema, prurito, obstrucción bronquial, etc.

(Brasó y Jorro, 2003).

Tardías. Pueden darse entre 30 – 60 minutos y 48 horas después. En general se trata de reacciones raras (Toubi *et al.*, 1999). Pueden desarrollarse como.

1. *Urticaria/angioedema.* Es lo más frecuente.
2. *Rinitis y/o asma.* En pacientes con asma previa, puede ser una exacerbación de ésta (Brasó y Jorro, 2003).

3) Otro tipo de reacciones

Síntomas inespecíficos. No están mediados por IgE. Entre estos se han descrito: cefaleas, malestar, artralgias y cuadros vasovagales (Brasó y Jorro, 2003).

Nódulos subcutáneos. Pueden ser de dos tipos.

1. *Inespecíficos.* Aparecen localmente, sobre todo con los extractos depot. Suelen desaparecer de forma espontánea en unas semanas. Son reacciones inflamatorias de tipo inespecífico.
2. *Específicos.* Se han descrito unos pocos casos por hipersensibilidad al aluminio. Se caracterizan por persistir durante meses o años.

Deben utilizarse preparados libres de aluminio en los pacientes que suelen desarrollar estos nódulos en forma persistente (Brasó y Jorro, 2003).

Tratamiento de las reacciones adversas

Se recomienda esperar 30 minutos después de aplicar la inyección de inmunoterapia, para monitorizar la aparición de reacciones adversas peligrosas (Toubi *et al.*, 1999).

Las reacciones adversas pueden requerir tratamiento y, en ciertos casos, modificaciones en la pauta de inmunoterapia (Brasó y Jorro, 2003).

Cuadro 5: Manejo de las reacciones adversas

| Tipo de reacción | Tratamiento | Modificaciones de la pauta |
|---|--|--|
| Locales inmediatas (cuidado, pueden predecir evolución a reacción sistémica) | No es necesario Opcional: antihistamínico oral Observación durante 60 minutos | Si el diámetro mayor es menor a 5 cm, no modificar Si el diámetro mayor es mayor a 5 cm, volver a administrar la última dosis tolerada y repetir hasta 3 veces |
| Locales tardías | No es necesario si no son muy molestas Si son muy molestas, realizar por orden | Si el diámetro mayor es menor a 10 cm, continuar la pauta Si el diámetro mayor es mayor a 10 cm, repetir la última dosis tolerada |
| Sistémicas organoespecíficas | Tratamiento según el órgano de choque (por ejemplo, broncodilatadores para el asma, tratamiento de la rinitis, etc.) Observación por 60 minutos | Según la intensidad, bajar de 2-4 escalones en la pauta de inmunoterapia y después, ascender más lentamente |
| Sistémicas generalizadas | Medidas de anafilaxia, según la intensidad: Torniquete por encima del lugar de la inyección Adrenalina: 0,3 ml SC en el lugar de la inyección y 0,5 ml en el brazo contrario. Puede repetirse hasta 3 veces, con intervalos de 15 minutos Antihistamínicos por vía intravenosa o intramuscular Broncodilatadores si hay asma (aminofilina intravenosa y β_2 adrenérgicos inhalados) Corticoides por vía intravenosa (no son de uso inmediato) | Según la intensidad, bajar de 2-4 escalones en la pauta de inmunoterapia y después ascender más lentamente En casos muy graves, reducir la dosis hasta un 10% de la última dosis administrada |
| Sistémicas retardadas | Suelen ser de órgano de choque o cutáneas. Tratar según el caso | |

(Brasó y Jorro, 2003)

SEGUIMIENTO DE LA INMUNOTERAPIA

El seguimiento continuo de cada paciente es un factor importante en el potencial éxito de la inmunoterapia debido a las siguientes razones: los alérgenos están pobremente estandarizados y la potencia biológica real puede variar entre lotes; los pacientes caninos exhiben pesos y tamaños muy variables, la mejoría puede tardar meses; la inmunoterapia podría exacerbar los signos clínicos; y algunos perros podrían mejorar sólo transitoriamente después de cada inyección. Además, la dermatitis atópica puede concomitar con otras enfermedades de piel, que en caso de que no hayan sido controladas, podrían llevar al fracaso del tratamiento (Griffin y Hillier, 2001).

La conformidad de los dueños con la inmunoterapia tiende a ser baja, por lo que se debe seguir al paciente y comunicarse frecuentemente con el dueño con el fin de hacer durar lo suficiente la inmunoterapia para manifestar respuesta clínica (Rosser, 1998).

Hay dos parámetros básicos que deben ser registrados: la eficacia y la seguridad (Brasó y Jorro, 2003).

1) Eficacia

Los niveles de eficacia pueden clasificarse en efecto precoz (7-15 semanas desde que se inicia la administración); efecto persistente (3 a 5 años durante la administración); efecto a largo plazo (hasta 6 años después de terminar la administración), y efecto preventivo (prevención de nuevas sensibilizaciones y exacerbaciones de la enfermedad) (Brasó y Jorro, 2003).

2) Seguridad

Se realiza para disminuir al mínimo el riesgo de reacciones adversas. Debe incluir:

1. Registro de los parámetros de seguridad: evaluación de las situaciones que predisponen a las reacciones adversas (extractos mal definidos de potencia biológica no conocida, mezcla de varios alérgenos, ausencia de vigilancia, etc.).
2. Situación clínica del paciente antes y después de la administración del extracto.
3. Información sobre la presencia de reacciones adversas previas y tipo de éstas (Brasó y Jorro, 2003).

CAUSAS DE FALTA DE EFECTIVIDAD DE LA INMUNOTERAPIA

Se considera que la inmunoterapia no es efectiva cuando no se consigue una mejoría significativa en la sintomatología del paciente. Puede deberse a varias causas (Brasó y Jorro, 2003).

Diagnóstico erróneo

1. Por ser una enfermedad no alérgica. El paciente puede tener una sensibilización cutánea positiva, pero ésta no ser clínicamente relevante.
2. Por no haberse incluido en la pauta el alérgeno más relevante (Brasó y Jorro, 2003).

Inadecuado control ambiental

Es imprescindible seguir las normas de desalergenización adecuadas a cada caso, para conseguir una mayor eficacia (Brasó y Jorro, 2003).

Inadecuada dosis o composición

1. Si se utilizan extractos no bien caracterizados.
2. En caso de dosis insuficiente. La eficacia es mayor a altas dosis. Puede no alcanzarse la dosis óptima porque el paciente no la tolera por reacciones adversas; o porque se ha confeccionado una pauta con muchos alérgenos, pero con poca cantidad de cada uno (Brasó y Jorro, 2003).

Desarrollo de otras sensibilizaciones

Es relativamente frecuente en los sujetos con atopia. Por ellos es recomendable reevaluar al paciente y realizar nuevas pruebas cutáneas. Si hay nuevos alérgenos significativos, se considerará añadirlos a la pauta (Brasó y Jorro, 2003).

Efectividad de la propia inmunoterapia

En los perros la inmunoterapia es efectiva en el 50-100% (Griffin y Hillier, 2001).

Perspectivas erróneas

Hay que advertir de que el tratamiento es largo, y que los síntomas pueden no desaparecer del todo. En ocasiones, el cumplimiento es bajo e impide la eficacia del tratamiento (Brasó y Jorro, 2003).

MANTENIMIENTO Y DURACIÓN DE LA INMUNOTERAPIA

En humanos, los mayores beneficios de la inmunoterapia (80%) se obtienen durante el primer año de tratamiento y alcanzan el máximo a los 2 años. Si no se observa una mejoría a los 2 años de la inmunoterapia debe suspenderse el tratamiento; si la hay, debe mantenerse el tratamiento entre 3 y 5 años. La eficacia se prolonga después de cesar la administración durante varios años. Sin embargo, en algunos casos pueden reaparecer los síntomas. Si ocurre esto y la inmunoterapia previa fue eficaz, estaría indicado reiniciar el tratamiento (Brasó y Jorro, 2003).

En perros, la respuesta beneficiosa puede verse desde 1 mes hasta 1 año después de iniciar la hiposensibilización (Scott *et al.*, 1995). Un estudio informó que algunos perros exhiben una respuesta favorable a la inmunoterapia dentro de los dos primeros meses de tratamiento (Scott *et al.*, 1993). Ciertamente, algunos perros pueden responder relativamente rápido, pero no ha sido investigado qué tan común es este fenómeno (Griffin y Hillier, 2001). En un estudio, algunos perros respondieron a los 3 meses de tratamiento y el mismo estudio concluyó que si los perros no presentan mejoría antes de los 9 meses, probablemente no la presenten después (Willemsse *et al.*, 1984). Estudios abiertos han mostrado que la inmunoterapia podría tener efecto sostenido en un 4% (Rosser, 1998), 6% (Park *et al.*, 2000), 12% (Griffin y Rosenkrantz, 1991) y 23-35% (Power, 2000).

En cualquier caso, deberá suspenderse el tratamiento si se producen las siguientes situaciones:

1. Aparece una enfermedad renal.
2. Aparece una enfermedad hematológica maligna.
3. Se diagnostica una hepatopatía crónica.
4. Se diagnostica una enfermedad infecciosa crónica.
5. Precisa imperiosamente bloqueantes β .

6. Aparece una enfermedad que contraindica la adrenalina.
7. Aparezca una enfermedad inmunológica (Brasó y Jorro, 2003).

OTRAS FORMAS DE INMUNOTERAPIA NO PARENTERAL

La forma principal de administración de inmunoterapia es la vía parenteral, pero desde hace muchos años se han investigado otras formas de administración que aprovechan la gran capacidad de absorción que poseen las mucosas respiratoria y digestiva. Estas formas alternativas pretenden paliar los inconvenientes de las inyecciones repetidas, así como evitar las reacciones adversas de la vía parenteral. La inmunoterapia local generalmente es mejor aceptada por los pacientes (Brasó y Jorro, 2003).

Las inyecciones subcutáneas son la ruta estándar para la inmunoterapia en el perro. Otros métodos de administración de alérgenos no han sido evaluados en caninos atópicos (Griffin y Hillier, 2001).

Su mecanismo de acción es distinto al de la inmunoterapia parenteral. Producen modificaciones del sistema linfático de las mucosas, induciendo la tolerancia en el órgano diana. Se ha demostrado que la aplicación local de alérgenos tiene un efecto sistémico. Se ha indicado que, al parecer, el mecanismo a través del cual inducen tolerancia las mucosas es la anergia clonal de células T específicas. Las células dendríticas, que actuarían como presentadoras de antígenos, producen además IL-12, que favorece el desarrollo de Th1 (Brasó y Jorro, 2003).

Inmunoterapia por vía sublingual

Hay estudios que demuestran que la vía sublingual es una forma segura y eficaz para la administración de la inmunoterapia. Se han realizado numerosos ensayos con pólenes (gramíneas, *Parietaria*), ácaros, epitelios (gato) y hongos (*Alternaria*), en los que se ha demostrado su eficacia para ácaros, gramíneas y *Parietaria* (Frew y Smith, 2001; Kagi y Wuthrich, 2002).

La administración de la inmunoterapia sublingual puede llevarse a cabo mediante dos métodos: eliminando el producto tras un tiempo bajo la lengua o ingiriéndolo. Sólo se

ha demostrado eficacia clínica con el segundo método. Sus ventajas son la comodidad y la menor incidencia de reacciones adversas (Kagi y Wuthrich, 2002).

Las pautas de administración siguen el mismo esquema que la inmunoterapia parenteral: una fase de inducción, con dosis crecientes diarias o a días alternos; y una fase de mantenimiento, con dosis diarias, semanales o 2 ó 3 veces por semana, aunque pueden variar de un fabricante a otro. Durante la fase de mantenimiento, las dosis administradas en cada aplicación son menores que con la inmunoterapia parenteral, pero la dosis total acumulada en un mes es mucho mayor. La administración con dosis muy bajas no se ha demostrado eficaz. La inmunoterapia sublingual puede administrarse bien de forma perenne, bien de forma preestacional (Frew y Smith, 2001).

Inmunoterapia por vía oral

Se han realizado ensayos con inmunoterapia oral (con cápsulas con recubrimiento entérico), pero su eficacia clínica no se ha demostrado. En varios estudios se describen reacciones adversas gastrointestinales leves y también se han descrito casos de urticaria (Kagi y Wuthrich, 2002).

Inmunoterapia por vía nasal

La inmunoterapia por vía nasal ha demostrado ser eficaz y parece estar relacionada con la dosis. Se obtienen mayores mejorías con vacunas acuosas y en polvo que con las modificadas (Kagi y Wuthrich, 2002).

Los principales efectos adversos son locales (rinitis), que pueden disminuir al utilizar vacunas de polvo seco o con pretratamiento con cromonas nasales (Kagi y Wuthrich, 2002).

Inmunoterapia por vía bronquial

Este tipo de inmunoterapia no ha sido lo suficientemente documentado para su uso clínico; además, hay un riesgo alto de reacciones adversas (Kagi y Wuthrich, 2002).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del tratamiento con un protocolo de inmunoterapia en pacientes caninos que padezcan dermatitis atópica por *D. farinae*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar la proporción de pacientes caninos atópicos positivos a *D. farinae* en una prueba de intradermorreacción.
- 2) Describir la población en estudio en cuanto a raza, sexo y edad.
- 3) Describir los cambios clínicos en perros con dermatitis atópica bajo tratamiento con inmunoterapia específica para *D. farinae*.
- 4) Describir los cambios que se presenten en el resultado de una segunda prueba de intradermorreacción para *D. farinae* en los pacientes caninos después del tratamiento de inmunoterapia específica para dicho alérgeno.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de los pacientes

Mediante observación de fichas de los Hospitales Clínicos Veterinarios de la Universidad de Chile, se seleccionaron pacientes con diagnóstico clínico de dermatitis atópica canina. Para entrar al estudio, a dichos pacientes se les descartó sarna, dermatitis alérgica a la picada de pulga, parasitismo e hipersensibilidad alimentaria.

Posteriormente, 30 de estos pacientes fueron citados a la Clínica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Chile, para llevar a cabo una prueba de intradermorreacción con el fin de conocer los alérgenos causantes de la enfermedad y de esta manera ingresar al estudio aquellos perros positivos a *D. farinae*.

Prueba de intradermorreacción

La prueba de intradermorreacción utilizada correspondió a extractos alérgicos de uso humano (Laboratorio Leti; España).

La prueba de intradermorreacción se realizó bajo sedación con atropina 0,04 mg/kg vía endovenosa y xilazina 1 mg/kg vía endovenosa. Una vez sedado el paciente, se depiló un rectángulo de 15 por 12 cm en el lado torácico derecho. En dicha zona se aplicaron 10 inyecciones de 0,2 ml cada una, vía intradérmica, separadas unas de otras por 3 cm.

Los extractos de alérgenos, utilizados en concentración de 500 PNU/ml, fueron:

- Mezcla de árboles I: aromo, eucaliptus, fresno.
- Mezcla de árboles II: pino, plátano oriental, roble/encina.
- Mezcla de pastos: ballica, festuca, pasto oville, pasto del perro.
- Mezcla de malezas: acedera, alfalfa, amaranto, artemisa, diente de león, llantén, paico.

- Mezcla de hongos: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus nigricans*.
- Pulga.
- Mosquito.
- *D. farinae*.

También se inyectaron:

- Un control positivo (histamina 20 mg/ml).
- Un control negativo (suero fisiológico).

Veinte minutos después de aplicada la inyección (tiempo necesario para visualizar en el sitio de inyección la pápula eritematosa que produce la reacción antígeno–anticuerpo en un animal sensibilizado al alérgeno), se procedió a medir el tamaño de la pápula formada en el sitio de inyección con los círculos que posee la regla de la prueba de intradermorreacción (anexo 1). Se consideró una reacción positiva la obtención de una pápula en el sitio de inyección cuyo diámetro fuera por lo menos 3 mm mayor que el control negativo.

De los pacientes sometidos a la prueba de intradermorreacción, se seleccionaron aquellos cuyo resultado fue positivo a *D. farinae* y cuyos dueños aceptaron participar del estudio (n = 15). De ellos, 10 fueron designados al azar para ser sometidos a tratamiento de inmunoterapia alérgeno-específica para *D. farinae* y los 5 restantes fueron utilizados como grupo control.

Inmunoterapia

Los pacientes fueron inyectados vía subcutánea con un extracto antigénico de *D. farinae* precipitado en hidróxido de aluminio, polimerizado con glutaraldehído y sometido a un proceso de despigmentación (Depigoid®, Laboratorio Leti, España). La unidad biológica utilizada por el laboratorio fabricante es el DPP, siendo 1 DPP el resultado de despigmentar y polimerizar 1 HEP.

El tratamiento de inmunoterapia se dividió en dos fases: la fase de inducción y la fase de mantenimiento. La fase de inducción consistió en inyectar dosis crecientes del extracto alérgico separadas por una semana hasta alcanzar la dosis de mantenimiento (20 DPP). La fase de mantenimiento consistió en inyectar la dosis de mantenimiento cada 30 días hasta completar 6 meses de tratamiento.

Las primeras tres inyecciones fueron extraídas de una solución de inmunoterapia cuya concentración es de 10 DPP/ml (solución número 1). Las siguientes inyecciones se extrajeron de una solución de inmunoterapia cuya concentración es de 100 DPP/ml (solución número 2). Este cambio de solución permitió aumentar la dosis de inmunoterapia disminuyendo el volumen de inyección. Los excipientes de ambos viales son: cloruro sódico, fenol, hidróxido de aluminio y agua.

Cuadro 6: Calendario y dosis de vacunación con inmunoterapia

| Fase | Número de día | Número de solución | Volumen inyectado | Dosis inyectada |
|---------------|----------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|
| Inducción | 1 | 1 | 0,1 ml | 1 DPP |
| Inducción | 7 | 1 | 0,3 ml | 3 DPP |
| Inducción | 14 | 1 | 0,5 ml | 5 DPP |
| Inducción | 21 | 2 | 0,1 ml | 10 DPP |
| Inducción | 28 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |
| Mantenimiento | 58 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |
| Mantenimiento | 88 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |
| Mantenimiento | 118 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |
| Mantenimiento | 148 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |
| Mantenimiento | 178 | 2 | 0,2 ml | 20 DPP |

Las inyecciones de inmunoterapia se aplicaron en la Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile o en los Hospitales Clínicos Veterinarios externos a la Facultad, donde los pacientes debieron permanecer

hospitalizados un mínimo de 30 minutos después de aplicada la inyección, con el fin de monitorear cualquier reacción adversa al tratamiento.

Evaluación

Con el objetivo de tener un seguimiento continuo y cercano de la evolución del paciente, cada mes se realizó un examen clínico en donde se evaluó con calificación de 1 a 7 (siendo 1 la presentación del signo clínico en forma grave y generalizada, y siendo 7 la ausencia de dicho signo) los siguientes signos de la enfermedad:

Eritema: enrojecimiento de la piel.

Hiperpigmentación: incremento de la melanina epidérmica y ocasionalmente de la dérmica. Es una lesión dérmica post-inflamatoria crónica, traumática y endocrina.

Tinción salival: coloración rojiza del pelaje por efecto del contacto persistente con la saliva. Es visto generalmente en el área interdigital de los perros alérgicos de pelaje claro.

Pioderma: infección bacteriana que incluye la epidermis y epitelio folicular (pioderma superficial) llegando a veces a tejidos más profundos como dermis y tejido subcutáneo (pioderma profunda).

Alopecia: pérdida de pelo que puede variar de parcial a completa.

Liquenificación: engrosamiento y endurecimiento de la piel caracterizado por una exageración de las líneas superficiales de la piel. A menudo es consecuencia de la fricción.

Otitis: Inflamación del canal auditivo, la cual puede resultar de muchas causas.

Seborrea: defecto en la queratinización con formación aumentada de escamas, grasitud excesiva del pelaje y algunas veces, inflamación secundaria.

Queilitis: inflamación de los labios.

Conjuntivitis: inflamación de la conjuntiva.

Mal olor: olor anormal y desagradable proveniente de la piel del perro, generalmente producto de la seborrea o de infecciones secundarias.

Además, se sometió a los dueños de los pacientes a un cuestionario en el cual evaluaron la evolución del prurito en sus mascotas (anexo 2).

Prurito: sensación desagradable que provoca el deseo de rascarse. En perros se manifiesta como rasquido, lamidos o mordidas de la piel.

Cada signo clínico fue evaluado estadísticamente mediante una prueba no paramétrica de Mann-Whitney que permitió comparar el grupo tratado con el grupo control. Esta prueba permitió confirmar que ambos grupos tenían signos clínicos de similar intensidad al inicio del estudio.

Una vez terminados los 6 meses de tratamiento de inmunoterapia, los pacientes fueron sometidos nuevamente a la prueba de intradermorreacción con el fin de evaluar si existen diferencias con la primera prueba en la reacción dérmica a *D. farinae*. Para ello, se aplicó una prueba exacta de Fisher, la cual comparó al grupo tratado con el grupo control.

RESULTADOS

De los 30 individuos que fueron sometidos a la prueba de intradermorreacción, un 75% resultó positivo a *D. farinae*.

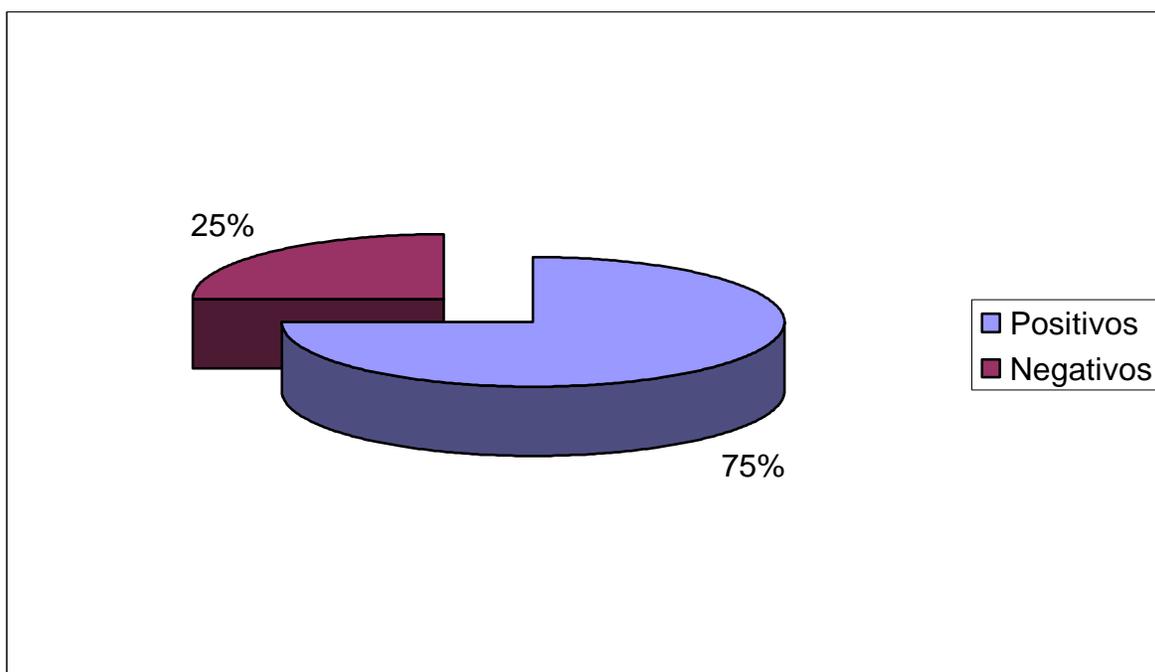


Figura 1: Porcentaje de pacientes positivos a *D. farinae* en la prueba de intradermorreacción.

El estudio contó con diferentes razas de perros: 4 mestizos (26,66%), 2 Boxer (13,33%), 2 Golden Retriever (13,33%), 2 Poodle (13,33%), 2 Weimaraner (13,33%), 1 Maltés (6,66%), 1 Ovejero Alemán (6,66%) y 1 Schnauzer Miniatura (6,66%). El grupo tratado estuvo formado por 2 mestizos, 2 Golden Retriever, 2 Poodle, 2 Weimaraner, 1 Ovejero Alemán y 1 Schnauzer Miniatura; mientras que el grupo control estuvo formado por 2 mestizos, 2 Boxer y 1 Maltés.

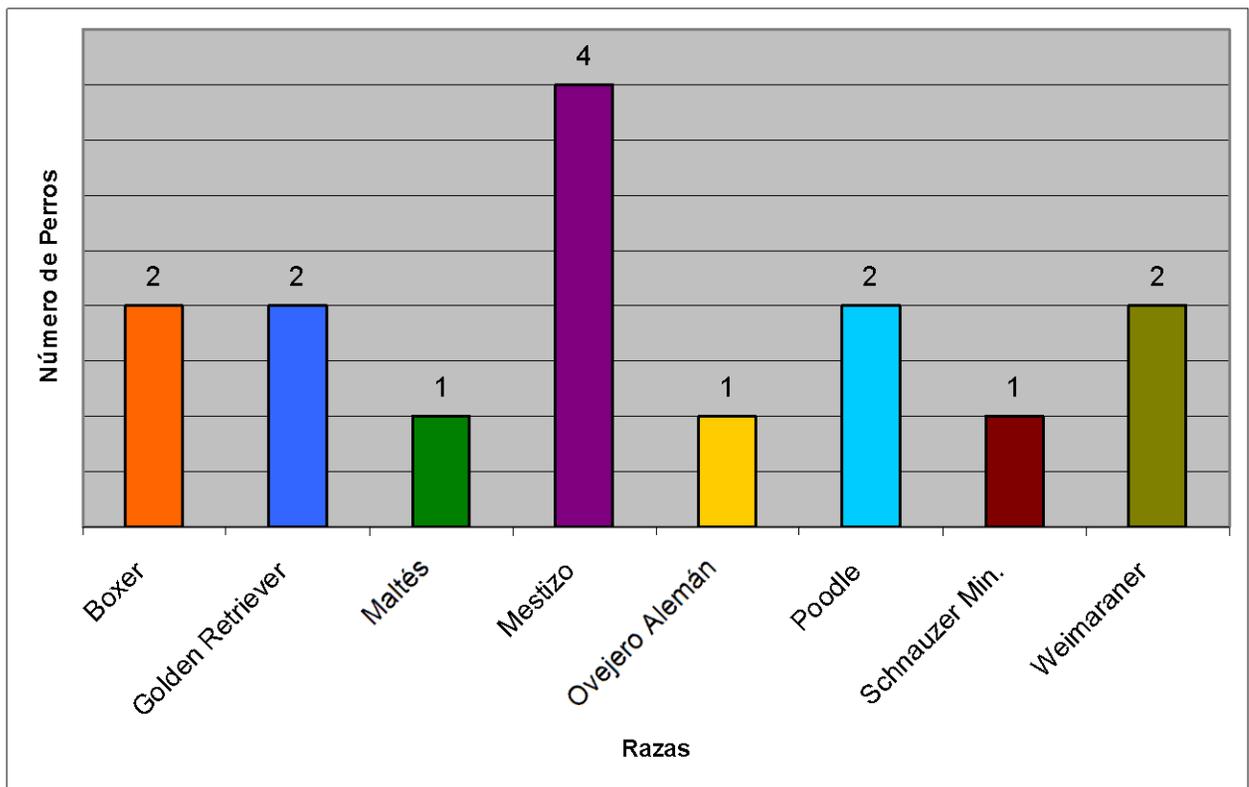


Figura 2: Distribución racial en el estudio.

El estudio estuvo conformado por un 80% de hembras (12 pacientes) y un 20% de machos (3 pacientes). El grupo tratado estuvo formado por 7 hembras y 3 machos, mientras que el grupo control estuvo formado por 5 hembras y ningún macho.

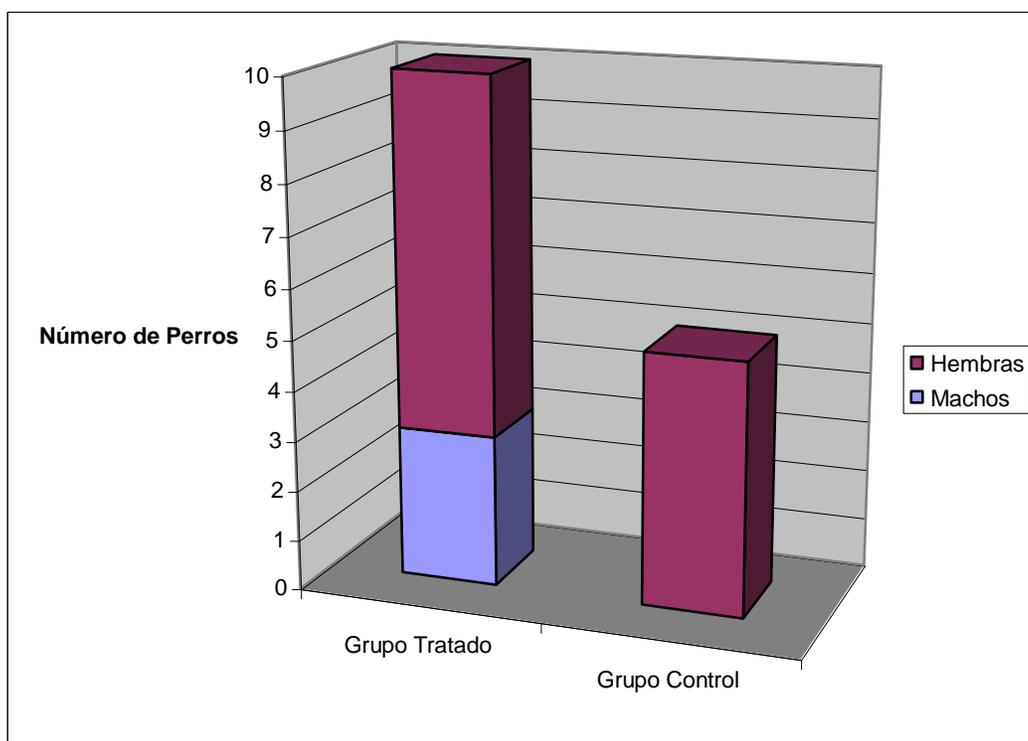


Figura 3: Distribución sexual en cada grupo del estudio

El promedio etáreo de todos los pacientes ingresados al estudio fue de 4,6 años. El grupo tratado estuvo formado por un paciente de 2 años, tres pacientes de 3 años, dos pacientes de 4 años, un paciente de 5 años, dos pacientes de 6 años y un paciente de 12 años, dando como resultado promedio una edad de 4,8 años. El grupo control estuvo formado por un paciente de 2 años, un paciente de 3 años, dos pacientes de 5 años y un paciente de 6 años, dando como resultado promedio una edad de 4,2 años.

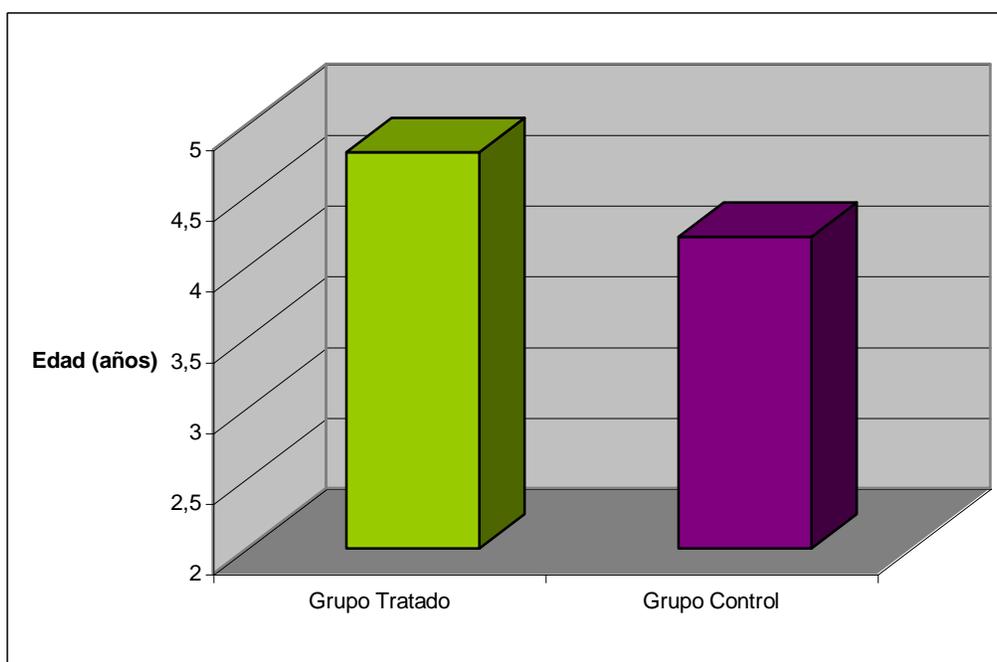


Figura 4: Promedio etáreo en los grupos en estudio.

Los signos clínicos (prurito, eritema, hiperpigmentación, tinción salival, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor) del grupo tratado y del grupo control fueron comparados al inicio del estudio mediante una prueba no paramétrica de Mann-Whitney, comprobándose que no hubo diferencia significativa entre ambos grupos.

Los signos clínicos iniciales en los dos grupos de individuos se resumen en los cuadros N° 7 y 8.

Cuadro 7: signos clínicos iniciales de los individuos asignados al grupo tratado, evaluados con nota de 1 a 7, siendo 1 la máxima presentación del signo y 7 la no presentación.

| Paciente | Prurito | Eritema | Pigmen- tación | Tinción Salival | Pioderma | Alopecia | Liquen- ficación | Otitis | Seborrea | Queilitis | Conjun- tivitis | Mal Olor |
|----------|---------|---------|-------------------|--------------------|----------|----------|---------------------|--------|----------|-----------|--------------------|----------|
| 1 | 3,5 | 7,0 | 7,0 | 3,0 | 4,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |
| 2 | 2,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 |
| 3 | 5,0 | 5,5 | 5,0 | 7,0 | 5,5 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 4 | 5,0 | 6,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 4,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 4,0 |
| 5 | 5,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |
| 6 | 2,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 7 | 2,0 | 5,0 | 7,0 | 4,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |
| 8 | 4,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 5,5 |
| 9 | 5,0 | 5,5 | 6,5 | 6,0 | 7,0 | 4,5 | 7,0 | 7,0 | 4,0 | 7,0 | 5,0 | 5,0 |
| 10 | 6,0 | 6,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 6,0 |

Cuadro 8: signos clínicos iniciales de los individuos asignados al grupo control, evaluados con nota de 1 a 7, siendo 1 la máxima presentación del signo y 7 la no presentación.

| Paciente | Prurito | Eritema | Pigmen- tación | Tinción Salival | Pioderma | Alopecia | Liquen- ficación | Otitis | Seborrea | Queilitis | Conjun- tivitis | Mal Olor |
|----------|---------|---------|-------------------|--------------------|----------|----------|---------------------|--------|----------|-----------|--------------------|----------|
| 11 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 6,5 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 |
| 12 | 5,0 | 5,5 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 6,5 |
| 13 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 5,5 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 14 | 5,0 | 6,0 | 5,5 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |
| 15 | 4,0 | 6,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |

Los signos clínicos después de 6 meses en tratamiento con inmunoterapia alérgeno-específica para *D. farinae* se resumen en los cuadros N° 9 y 10.

Cuadro 9: signos clínicos finales (después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia) de los individuos asignados al grupo tratado (evaluados con nota de 1 a 7, siendo 1 la máxima presentación del signo y 7 la no presentación).

| Paciente | Prurito | Eritema | Pigmen- tación | Tinción Salival | Pioderma | Alopecia | Liquen- ficación | Otitis | Seborrea | Queilitis | Conjun- tivitis | Mal Olor |
|----------|---------|---------|-------------------|--------------------|----------|----------|---------------------|--------|----------|-----------|--------------------|----------|
| 1 | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 6,0 | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |
| 2 | 5,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 3 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 4 | 3,5 | 4,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 5,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 5,0 |
| 5 | 4,2 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 5,5 |
| 6 | 5,5 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 |
| 7 | 6,8 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 |
| 8 | 6,2 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 9 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 |
| 10 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 6,0 |

Cuadro 10: signos clínicos finales (después de 6 meses sin tratamiento) de los individuos asignados al grupo control (evaluados con nota de 1 a 7, siendo 1 la máxima presentación del signo y 7 la no presentación).

| Paciente | Prurito | Eritema | Pigmen- tación | Tinción Salival | Pioderma | Alopecia | Liquen- ficación | Otitis | Seborrea | Queilitis | Conjun- tivitis | Mal Olor |
|----------|---------|---------|-------------------|--------------------|----------|----------|---------------------|--------|----------|-----------|--------------------|----------|
| 11 | 6,0 | 5,0 | 7,0 | 5,5 | 5,5 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,5 |
| 12 | 4,0 | 5,0 | 7,0 | 5,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 4,5 |
| 13 | 3,0 | 5,5 | 7,0 | 5,5 | 5,0 | 5,0 | 7,0 | 6,5 | 6,5 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| 14 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 5,0 |
| 15 | 2,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |

La evolución de la nota promedio de los signos clínicos para cada grupo durante los 6 meses de estudio son graficados desde la figura N° 5 a la figura N° 16.

En el grupo tratado, la nota para la evaluación del prurito aumentó progresivamente, es decir, el prurito fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron más prurito al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

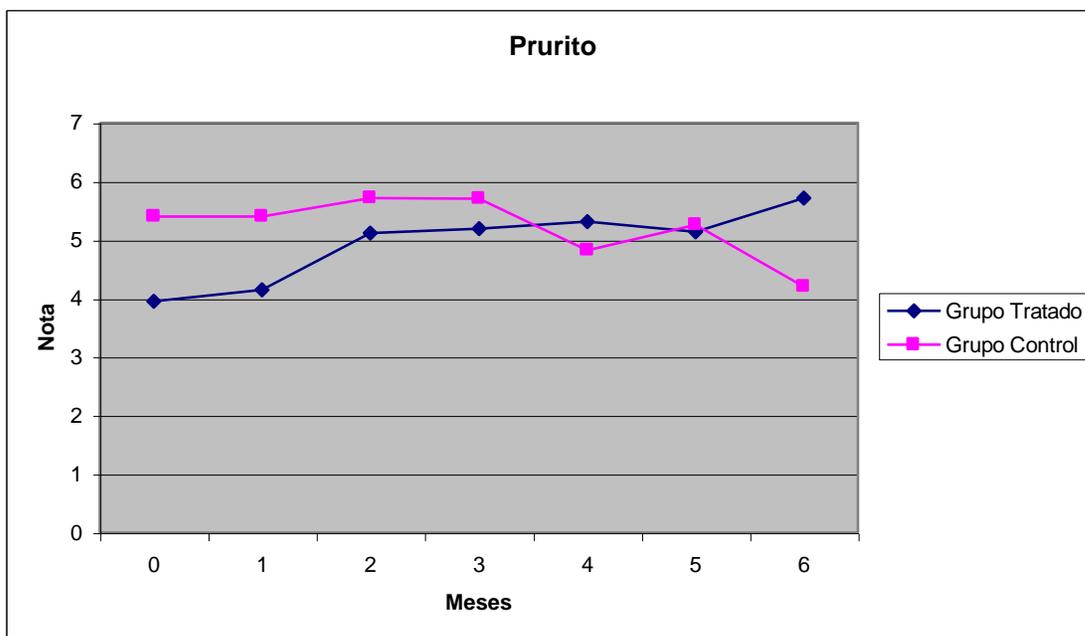


Figura 5: Nota promedio de 1 (máxima presentación del prurito) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación del eritema aumentó progresivamente, es decir, el eritema fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron más eritema al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

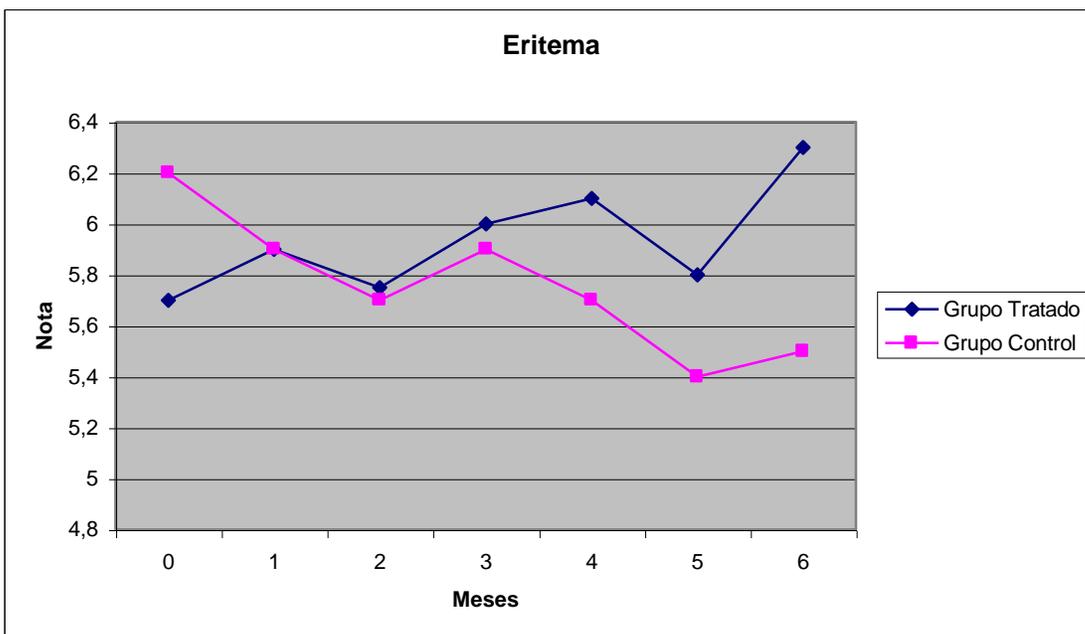


Figura 6: Nota promedio de 1 (máxima presentación del eritema) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la hiperpigmentación primero empeoró para luego aumentar progresivamente, es decir, la hiperpigmentación fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control la nota primero se mantuvo, luego empeoró y finalmente mejoró, es decir, los pacientes presentaron menos hiperpigmentación al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

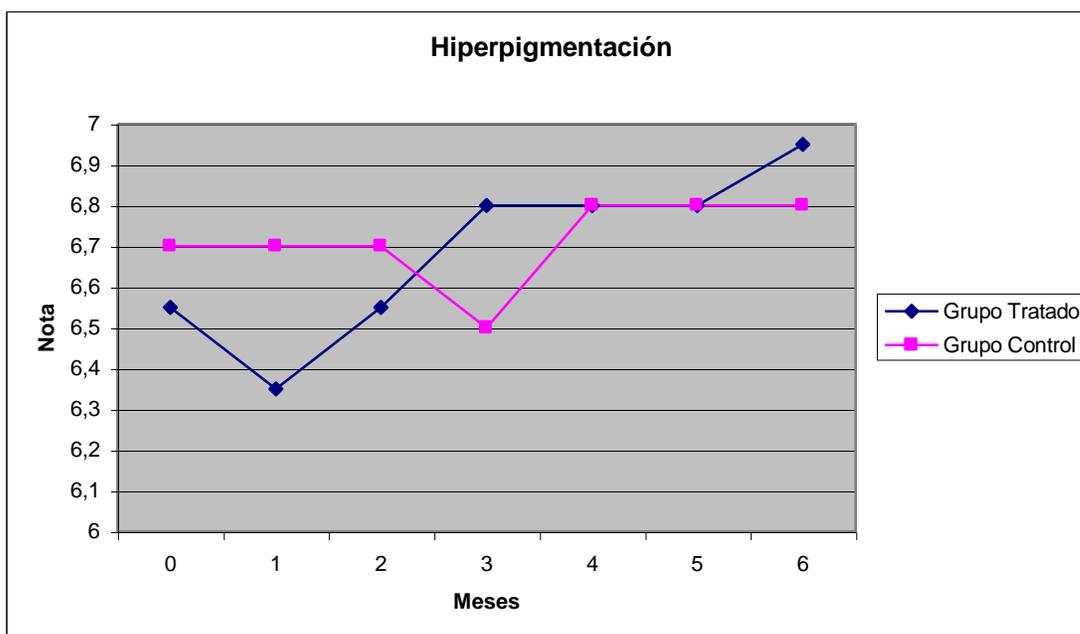


Figura 7: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la hiperpigmentación) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la tinción salival aumentó progresivamente, es decir, la tinción salival fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron más tinción salival al final del estudio. La nota inicialmente fue igual para ambos grupos, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

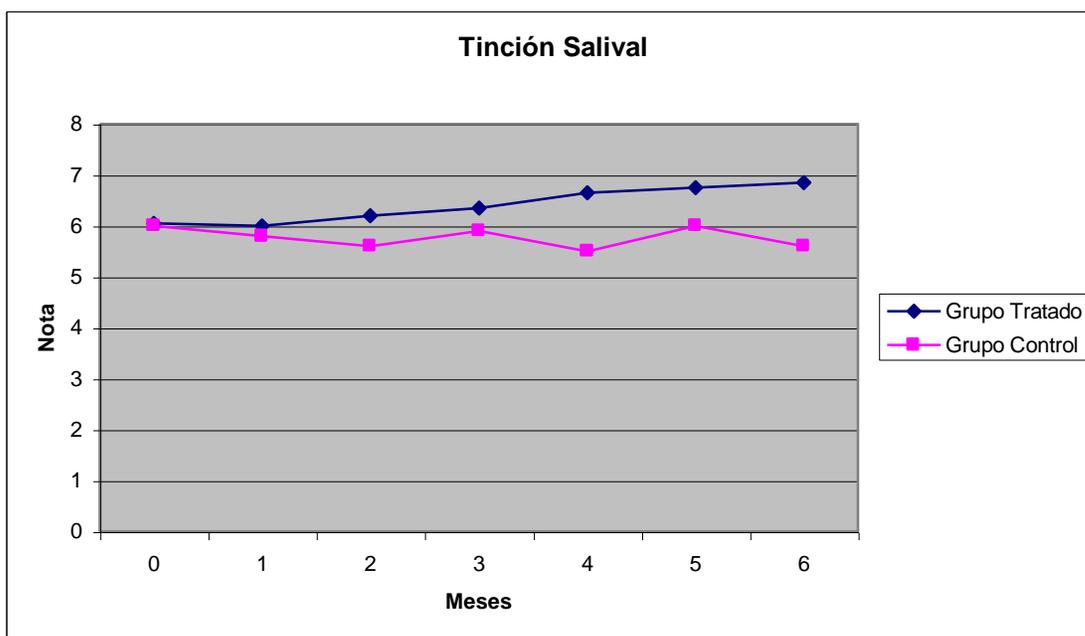


Figura 8: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la tinción salival) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación del pioderma aumentó progresivamente, es decir, el pioderma fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota primero se mantuvo, luego mejoró para finalmente empeorar, es decir, los pacientes presentaron más pioderma al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

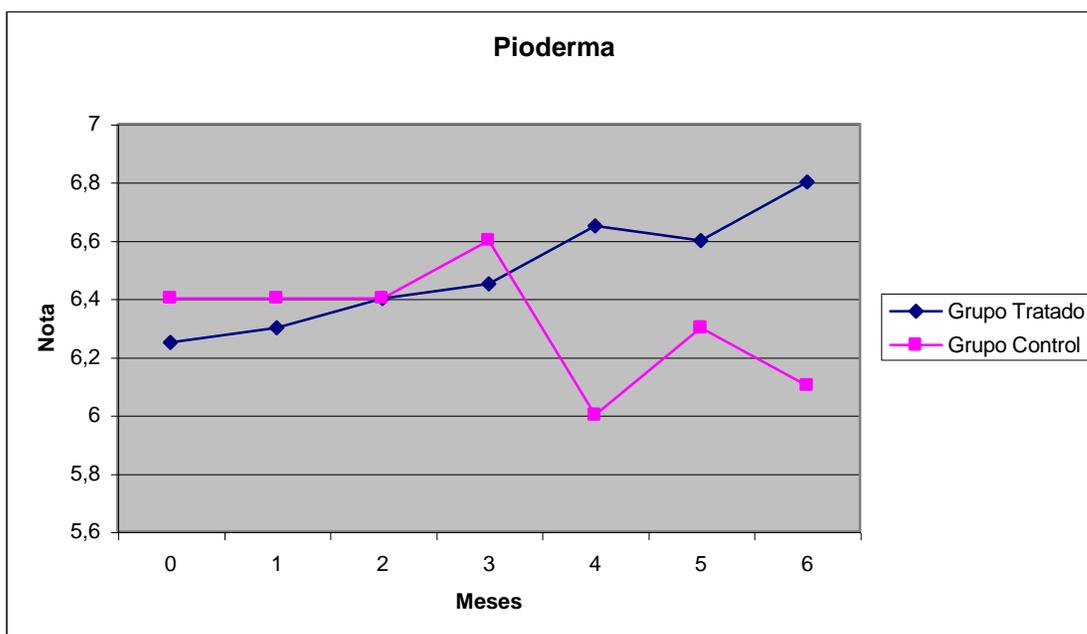


Figura 9: Nota promedio de 1 (máxima presentación del pioderma) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la alopecia no presentó un patrón constante (primero se mantuvo, luego aumento, después empeoró, volvió a mejorar, volvió a empeorar, para finalmente mejorar), aunque en términos generales (comparando la nota inicial con la nota final) puede decirse que la alopecia disminuyó. En el grupo control, puede decirse que la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron más alopecia al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

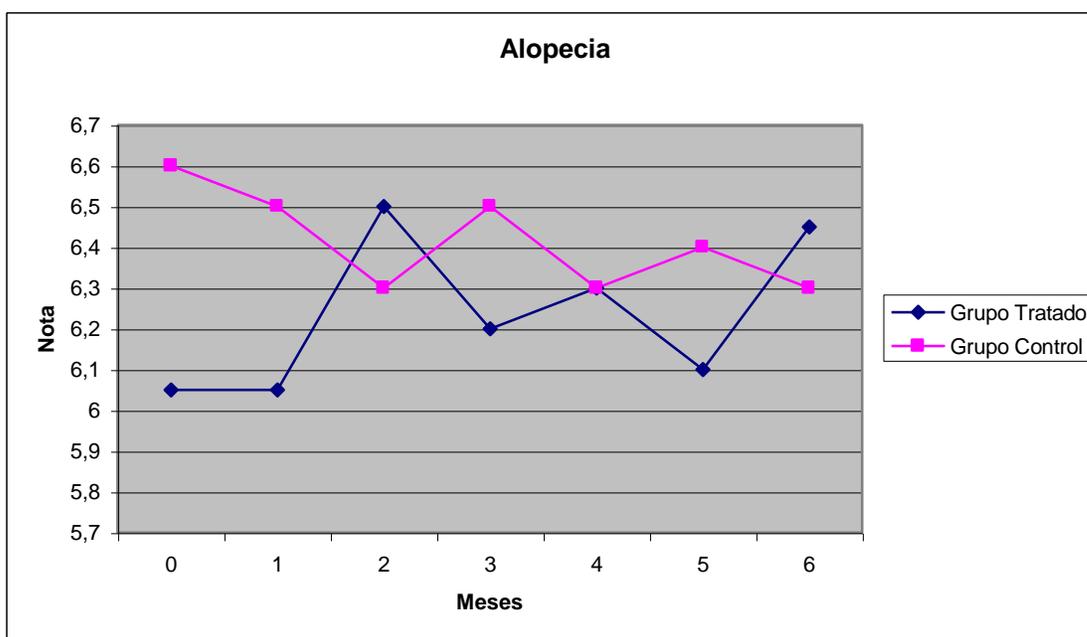


Figura 10: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la alopecia) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la liquenificación primero aumentó, luego disminuyó y después aumentó progresivamente, es decir, la liquenificación fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota se mantuvo a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes no presentaron liquenificación durante todo el estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control y terminó siendo iguales para ambos grupos.

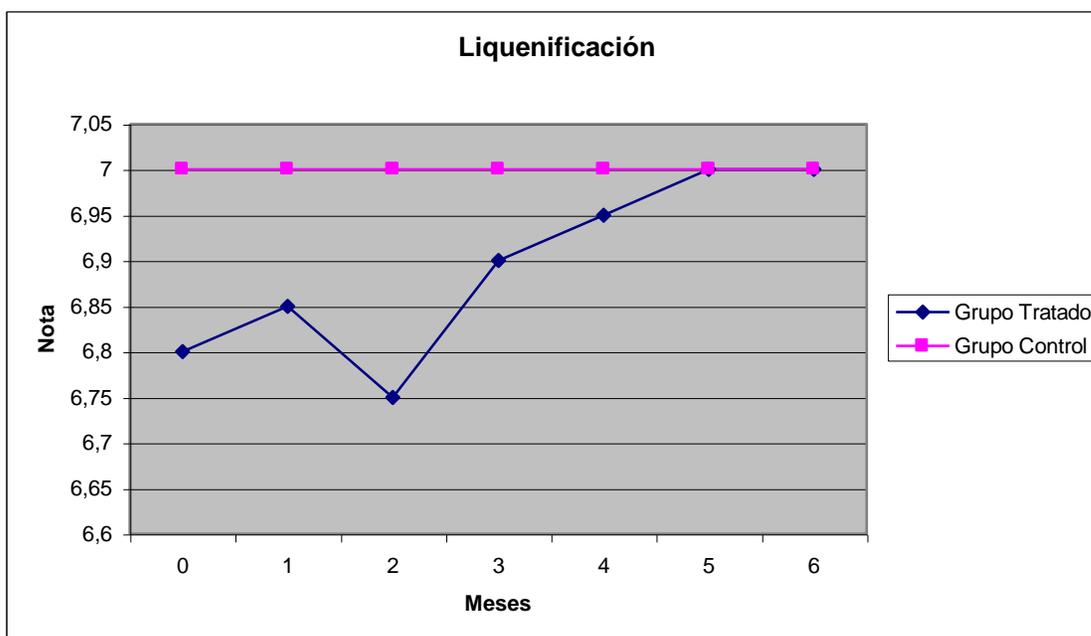


Figura 11: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la liquenificación) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la otitis aumentó progresivamente (excepto los dos meses finales del estudio, en los cuales disminuyó levemente), es decir, la otitis fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota no presentó un patrón constante, pero en términos generales (comparando la nota inicial con la nota final) puede decirse que los pacientes presentaron menos otitis al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control y también terminó siendo mejor para el grupo control que para el grupo tratado.

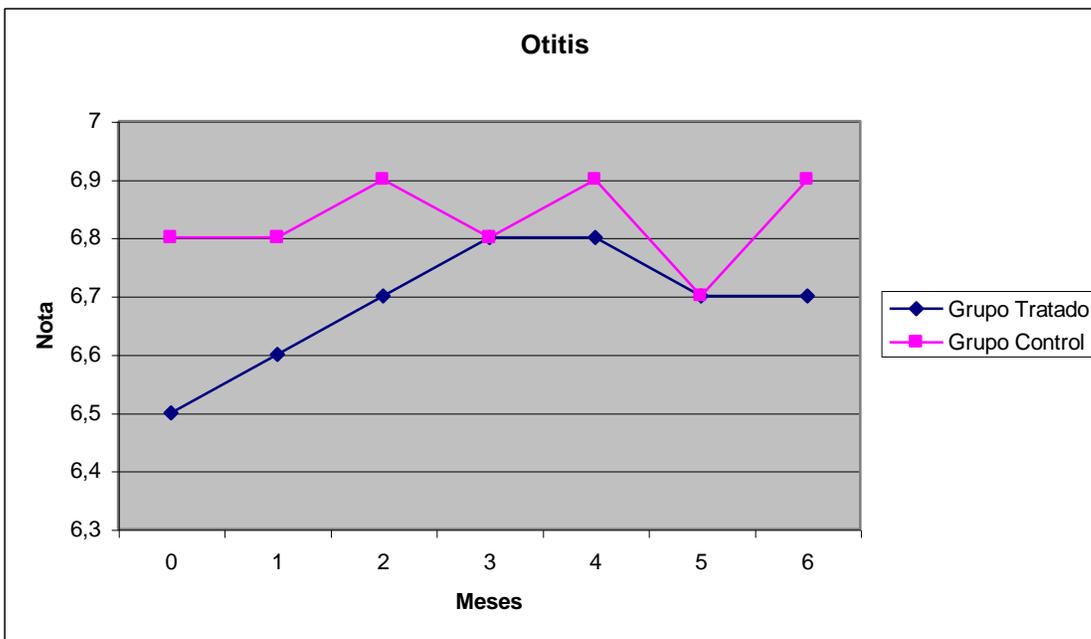


Figura 12: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la otitis) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la seborrea aumentó progresivamente, es decir, la seborrea fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en términos generales la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron más seborrea al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo igual para ambos grupos.



Figura 13: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la seborrea) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la queilitis no presentó un patrón constante, pero en términos generales (comparando la nota inicial con la nota final) puede decirse que la queilitis fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota se mantuvo a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes no presentaron queilitis durante el estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo igual para ambos grupos.

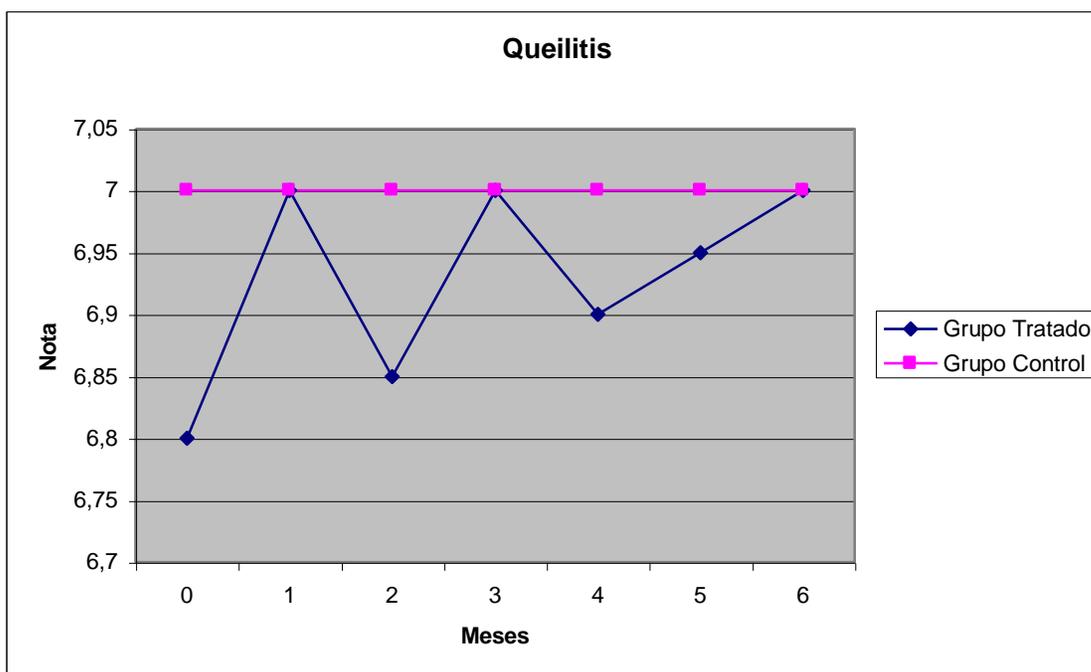


Figura 14: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la queilitis) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación de la conjuntivitis aumentó progresivamente, es decir, la conjuntivitis fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota se mantuvo durante casi todo el transcurso del tiempo para finalmente empeorar, es decir, los pacientes presentaron más conjuntivitis al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

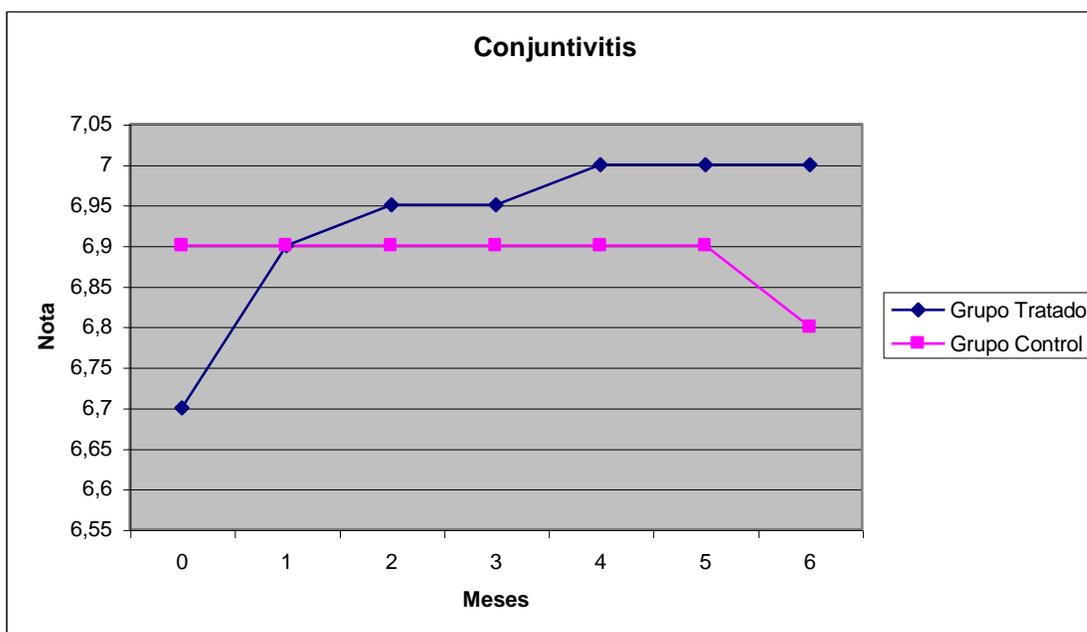


Figura 15: Nota promedio de 1 (máxima presentación de la conjuntivitis) a 7 (no presentación).

En el grupo tratado, la nota para la evaluación del mal olor primero disminuyó para luego aumentar progresivamente, es decir, el mal olor fue disminuyendo a medida que transcurrió el tratamiento. En el grupo control, en cambio, la nota empeoró a medida que pasó el tiempo, es decir, los pacientes presentaron peor olor al final del estudio. La nota inicialmente fue mejor para el grupo control, pero terminó siendo mejor para el grupo tratado con inmunoterapia.

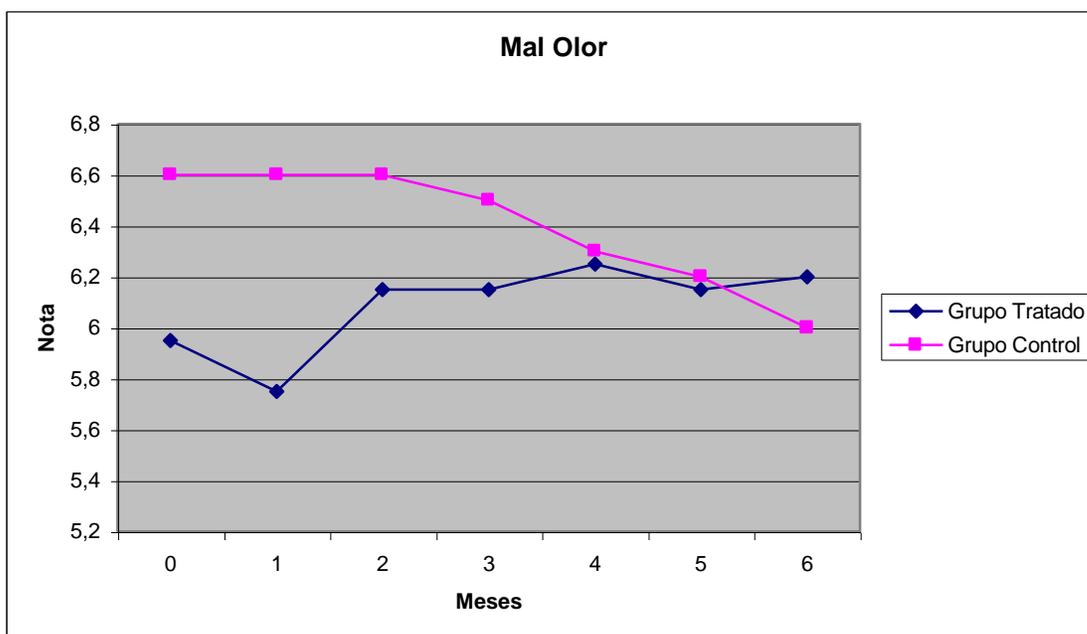


Figura 16: Nota promedio de 1 (máxima presentación del mal olor) a 7 (no presentación).

La mayoría de los signos clínicos (prurito, eritema, tinción salival, pioderma, alopecia, seborrea, conjuntivitis, mal olor) mejoraron más en el grupo tratado que en el grupo control. La liquenificación y la queilitis tuvieron igual porcentaje de mejoría en ambos grupos y la hiperpigmentación y la otitis mejoraron más en el grupo control.

El porcentaje de mejoría de los signos clínicos para ambos grupos después del tratamiento se muestra en el cuadro N° 11.

Cuadro 11: Porcentaje de perros que mejoraron en el grupo control y en el grupo tratado para cada signo clínico después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia alérgeno específica para *D. farinae*.

| Signo Clínico | Grupo Tratado (%) | Grupo Control (%) |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Prurito | 80 | 20 |
| Eritema | 70 | 0 |
| Hiperpigmentación | 90 | 100 |
| Tinción Salival | 100 | 20 |
| Pioderma | 90 | 40 |
| Alopecia | 70 | 40 |
| Liquenificación | 100 | 100 |
| Otitis | 90 | 100 |
| Seborrea | 90 | 60 |
| Queilitis | 100 | 100 |
| Conjuntivitis | 100 | 80 |
| Mal olor | 50 | 40 |

Los resultados de la primera y de la segunda prueba de intradermorreacción para *D. farinae* de los grupos en estudio se resumen en los cuadros N° 12 y 13.

Cuadro 12: Diámetro de la pápula (expresado en milímetros) en la primera y en la segunda prueba de intradermorreacción para *D. farinae* de los individuos asignados al grupo tratado.

| Paciente | Control (+) 1° Prueba | <i>D. farinae</i> 1° Prueba | Control (-) 1° Prueba | Control (+) 2° Prueba | <i>D. farinae</i> 2° Prueba | Control (-) 2° Prueba |
|-----------------|----------------------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| 1 | 12 | 18 | 6 | 15 | 15 | 12 |
| 2 | 15 | 24 | 0 | 21 | 18 | 12 |
| 3 | 15 | 15 | 9 | 24 | 18 | 15 |
| 4 | 12 | 21 | 0 | 15 | 18 | 0 |
| 5 | 15 | 24 | 0 | 15 | 18 | 0 |
| 6 | 30 | 24 | 15 | 18 | 30 | 12 |
| 7 | 18 | 18 | 12 | 18 | 15 | 15 |
| 8 | 18 | 27 | 15 | 27 | 18 | 15 |
| 9 | 30 | 24 | 18 | 30 | 0 | 0 |
| 10 | 30 | 24 | 18 | 27 | 12 | 6 |

Cuadro 13: Diámetro de la pápula (expresado en milímetros) en la primera y en la segunda prueba de intradermorreacción para *D. farinae* de los individuos asignados al grupo control.

| Paciente | Control (+) 1° Prueba | <i>D. farinae</i> 1° Prueba | Control (-) 1° Prueba | Control (+) 2° Prueba | <i>D. farinae</i> 2° Prueba | Control (-) 2° Prueba |
|-----------------|----------------------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| 11 | 15 | 24 | 15 | 24 | 15 | 6 |
| 12 | 12 | 15 | 9 | 21 | 12 | 12 |
| 13 | 12 | 18 | 0 | 18 | 18 | 12 |
| 14 | 12 | 18 | 6 | 24 | 21 | 12 |
| 15 | 21 | 18 | 12 | 24 | 21 | 12 |

Los siguientes cuadros pertenecen al análisis estadístico de este estudio. El cuadro N° 14 muestra los resultados de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, aplicada para comparar las notas de cada signo clínico entre el grupo tratado y el grupo control. El cuadro N° 15 resume los resultados de la prueba exacta de Fisher, aplicada para comparar la diferencia entre la primera y la segunda prueba de intradermorreacción entre los grupos en estudio.

Cuadro 14: Prueba no paramétrica de Mann-Whitney entre el grupo tratado y el grupo control para los diferentes signos clínicos después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia para *D. farinae*.

| Signo Clínico | Mann-Whitney U | Diferencia Significativa Entre Grupos |
|--------------------------|-----------------------|--|
| Prurito | 11 | Sí |
| Eritema | 7 | Sí |
| Hiperpigmentación | 22 | No |
| Tinción Salival | 1 | Sí |
| Pioderma | 13 | No |
| Alopecia | 23,5 | No |
| Liquenificación | 25 | No |
| Otitis | 24 | No |
| Seborrea | 25 | No |
| Queilitis | 25 | No |
| Conjuntivitis | 20 | No |
| Mal Olor | 22,5 | No |

Siendo $\alpha = 0,05$ y $U \leq 11$, entonces existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratado y control para los signos de prurito, eritema y tinción salival.

Siendo $\alpha = 0,05$ y $U > 11$, entonces no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratado y control para los signos de hiperpigmentación, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor.

Cuadro 15: Prueba exacta de Fisher entre el grupo tratado y el grupo control para la disminución del tamaño de la pápula de *D. farinae* en la segunda prueba de intradermorreacción después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia para este alérgeno.

| Grupo | Pápula de menor tamaño | Pápula de igual o mayor tamaño | Número de perros |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Tratado | 8 | 2 | 10 |
| Control | 3 | 2 | 5 |
| Número de perros | 11 | 4 | 15 |

Siendo $p = 0,4066$ y $\alpha = 0,05$, entonces no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

DISCUSIÓN

En la prueba de intradermorreacción realizada, el 75% de los individuos resultaron positivos al ácaro del polvo *D. farinae* (figura N° 1). Estos resultados coinciden con Scott *et al.* (1995), con Saridomichelakis *et al.* (1999) y con Noli y Hillier (2002), que describen a este ácaro como uno de los alérgenos más importantes en el desarrollo de la dermatitis atópica. La cifra de 75% de los individuos positivos a *D. farine* fue menor a la de 82,1% observada por Saridomichelakis *et al.* (1999).

De los 30 individuos sometidos a la prueba de intradermorreacción (anexo 3), 5 (16,66%) tuvieron reacciones anafilácticas: 4 (13,33%) presentaron angioedema y 1 (3,33%) presentó un cuadro de anafilaxia grave (edema pulmonar). Los perros con angioedema respondieron sin problemas a la administración de dexametasona (1 mg/kg EV) y el perro con edema pulmonar fue tratado con epinefrina (0,5 ml de solución 1 : 10.000 EV), dexametasona (1 mg/kg EV), furosemida (2 mg/kg EV), oxigenoterapia y fluidoterapia, con lo cual se recuperó rápidamente. Estos resultados no concuerdan con Scott *et al.* (1995), quien define las reacciones anafilácticas durante pruebas de intradermorreacción como excepcionales.

Algunos autores (Halliwell y Schwartzman, 1971; Scott, 1981; Carlotti y Costargent, 1994; Saridomichelakis *et al.*, 1999; Griffin y DeBoer, 2001) señalan una predilección racial para el Boxer (entre otras razas), lo que en cierta medida coincide con lo obtenido en este estudio, donde el 13,33% del total de individuos ingresados fueron de raza Boxer (figura N° 2). Sin embargo, en el presente trabajo hubo una alta presencia de perros mestizos (26,66% del total de individuos ingresados) (figura N° 2), lo cual podría deberse a que un muy alto porcentaje (67,1%) de los perros en el Gran Santiago corresponden a perros mestizos (Ibarra *et al.*, 2003).

En cuanto a predisposición sexual, algunos autores (Halliwell y Schartzman, 1971; Nesbitt *et al.*, 1984; Scott, 1981) indican que hay cierta predilección por las hembras, lo

que coincide con el presente estudio, en el cual ellas corresponden al 80% de los individuos ingresados (figura N° 3). Sin embargo, otros autores (Carlotti y Costargent, 1994; Saridomichelakis *et al.*, 1999; Willemse y van den Brom, 1983) señalan que no hay evidencia para asegurar una predisposición sexual por las hembras, por lo que este factor actualmente se considera sin resolver.

La edad promedio para los dos grupos fue de 4,6 años (grupo tratado = 4,8 años y grupo control = 4,2 años), con un rango de 2 a 12 años (figura N° 4). La literatura (Nesbitt *et al.*, 1984; Scott *et al.*, 1995; Saridomichelakis *et al.*, 1999; Griffin y DeBoer, 2001) señala que la edad promedio de inicio de los signos clínicos es entre los 6 meses y los 3 años, y que es inusual que los perros comiencen antes de los 6 meses de edad o después de los 7 años, lo que coincide con lo observado en este estudio.

El presente estudio utilizó inmunoterapia con extractos alérgicos precipitados en hidróxido de aluminio. Sólo se encontraron dos reportes bibliográficos que evaluaron inmunoterapia con alérgenos “depot”, realizados por Willemse *et al.* (1984) y Colombo *et al.* (2005). El resto de los autores describe inmunoterapia con extractos no modificados (acuosos). Si bien estos dos reportes contaron con grupos tratados y controles, se debe tener presente que en el estudio de Colombo *et al.* (2005) el grupo control estaba recibiendo una dosis estándar de inmunoterapia y el grupo tratado estaba probando una nueva dosis (más baja que la estándar). Por otra parte, en el reporte de Willemse *et al.* (1984) había un grupo en tratamiento y un grupo recibiendo un placebo, pero hubo una retirada muy alta de pacientes en el transcurso del estudio, lo que dificultó el análisis de los resultados y las conclusiones del estudio.

Griffin y Hillier (2001) sugieren que el 50-100% de los perros que reciben inmunoterapia exhiben mejoría, lo cual coincide con el presente trabajo, en el cual la mejoría de los perros tratados varió de un 50 a un 100% dependiendo del signo clínico observado, siendo de un 80 % en lo que respecta al prurito, el principal signo clínico de la dermatitis atópica (cuadro N° 11).

En este estudio, el 80% de los perros tratados mostró mejoría en lo que a prurito se refiere, contra un 20% de mejoría de los perros controles (cuadro N° 11), es decir, hubo una mayor diferencia entre grupos que la observada por Willemse *et al.* (1984), el cual señala un 59% de mejoría de los perros tratados, contra un 21% de los perros controles.

La literatura encontrada evalúa avances clínicos con la inmunoterapia en cuanto a prurito y lesiones cutáneas en general (sin analizar cada tipo de lesión). El presente estudio, en cambio, analiza la respuesta de cada uno de los signos clínicos por separado.

La aplicación de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, a cada uno de los signos clínicos después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia alérgeno específica para *D. farinae*, arrojó que para los signos clínicos de prurito, eritema y tinción salival, hubo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado y el grupo control después de 6 meses de tratamiento. Por otra parte, para los signos clínicos de hiperpigmentación, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor, no hubo diferencia significativa (cuadro N° 14).

De estos resultados se extrae que la inmunoterapia alérgeno específica para *D. farinae* en individuos sensibles a dicho alérgeno, provoca disminución del prurito, del eritema y de la tinción salival en un plazo de 6 meses, mas no del resto de los signos clínicos evaluados.

En la dermatitis atópica, el prurito es el signo clínico más característico, y las lesiones cutáneas son el resultado del autotraumatismo derivado del prurito. En el presente estudio, se observó que el grupo control mantuvo el nivel de prurito durante los primeros 3 meses y luego éste aumentó (bajó su calificación), coincidiendo el aumento de prurito con los meses primaverales (Septiembre, Octubre y Noviembre), meses en los cuales aumenta el número de alérgenos en el ambiente (ácaros del polvo, pólenes, hongos). En cambio, el grupo tratado mejoró la calificación de prurito al segundo mes de tratamiento (figura N° 5), lo cual llama la atención, debido a que la literatura describe evolución a partir de mínimo 3 ó 4 meses de tratamiento (Griffin y Hillier, 2001; Willemse, 1986; Colombo, 2005). Esta

diferencia en la rapidez de la respuesta a la inmunoterapia puede deberse a que los reportes bibliográficos no evaluaron a los pacientes antes de 3 meses de tratamiento, o bien, a que el presente estudio utilizó un alérgeno “depot” , precipitado en hidróxido de aluminio, polimerizado con glutaraldehído y sometido a un proceso de despigmentación, modificaciones que según Nieto *et al.* (2003) podrían mejorar la efectividad clínica del extracto nativo.

El eritema está estrechamente relacionado a la ocurrencia de prurito, es decir, aparece inmediatamente después del comienzo del rascado y desaparece horas a días después de que éste cesa. Probablemente ésta es la causa del por qué el eritema respondió a la inmunoterapia, ya que el estudio abarcó 6 meses de tratamiento, tiempo suficiente para que disminuyera considerablemente el prurito y, con él, las lesiones cutáneas de curso más agudo. Así, podemos ver una mejoría de la calificación para el eritema en el grupo tratado, mientras que en el grupo control la calificación disminuye progresivamente (figura N° 6). Nótese que en ambos grupos hay una baja en la calificación al quinto mes de tratamiento, lo que coincide con el período Septiembre-Octubre. Probablemente esto se deba a la mayor concentración de alérgenos en el ambiente durante estos meses.

La tinción salival del pelaje llama la atención debido a que es un signo que demora bastante tiempo en desaparecer, ya que para esto requiere del crecimiento de nuevo pelo una vez cesado (o disminuido) el lamido. Pese a esto, en esta investigación fue uno de los signos que respondió rápidamente a la inmunoterapia. Puede que esto se deba a que en el transcurso del estudio uno de los dueños cortó el pelo de su mascota (uno de los cinco perros del grupo tratado que presentó tinción salival), lo cual, obviamente, hace desaparecer el signo clínico en cuestión. Aún así, es importante destacar que este signo no volvió a aparecer en este perro, que también mejoró su calificación en los otros perros tratados y que empeoró su calificación progresivamente en el grupo control (figura N° 8). Esto lleva a suponer que la tinción salival sí respondió a la inmunoterapia, gracias a que la temprana disminución del prurito permitió un crecimiento de pelo sin tinción por lamido.

Por otra parte, la hiperpigmentación, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis y mal olor son signos clínicos de curso más crónico, vale decir, se requiere un tiempo relativamente más prolongado de autotraumatismo para que aparezcan y, debido a que provocan cambios más profundos en la piel, demoran más tiempo en desaparecer que el eritema. Así, probablemente se hubiera observado la mejoría de estos signos en los perros que disminuyeron su nivel de prurito si el estudio los hubiera evaluado por un tiempo mayor a 6 meses. Debido a esto, sería recomendable realizar estudios de más larga duración, con el fin de observar si efectivamente disminuyen todos los signos.

Pese a no encontrar diferencia estadísticamente significativa para estos signos, clínicamente se pudo apreciar que para el pioderma (figura N° 9), alopecia (figura N° 10), seborrea (figura N° 13) y mal olor (figura N° 16), el promedio de la calificación de los perros tratados mejoró, mientras que el de los perros controles empeoró. La hiperpigmentación (figura N° 7) y la otitis (figura N° 12) mostraron mejoría en ambos grupos. En cuanto a la liquenificación (figura N° 11) y la queilitis (figura N° 14), se observó mejoría del grupo tratado, pero la comparación con el grupo control se hace difícil, debido a que ningún perro control presentó estos síntomas.

Llama la atención el caso de la conjuntivitis, signo clínico que se presenta con rapidez frente a la exposición a un alérgeno y que sin embargo, no mostró diferencia significativa entre los grupos tratado y control. Se debe tener en cuenta que este es un signo no dermatológico no muy común en la atopia canina (Griffin y DeBoer, 2001) y que no tiene una relación directa con el rascado como los demás signos, por lo que se podría deducir que en los perros, contrario a lo que ocurre en las personas según Bousquet *et al.* (1998), la inmunoterapia tiene un efecto reducido sobre los signos no dermatológicos. Aún así, se pudo apreciar que la calificación promedio del grupo tratado mejoró para este signo, mientras que la del grupo control empeoró (figura N° 15).

Entonces, se recomendaría utilizar el protocolo de inmunoterapia estudiado con el fin de disminuir el prurito y eritema en los pacientes atópicos. Sin embargo, se debe advertir al dueño que algunos signos de curso más crónico pueden demorar meses en

desaparecer y que los resultados pueden variar entre individuos, observándose desde pacientes que eliminaron completamente el prurito hasta pacientes que empeoraron a pesar de seguir correctamente el tratamiento.

El presente estudio utilizó inmunoterapia alérgeno específica exclusivamente para *D. farinae*. No se encontraron reportes bibliográficos en Medicina Veterinaria sobre inmunoterapia para ningún alérgeno individual, ya que los autores realizaron inmunoterapia con todos los alérgenos positivos a pruebas de intradermorreacción o a pruebas serológicas *in vitro* (Willemse *et al.*, 1984; Colombo, 2005; Scott *et al.*, 1993; Rosser, 1998).

En la presente investigación, el alérgeno utilizado en la inmunoterapia era el ácaro del polvo *D. farinae*, y por lo tanto, los pacientes ingresados al estudio debían cumplir con el requisito de ser sensibles a este alérgeno en la prueba de intradermorreacción. No obstante, la gran mayoría de estos perros fueron sensibles no sólo al ácaro, sino también a otro u otros alérgenos. El éxito de la inmunoterapia en estas condiciones (perros sensibilizados a varios alérgenos tratados solamente con uno de ellos) podría tener explicación en la teoría del “umbral del prurito” que según Griffin y Hillier (2001) indica que todos los individuos tienen un nivel por encima del cual comienzan a sentir picazón y a manifestar rascado. Según este concepto, los distintos estímulos que provocan prurito se suman, de tal manera que la eliminación sólo de alguno de ellos puede lograr que los estímulos no alcancen el umbral y que el individuo no sienta picor. Sería interesante realizar estudios posteriores y ver si los pacientes responden mejor al utilizar inmunoterapia que incluya todos los alérgenos a los cuales resulten positivos, o bien, si basta con uno para obtener resultados similares. Este punto es particularmente importante debido a que se piensa (aunque no hay estudios controlados que lo demuestren) que la inmunoterapia con numerosos alérgenos podría provocar un mayor número de reacciones adversas y ser menos efectiva, debido a que hay una mayor concentración de alérgenos en su totalidad, pero una menor concentración de cada alérgeno por separado, de manera que no alcanzaría a estimular una respuesta inmunológica adecuada, mas sí una alérgica.

En cuanto a la observación de reacciones adversas en el estudio, ninguno de los pacientes tratados presentó alguna durante el tratamiento. Sin embargo, de los 10 pacientes ingresados al grupo tratado, 5 (50%) cursaban ocasionalmente con un aumento del prurito dentro de los 2 primeros días después de la inyección, para luego disminuir. Esta cifra es bastante mayor que el 25% de aumento del prurito encontrada por Rosser (1998). Pese a esto, los dueños de los perros consideraron que esta reacción era aceptable, ya que el aumento de la picazón era leve y solamente duraba 1 ó 2 días. En la investigación de Rosser (1998), en cambio, el prurito fue severo y persistente, de manera tal que muchos de los dueños discontinuaron el tratamiento. Además, en el estudio de Rosser (1998) un 13% de los perros exhibió reacciones adversas como anafilaxia, angioedema y otras, las cuales no acontecieron en el presente estudio. En la investigación de Willemse *et al.* (1984), se reporta un 11,11% de aumento de prurito en los perros tratados y en la de Scott *et al.* (1993), un 20,93%, prurito que al igual que en el otro reporte, fue severo y persistente y que conllevó a la retirada de los pacientes por parte de los dueños. De esta manera, se podría afirmar que el protocolo y dosis usados en la presente investigación no provocaron reacciones adversas inaceptables para los dueños de los perros tratados, situación que era esperable debido a que la inmunoterapia se realizó con un extracto alérgico precipitado en hidróxido de aluminio, polimerizado con glutaraldehído y despigmentado, características que, según Nieto *et al.* (2003), aumentan la seguridad del tratamiento.

En Medicina Humana, según relatan Griffin y Hillier (2001), las dosis de alérgenos para respuestas clínicas óptimas han sido definidas para muchos alérgenos, no así en Medicina Veterinaria, donde no están disponibles extractos alérgicos estandarizados. Entonces, sería recomendable por una parte probar inmunoterapia con cada uno de los alérgenos por separado (y observar si la inmunoterapia es más eficaz para unos alérgenos que para otros, como se ha visto en Medicina Humana) y, por otra parte, ir probando distintas dosis hasta encontrar la dosis óptima para cada alérgeno, es decir, aquella que asegure eficacia clínica, pero con un margen razonable de seguridad para evitar las reacciones sistémicas.

En cuanto a la segunda prueba de intradermorreacción (realizada después de los 6 meses de tratamiento con inmunoterapia), la aplicación de la prueba exacta de Fisher (cuadro N° 15) para la disminución del tamaño de la pápula de *D. farinae* arrojó que no existe diferencia significativa entre el grupo tratado y el grupo control. No se encontraron reportes bibliográficos que evaluaran el tamaño de las pápulas después del tratamiento con inmunoterapia, ni para *D. farinae*, ni para ningún otro alérgeno.

Con estos resultados se puede concluir que, pese a que la inmunoterapia alérgeno específica para *D. farinae* demostró diferencia significativa para los signos clínicos más importantes (prurito y eritema) entre los dos grupos en estudio, no provocó una disminución importante de la pápula de este alérgeno. Por lo tanto, no sería recomendable utilizar la prueba de intradermorreacción como herramienta de evaluación de la efectividad de la inmunoterapia, pese a ser una herramienta diagnóstica de gran utilidad.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la presente investigación, sería recomendable la utilización del protocolo de inmunoterapia estudiado con el fin de disminuir el prurito en los pacientes atópicos. Esto resultaría en una gran ayuda para el control de esta enfermedad, permitiendo un tratamiento mucho más seguro que la medicación con corticoides, terapia tradicionalmente usada en la dermatitis atópica.

CONCLUSIONES

Los resultados de la prueba de intradermorreacción arrojaron que el 75% de los perros atópicos fueron positivos a *Dermatophagoides farinae*.

Los individuos ingresados al estudio correspondieron en un 26,66% a perros mestizos, el 80% de los pacientes fueron hembras y el promedio de edad fue de 4,6 años.

Los individuos tratados con inmunoterapia alérgica específica para *D. farinae* tuvieron mejoría en los signos clínicos de prurito, eritema y tinción salival después de 6 meses de tratamiento comparados con los individuos no tratados.

Para los signos clínicos de hiperpigmentación, pioderma, alopecia, liquenificación, otitis, seborrea, queilitis, conjuntivitis y mal olor, no hubo diferencia significativa entre los grupos tratado y control.

No hubo diferencia significativa entre el grupo tratado y el grupo control para la disminución del tamaño de la pápula de *D. farinae* en la segunda prueba de intradermorreacción después de 6 meses de tratamiento con inmunoterapia para *D. farinae*, por lo que no sería recomendable utilizar la prueba de intradermorreacción como herramienta de evaluación de la efectividad de la inmunoterapia.

BIBLIOGRAFÍA

- **AKDIS, C. A.; BLASER, K.** 2000. Mechanisms of allergen specific immunotherapy. *Allergy*. 55: 522-230.
- **AKDIS, M.; SCHMIDT-WEBER, C.; JUTEL, M.; AKDIS, C. A.; BLASER, K.** 2004. Mechanisms of allergen immunotherapy. *Clin. Exp. Allergy Rev.* 4: 56-60.
- **ALVAREZ-CUESTA, E.; BOUSQUET, J.; CANONICA, G. W.; DURHAM, S. R.; MALLING, H. J.; VALOVIRTA, E.** 2006. Standars for practical allergen-specific immunotherapy. *Allergy*. 61: 1-20.
- **AMATO, G. D.; LICCARDI, G.; FRENGELLI, G.** 2007. Thunderstorm-asthma and pollen allergy. *Allergy*. 62: 11-16.
- **ANGARANO, D. W.; MACDONALD, J. M.** 1991. Immunotherapy in canine atopy. **In:** Kirk, R. W.; Bonagura, J. D. *Current Veterinary Therapy*, Vol. XI. Saunders. Philadelphia, USA. pp. 505-508.
- **ARLIAN, L.G.; PLATTS-MILLS, T. A. E.** 2001. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: S403-S413.
- **BEALE, K. M.; KUNKLE, G. A.; CHALKER, L.** 1990. Effects of sedation on intradermal skin testing in flea-allergic dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197: 861-864.
- **BENJAPONPITAK, S.; ORO, A.; MAGUIRE, P.; MARINKOVICH, V.; DEKRUYFF, R. H.; UMETSU, D. T.** 1999. The kinetics of change in cytokine production by CD4+ T cells during conventional allergen immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103: 468-475.

- **BENJUMEDA, A.; CHINCOA, J.; PRIETO, R.; FERNÁNDEZ, L.; DE LA CALLE, A.; CONDE, J.** 2003. Pautas y vías convencionales de la inmunoterapia específica. In: Guardia P.; Llamas, M. E. Inmunoterapia: guía práctica para médicos residentes de alergología. Masson. Barcelona, España. pp. 57-59.
- **BENSIGNOR, E.; CARLOTTI, D. N.** 2002. Sensitivity patterns to house dust mites and forage mites in atopic dogs. *Vet. Derm.* 13: 37-42.
- **BENSIGNOR, E.; OLIVRY, T.** 2005. Tratamiento de lesiones localizadas de dermatitis atópica canina con ungüento con tacrolimus: un estudio controlado aleatorio doble ciego. *Vet. Derm.* 16: 52-60.
- **BOUSQUET, J.; LOCKEY, R.; MALLING, H. J.** 1998. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J. Allergy Clin. Immunol.* 102: 558-562.
- **BRASÓ, J. V.; JORRO, G.** 2003. Inmunoterapia para la enfermedad por aeroalergenos. In: Manual de alergia clínica. Masson. Barcelona, España. pp. 205-219.
- **BUSH, R. K.; PORTNOY, J. M.** 2001. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: S430-S440.
- **CARLOTTI, D. N.; COSTARGENT, F.** 1994. Analysis of positive skin test in 449 dogs with allergic dermatitis. *Eur. J. Comp. Anim. Pract.* 4: 42-59 (citado por Griffin, C. E.; DeBoer, D. J. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269).
- **CHAMBERLAIN, K. W.** 1974. Atopic (allergic) dermatitis. *Vet. Clin. N. Am.* 4: 29-39 (citado por Griffin, C. E.; DeBoer, D. J. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269).
- **CHAPMAN, M. D.; WOOD, R. A.** 2001. The role and remediation of animal allergens in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: S414-S421.

- **CODNER, E. C.; LESSARD, P.** 1993. Comparison of intradermal allergy test and enzyme-linked immunosorbent assay in dogs with allergic skin disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202: 739-743.
- **COLOMBO, S.; HILL, P. B.; SHAW, D. J.; THODAY, K. L.** 2005. Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blinded, clinical study. *Vet. Derm.* 16: 162-170.
- **CRIEP, L. H.** 1968. Allergy in veterinary medicine. *Vet. Med./Sm. Anim. Clinic.* 63: 855-859.
- **DEBOER, D. J.; GRIFFIN C, E.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 323-330.
- **DEBOER, D. J.; HILLIER, A.** 2001a. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 277-287.
- **DEBOER, D. J.; HILLIER, A.** 2001b. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 271-276.
- **DE WECK, A. L.; MAYER, P.; STUMPER, B.; SCHIESSL, B.; PICKART, L.** 1997. Dog allergy, a model for allergy genetics. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 113: 55-57 (citado por Sinke, J. D.; Rutten, V. P. M. G.; Willemse, T. 2002. Immune dysregulation in atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 351-356).
- **FERGUSON, E. A.; LITTLEWOOD, J. D.; CARLOTTI, D. N.; GROVER, R.** 2006. Management of canine atopic dermatitis using the plant extract PYM00217: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Vet. Derm.* 17: 236-243.
- **FERRER, M.; BRASÓ, J. V.** 2003. Alergenos. Extractos alérgicos. **In:** Brasó, J. V.; Jorro, G. *Manual de alergia clínica.* Masson. Barcelona, España. pp. 41-52.

- **FOSTER, A. P.; LITTLEWOOD, J. D.; WEBB, P.** 2003. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεRIα-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 93: 51-60.
- **FREW, A. J.; SMITH, H. E.** 2001. Sublingual immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: 441-444.
- **FRANK, L. A.; KUNKLE, G. A.; BEALE, K. M.** 1992. Comparison of serum cortisol concentration before and after intradermal testing in sedated and nonsedated dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200: 507-511.
- **GARCÍA, S.; MATEOS, I.; CONDE, M. A.; CABANILLAS, M.; CRESPO, P.; CHAPARRO, A.; GUARDIA, P.; CONDE, J.** 2003. Estandarización de extractos alergénicos. In: Guardia P.; Llamas, M. E. *Inmunoterapia: guía práctica para médicos residentes de alergología.* Masson. Barcelona, España. pp. 9-16.
- **GRAHAM, L. F.; TORRES, S. M. F.; JESSEN, C. R.; HORNE, K. L.; HENDRIX, P. K.** 2003. effects of propofol-induced sedation on intradermal test reactions in dogs with atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 14: 167-176.
- **GRIFFIN, C. E.; ROSENKRANTZ, W. S.** 1991. A comparison of hiposensitization results in dogs based on an intradermal protocol versus an in vitro protocol. In: Proceedings of the Annual Meeting of the American Academy of Veterinary Allergy. Scottsdale, USA. p. 12 (citado por Griffin, C.E.; Hillier, A. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 363-383).
- **GRIFFIN, C. E.; DE BOER, D. J.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269.
- **GRIFFIN, C. E.; HILLIER, A.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 363-383.
- **HALLIWELL, R. E. W.; SCHWARTZMAN, R. M.** 1971. Atopic disease in the dog. *Vet. Rec.* 89: 209-214.

- **HALLIWELL, R. E. W.; GILBERT, S. M.; LIAN, T. M.** 1998. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Vet. Derm.* 9: 179-184.
- **HALLIWELL, R. E. W.; DEBOER, D. J.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 159-167.
- **HILL, P. B.; DEBOER, D. J.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 169-186.
- **HILLIER, A.; DEBOER, D. J.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 289-304.
- **HILLIER, A.; GRIFFIN, C. E.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 147-152.
- **HITES, M. J.; KLEINBECK, M. L.** 1989. Effect of immunotherapy on the serum concentration of allergen specific IgG antibodies in dog sera. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 22: 39-51.
- **HOU, C.; DAY, M. J.; NUTALL, T. J.; HILL, P. B.** 2006. evaluation of IgG subclass responses against *Dermatophagoides farinae* allergens in healthy and atopic dogs. *Vet. Derm.* 17: 103-110.
- **IBARRA, L.; MORALES, M. A.; ACUÑA, P.** 2003. Aspectos demográficos de la población de perros y gatos en la ciudad de Santiago, Chile. *Av. Cienc. Vet.* 18: 13-20.
- **IWASAKI, T.; HASEGAWA, A.** 2006. A randomised comparative clinical trial of recombinant canine interferon- γ (KT-100) in atopic dogs using antihistamine as control. *Vet. Derm.* 17: 195-200.

- **JACKSON, A.; FOSTER, A.; HART, B.; HELPS, C.; SHAW, S.** 2005. Prevalence of house dust mites and *Dermatophagoides* group 1 antigens collected from bedding, skin and hair coat of dogs in south-west England. *Vet. Derm.* 16:32-38.
- **JUTEL, M.; AKDIS, M.; BLASER, K.; AKDIS, C. A.** 2006. Mechanisms of allergen specific immunotherapy: T-cell tolerance and more. *Allergy.* 61: 796-807.
- **KAGI, M. K.; WUTHRICH, B.** 2002. Different methods of local allergen-specific immunotherapy. *Allergy.* 57: 379-388.
- **LÓPEZ, J.; PÉREZ, L.; DUQUE, J. M.; PÉREZ, J. L.; DAZA, J. C.; CONDE, J.** 2003a. Eficacia de la inmunoterapia. In: Guardia, P.; Llamas, M. E. *Inmunoterapia: guía práctica para médicos residentes de alergología.* Masson. Barcelona, España. pp. 29-34.
- **LÓPEZ, J.; PÉREZ, L.; DUQUE, J. M.; PÉREZ, J. L.; DAZA, J. C.; CONDE, J.** 2003b. Mecanismo de acción de la inmunoterapia. In: Guardia, P.; Llamas, M. E. *Inmunoterapia: guía práctica para médicos residentes de alergología.* Masson. Barcelona, España. pp. 23-28.
- **MARSELLA, R.; OLIVRY, T.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal antinflammatory pharmacotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 331-345.
- **MARSELLA, R.; NICKLIN, C. F.; SAGLIO, S.; LÓPEZ, J.** 2003. Investigation on the efficacy and safety of 0,1% tacrolimus ointment (Protopic ®) in canine atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Vet. Derm.* 14: 210-236.
- **MILLER, W. H.; SCOTT, D. W.; WELLINGTON, J. R.; SCARLETT, J. M.; PANIC, R.** 1993. Evaluation of the performance of a serologic allergy sistem in atopic dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 29: 545-550.
- **MUELLER, R. S.; BETTANY, S. V.** 1996. Long-term immunotherapy of 146 dogs with atopic dermatitis: a retrospective study. *Aust. Vet. Pract.* 26: 128-132.

- **MUELLER, R. S.; FIESELER, K. V.; FETTMAN, M.; ROSYCHUK, R. A. W.; BETTENAY, S. V.; ZABEL, S.; GREENWALT, T.** 2003. El efecto de ácidos grasos omega-3 en dermatitis atópica canina: un estudio controlado con placebo doble ciego. *Vet. Derm.* 14: 237-267.
- **NESBITT, G. H.** 1978. Canine allergic inhalant dermatitis: a review of 230 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172: 55-60 (citado por Griffin, C. E.; DeBoer, D. J. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269).
- **NESBITT, G. H.; KEDAN, G. S.; CACIOLO, P.** 1984. Canine atopy, part I. Etiology and diagnosis. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 6: 73-84.
- **NIETO, A.; RODRÍGUEZ, M.; LLAMAS, M. E.; MARAVÍ, A.; GONZÁLEZ, J.; DELGADO, J.; CONDE, J.** 2003. Tipos de extractos alergénicos. **In:** Guardia, P.; Llamas, M. E. *Inmunoterapia: guía práctica para médicos residentes de alergología.* Masson. Barcelona, España. pp. 17-21.
- **NOLI, C.; HILLIER, A.** 2002. House dust mites and allergy. **In:** Thoday, K. L.; Foil, C.; Bond, R. *Advances in Veterinary Dermatology.* Vol. 4. Blackwell Science. Boston, USA. pp. 153-158.
- **NUTTALL, T. J.; KNIGHT, P. A.; MCALEESE, S. M.** 2002. T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 379-384.
- **NUTTALL, T. J.; HILL, P. B.; BENSIGNOR, E.; WILLEMSE, T.; THE MEMBERS OF THE INTERNATIONAL TASK FORCE ON CANINE ATOPIC DERMATITIS.** 2006. House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 17: 223-235.
- **OLIVRY, T.; MOORE, P. F.; AFFOLTER, V. K.** 1996. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Arch. Dermatol. Res.* 288: 579-585.

- **OLIVRY, T.; DE BOER, D. J.; GRIFFIN, C. E.** 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. The American College of Veterinariay Dermatology Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 143-146.
- **OLIVRY, T.; SOUSA, C. A.** 2001a. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 311-316.
- **OLIVRY, T.; SOUSA, C. A.** 2001b. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid therapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 317-322.
- **OLIVRY, T; MUELLER, R. S.; THE INTERNATIONAL TASK FORCE ON CANINE ATOPIC DERMATITIS.** 2003. Dermatología Veterinaria basada en evidencia: una revisión sistemática de farmacoterapia en dermatitis atópica canina. *Vet. Derm.* 14: 121-146.
- **OLIVRY, T.; DEANGELO, K.; DUNSTON, S. M.; CLARKE, K. B.; MCCALL, C. A.** 2006. Patch testing of experimentally sensitised beagle dogs: development of a model for skin lesions of atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 17: 95-102.
- **PARK, S.; OHYA, F.; YAMASHITA, K.; IWASAKI, T.** 2000. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J. Vet. Med. Sci.* 62: 983-988 (citado por Griffin, C.E.; Hillier, A. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 363-383).
- **PATERSON, S.** 1994. Use of antihistamines to control pruritus in atopic dogs. *J. Small. Anim. Pract.* 35: 415-419.
- **PLATTS-MILLS, T. A. E.; VERVLOET, D.; THOMAS, W. R.** 1997. Indoor allergens and asthma: report of the Third International Workshop. *J. Allergy Clin. Immunol.* 100: S2-S24 (citado por Nuttall, T. J.; Hill, P. B.; Bensignor, E.; Willemse, T.; the members of the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. 2006. House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 17: 223-235).

- **POWER, H. T.** 2000. Why do owners discontinue immunotherapy? *Vet. Dermatol.* 11(1): 14.
- **RADOWICZ, S.; POWER, H.** 2005. Long-term use of cyclosporine in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 16: 81-86.
- **RANDALL, A.; HILLIER A.; COLE, L. K.; KWOCKHA, K. W.; NEEDHAM, G.; WASSOM, D. L.** 2003. Quantitation of house dust mites and house dust mite allergens in the microenvironment of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 64: 1580-1588.
- **REEDY, L. M.** 1979. Canine atopy. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1: 550-556 (citado por Colombo, S.; Hill, P. B.; Shaw, D. J.; Thoday, K. L. 2005. Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blind, clinical study. *Vet. Derm.* 16: 162-170).
- **REEDY, L. M.; MILLER JR., W. H.; WILLEMSE, T.** 1997. Allergic Skin Diseases of Dogs and Cats. 2° Edition. Saunders. Philadelphia, USA. pp. 116-149 (citado por Griffin, C.E.; Hillier, A. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 363-383).
- **REJAS, J.; QUINTANA, G.; GOICOA, A.** 2004. Reflexiones de las conclusiones del grupo de trabajo sobre dermatitis atópica canina del Colegio Americano de Dermatología Veterinaria. *Consulta de Difusión Veterinaria.* 12: 69-76.
- **ROCKEY, J. H.; SCHWARTZMAN, R. M.** 1967. Skin sensitizing antibodies: a comparative study of canine and human PK and PCA antibodies and a canine myeloma protein. *J. Immunol.* 98: 1143-1151 (citado por Griffin, C. E.; DeBoer, D. J. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269).
- **ROMAGNANI, S.** 2006. Regulatory T cells: which role in the pathogenesis and treatment of allergic disorders. *Allergy.* 61: 3-14.

- **ROSSER, E. J.** 1998. Aqueous hyposensitization in the treatment of canine atopic dermatitis: a retrospective study of 100 cases. **In:** Kwochka, K. W.; Willemsse, T.; von Tscharner, C. *Advances in Veterinary Dermatology*, Vol. 3. Butterworths/Heinemann. Boston, USA. pp. 169-176.
- **SAEVIK, B. K.; BERGVALL, K.; HOLM, B.; SAIJONMAA-KOULUMIES L. E.; HEDHAMMAR A.; LARSEN, S.; KRISTENSEN, F.** 2004. A randomized controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet. Derm.* 15: 137-145.
- **SARIDOMICHELAKIS, M. N.; KOUTINAS, A. F.; GIOULEKAS, D.; LEONTIDIS, L.** 1999. Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 69: 61-73.
- **SCHICK, R. O.; FADOCK, V. A.** 1986. responses of atopic dogs to regional allergens: 286 cases (1981-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189: 1493-1496.
- **SCHWARTZMAN, R. M.; MATHIS, L.** 1997. Immunotherapy for canine atopic dermatitis: efficacy in 125 atopic dogs with vaccine formulation based on ELISA allergy testing. *J. Vet. Allergy Clin. Immunol.* 5: 144-152.
- **SCOTT, D. W.** 1981. Observations on canine atopy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 17: 91-100 (citado por Griffin, C. E.; DeBoer, D. J. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 255-269).
- **SCOTT, D. W.; PARADIS, M.** 1990. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: small animal clinic, University of Montreal, St. Hyacinthe, Quebec (1987-1988). *Can. Vet. J.* 31: 830-835.
- **SCOTT, K. V.; WHITE S. D.; ROSYCHUCK, R. A. W.** 1993. A retrospective study of hiposensitization in atopic dogs in a flea-scarce environment. **In:** Ihrke, P. J.; Mason, I. S.; White, S. D. *Advances in Veterinary Dermatology*, Vol. 2. Pergamon Press. New York, USA. pp. 79-87.

- **SCOTT, D. W.; MILLAR, JR., W. H.; GRIFFIN, C. E.** 1995. Immunologic Skin Disease. **In:** Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 5^o Edition. Saunders. Philadelphia, USA. pp. 484-626.
- **SHAW, S. C.; WOOD, J. L. N.; FREEMAN, J.; LITTLEWOOD, J. D.; HANNANT, D.** 2004. Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *Am. J. Vet. Res.* 65: 1014-1020.
- **SHIDA, M.; KADOYA, M.; PARK, S. J.** 2004. Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102: 19-31.
- **SINKE, J. D.; RUTTEN, V. P. M. G.; WILLEMSE, T.** 2002. Immune dysregulation in atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 351-356.
- **SPERGEL, J. M.; MIZOGUCHI, E.; OETGGEN, H.; BHAN, A. K.; GEHA, R. S.** 1999. Roles of Th1 and Th2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. *J. Clin. Invest.* 103: 1103-1111 (citado por Sinke, J. D.; Rutten, V. P. M. G.; Willemse, T. 2002. Immune dysregulation in atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 351-356).
- **SOUSA, C. A.** 1996. Dermatitis atópica. **In:** White, S. D. Clínicas Veterinarias de Norteamérica. Práctica en Pequeños Animales. Prurito. Inter-Médica. Buenos Aires, República Argentina. pp. 97-109.
- **SOUSA, C. A.; NORTON, A. L.** 1990. Advances in methodology for diagnosis of allergic skin disease. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.).* 20: 1419-1427.
- **STEFFAN, J.; ALEXANDER, D.; BROVEDANI, F.; FISCH, R.** 2003. Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomised, controlled trial. *Vet. Derm.* 14: 11-22.
- **TOUBI, E.; KESSEL, A.; BLANT, A.; GOLAN, T. D.** 1999. Follow-up after systemic adverse reactions of immunotherapy. *Allergy.* 54: 617-620.

- **VAN REE, R; THE CREATE PARTNERSHIP.** 2004. The create project: EU support for the improvement of allergen standardization in Europe. *Allergy*. 59: 571-574.
- **WILLEMSE, A.; VAN DEN BROM, W. E.** 1983. Investigations of the symptomatology and the significance of immediate skin test reactivity in canine atopic dermatitis. *Res. Vet. Sci.* 34: 261-265.
- **WILLEMSE, A.; VAN DEN BROM, W. E.; RIJNBERG, A.** 1984. Effect of hiposensitization on atopic dermatitis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184: 1277-1280.
- **WILLEMSE, A.; NOORDZIJ, A.** 1985. Induction of non IgE anaphylactic antibodies in dogs. *Clin. Exp. Immunol.* 59: 351-358 (citado por Scott, D. W.; Millar, Jr., W. H.; Griffin, C. E. 1995. *Immunologic Skin Disease*. **In**: Muller and Kirk's *Small Animal Dermatology*. 5^o Edition. Saunders. Philadelphia, USA. pp. 484-626).
- **WILLEMSE, T.** 1986. Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J. Small Anim. Pract.* 27: 771-778.
- **WITTICH, F. W.** 1941. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animals. Seasonal hay fever (fall type) in a dog. *J. Allergy*. 12: 247-251 (citado por Griffin, C.E.; Hillier, A. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): Allergen-specific immunotherapy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 81: 363-383).
- **ZUR, G.; IHRKE, P. J.; WHITE, S. D.** 2002. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part 1. Clinical features and allergy testing results. *Vet. Derm.* 13: 89-102.

ANEXO 1

ANEXO 2

EVALUACIÓN INMUNOTERAPIA

Nombre del paciente:

Fecha de evaluación:

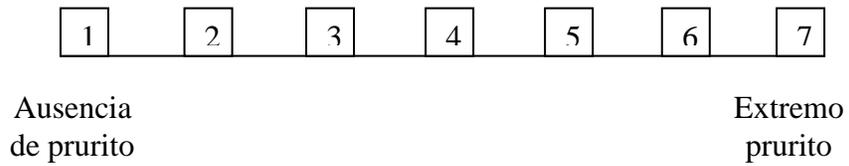
1. Evalúe con nota de 1 a 7 (siendo 1 pésimo y 7 excelente) a la sensación de bienestar que usted percibe en su mascota en relación con la ausencia de prurito (picazón).

2. En comparación a la última evaluación, usted considera que:
 - a. El prurito ha aumentado
 - b. El prurito ha disminuido
 - c. El prurito es similar

3. ¿Cuánto considera usted que ha disminuido el prurito aproximadamente?
 - a. 100%
 - b. 75%
 - c. 50%
 - d. 25%
 - e. 0%

4. ¿Considera usted que los primeros días de recibida la inyección de inmunoterapia, aumenta el prurito en su mascota?

5. Ubique a su mascota en la siguiente escala de acuerdo a su percepción de existencia de prurito.



6. Desde la última evaluación ¿Ha habido algún cambio en el pelaje y/o piel de su mascota?
- Ha mejorado
 - Ha empeorado
 - Permanece igual
 - Nunca tuvo mal aspecto
7. Desde la última evaluación ¿Ha habido algún cambio en el mal olor de su mascota?
- Ha disminuido
 - Ha aumentado
 - Permanece igual
 - Nunca tuvo mal olor

ANEXO 3:

Resultados de la prueba de intradermorreacción. Diámetro de la pápula expresado en milímetros.

| Paciente | Control (+) | <i>Derm. farinae</i> | Mezcla Pastos | Árboles I | Árboles II | Mosquito | Mezcla Hongos | Pulga | Mezcla Malezas | Control (-) | Situación |
|-----------------|--------------------|-----------------------------|----------------------|------------------|-------------------|-----------------|----------------------|--------------|-----------------------|--------------------|------------------|
| Willful | 12 | 18 | 18 | 12 | 0 | 0 | 18 | 0 | 0 | 0 | NAP |
| Nene | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 | 0 | 0 | NE |
| Tábata | 12 | 18 | 12 | 0 | 0 | 0 | 24 | 0 | 0 | 0 | C |
| Pulguita | 12 | 18 | 0 | 0 | 0 | 6 | 12 | 6 | 0 | 6 | IT |
| Tábata | 15 | 24 | 12 | 9 | 6 | 18 | 15 | 6 | 12 | 0 | IT |
| Teodoro | 15 | 15 | 9 | 9 | 9 | 9 | 15 | 6 | 12 | 9 | IT |
| Floyd | 12 | 21 | 6 | 6 | 0 | 6 | 15 | 6 | 9 | 0 | IT |
| Luna | 12 | 18 | 6 | 6 | 6 | 12 | 15 | 6 | 6 | 6 | C |
| Flo | 15 | 24 | 12 | 6 | 18 | 12 | 12 | 12 | 15 | 0 | IT* |
| Lucas | 12 | 12 | 18 | 18 | 21 | 12 | 12 | 6 | 18 | 0 | RA |
| Randy | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 12 | 18 | 12 | 18 | 12 | IT |
| Luna | 12 | 15 | 6 | 18 | 15 | 15 | 15 | 18 | 15 | 9 | C* |
| Era | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | (-) |
| Perla | 12 | 15 | 15 | 15 | 12 | 12 | 9 | 15 | 12 | 15 | (-) |
| Lili | 15 | 24 | 21 | 24 | 21 | 15 | 15 | 15 | 21 | 15 | C |
| Melody | 6 | 12 | 18 | 12 | 18 | 15 | 24 | 24 | 18 | 15 | NE |
| Tara | 30 | 24 | 24 | 18 | 18 | 24 | 18 | 18 | 18 | 18 | IT |
| Kita | 30 | 24 | 18 | 12 | 12 | 24 | 12 | 18 | 12 | 18 | IT |
| Ada | 30 | 24 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | IT |
| Buddy | 30 | 21 | 18 | 12 | 12 | 18 | 18 | 12 | 18 | 12 | NAP* |
| Matilda | 30 | 12 | 18 | 18 | 12 | 18 | 21 | 12 | 18 | 12 | (-) |
| Diana | 24 | 18 | 18 | 12 | 15 | 15 | 18 | 12 | 12 | 18 | (-) |
| Sava | 24 | 18 | 15 | 15 | 18 | 15 | 18 | 12 | 12 | 18 | (-) |
| Dana | 18 | 27 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 12 | 15 | 15 | IT |

| | | | | | | | | | | | |
|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------|
| Maca | 21 | 12 | 12 | 12 | 9 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | (-) |
| Rosita | 15 | 18 | 6 | 6 | 6 | 6 | 15 | 6 | 6 | 6 | NAP |
| Panda | 21 | 18 | 12 | 12 | 12 | 12 | 18 | 12 | 12 | 12 | C |
| Bruno | 21 | 15 | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | NAP |
| Bruni | 24 | 18 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | NAP* |
| Niña | 15 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | (-) |

NAP = paciente positivo a *D. farinae*, pero dueño no aceptó participar del estudio.

NE = paciente no evaluable, debido a que el control (+) presentó reacción muy leve.

(-) = paciente negativo a *D. farinae*.

C = paciente positivo ingresado al grupo control.

IT = paciente positivo ingresado al grupo tratado con inmunoterapia.

RA = paciente positivo que presentó reacción anafiláctica grave durante la prueba de intradermorreacción, por lo que no pudo ingresar al estudio.

* = paciente que cursó con angioedema facial durante la prueba de intradermorreacción.

ANEXO 4

Número y porcentaje de pacientes positivos a los diferentes alérgenos de la prueba de intradermorreacción.

| Alergeno | Número | Porcentaje % |
|---------------------------------|---------------|---------------------|
| <i>Dermatophagoides farinae</i> | 21 | 75 |
| Mezcla de hongos | 16 | 57,1 |
| Mezcla de pastos | 11 | 39,2 |
| Mosquito | 11 | 39,2 |
| Mezcla de árboles 1 | 9 | 32,1 |
| Mezcla de malezas | 9 | 32,1 |
| Mezcla de árboles 2 | 6 | 21,4 |
| Pulga | 5 | 17,8 |

