



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESTUDIO DE GRADOS DE ALERGIA A ÁCAROS DEL POLVO  
(*DERMATOPHAGOIDES FARINAE* Y *DERMATOPHAGOIDES*  
*PTERONYSSINUS*) MEDIANTE EL METODO "PRICK TEST" EN CANINOS  
APARENTEMENTE SANOS DE LAS RAZAS BOYERO DE BERNA, AKITA  
AMERICANO, LABRADOR RETRIEVER, GOLDEN RETRIEVER Y  
SCHNAUZER EN EL CENTRO CANINO "DE PATAS" EN EL SECTOR DE  
TUMBACO.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor Guía

MVZ Andrea del Carmen Cevallos Jarro Mg. S.

Autora

Andrea Estefanía Gálvez Grijalva

Año

2016

### **DECLARACION DEL PROFESOR GUIA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

---

MVZ Andrea del Carmen Cevallos Jarro Mg. S.

C.I. 1104471766

### **DECLARACION DEL PROFESOR CORRECTOR**

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

---

MVZ Carolina Susana Bracho Villavicencio  
C.I. 1716754849

### **DECLARACION DE AUTORIA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

---

Andrea Estefanía Gálvez Grijalva  
C.I. 1716629165

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por estar a mi lado en todo momento, a mi familia por su apoyo incondicional, al Sr. Santiago Chuquín por permitirme realizar este trabajo en las instalaciones de su centro canino. A mi tutora la Dra. Andrea Cevallos por su tiempo y colaboración. A la Dra. Verónica Pareja por su asesoría y ayuda en mi capacitación.

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser mi mayor apoyo durante los momentos más difíciles.

## RESUMEN

El método Prick Test (SPT) es una prueba esencial in vivo basada en reproducir de manera local el proceso de hipersensibilidad tipo 1 a través de la inoculación de alérgenos seleccionados en la dermis del paciente, con el fin de establecer la sensibilidad en enfermedades alérgicas mediadas por IgE específicas. Como referencia se utilizaron controles positivos (histamina) y negativos (solución salina), realizando mediciones cada 5, 10 y 15 minutos, para apreciar la evolución de la reacción cutánea; usando 2 métodos de medición (cuantitativo y semicuantitativo).

El objetivo del estudio fue determinar los grados de alergia a los alérgenos de los 2 tipos principales de ácaros del polvo, en 26 caninos aparentemente sanos de las razas Boyero de Berna, Akita americano, Schnauzer, Labrador y Golden Retriever, en el centro canino "De Patas" ubicado en Tumbaco.

Se realizaron mediciones de los habones de histamina, y por medio del Test de Fisher se compararon ambos métodos determinando que la correlación entre ambos no fue constante y varió según tiempos y razas, por lo que se estableció que para una interpretación más objetiva se debe elegir previamente entre uno de los 2 y aplicarlo durante toda la prueba.

Del total de la muestra, 5 pacientes (19,23%) resultaron ser positivos, con (++) y (+++) grados de alergia, resaltando que 2 de ellos, Golden y Labrador eran razas con predisposición genética para enfermedades alérgicas, la raza restante fue Schnauzer. De acuerdo con las variables independientes establecidas: edad, sexo, alimentación y peso, no se pudo determinar su influencia al momento de manifestar o no la sensibilidad, por tener muestras reducidas y variadas en cada grupo; sin embargo el hábitat en el que los animales vivían cumplía con las condiciones de humedad para que los ácaros puedan reproducirse fácilmente.

Concluyéndose que esta prueba es útil en individuos con predisposición genética a alergia sin signos clínicos, características existentes en los canes estudiados. Es imprescindible que a este test no se lo tome como método de diagnóstico definitivo, sino como un apoyo que complemente la historia y signos clínicos del paciente.



## ABSTRACT

The Skin Prick Test (SPT) is an essential in vivo test based on reproducing in a local manner, the process of type 1 hypersensitivity across the inoculation of selected allergens in the dermis of the patient, with the end goal of establishing the sensitivity in allergic diseases mediated by specific IgE's. As a reference, positive (histamine) and negative (saline) controls were utilized, making measurements every 5, 10 and 15 minutes in order to appreciate the evolution of the skin reaction; using 2 methods of measurement (quantitative and semi-quantitative).

The objective of the conducted experiment was to determine the degree of allergy of the two principal types of dust mites, in 26 canines who were apparently healthy, of the breeds Bernese Mountain, American Akita, Schnauzer, Labrador and Golden Retriever in the canine center "De Patas", located in Tumbaco.

Measurements of the histamine wheals were made, and through the use of the Fisher Test, both methods were compared, determining that the correlation between them both were not constant and varied according to time and breed. Therefore, it was established that in order for a more objective interpretation to be made, one of the two methods must be previously selected and applied throughout the entirety of the test.

Out of the total sample, 5 patients (19,23%) resulted in being positive, with (++) and (+++) degrees of allergies, highlighting that 2 of them were Golden and Labrador Retriever, which were breeds with a genetic predisposition for allergic diseases, the remaining breed was Schnauzer. In accordance with the independent variables established: age, gender, nutrition and weight, it wasn't possible to determine their influence at the time of manifestation or absence of sensitivity, as a result of having a reduced and varied samples in each group. However, the habitat in which the animals lived met the conditions of humidity in order for the dust mites to reproduce with ease.

Concluding that this test is useful when there is a genetic predisposition to an allergy without clinical signs, since all the patients in this study were apparently healthy. It is essential that this test is not taken as a definitive diagnostic method, but as a support that complements the patient's history and clinical signs.

# ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Introducción .....	1
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Objetivo General .....	4
1.2.2 Objetivos específicos .....	4
1.3 Hipótesis.....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	5
2.1 Piel del perro .....	5
2.1.1 Epidermis.....	5
2.1.2 Dermis o corion.....	5
2.1.3 Hipodermis o subcutis.....	6
2.2 Sistema inmune de la piel (SIS).....	7
2.2.1 Respuesta inmune innata .....	9
2.2.2 Respuesta inmune adaptativa .....	10
2.3 Inmunoglobulinas .....	14
2.3.1 Inmunoglobulinas E .....	14
2.4 Hipersensibilidad tipo 1 .....	15
2.4.1 Inducción de la hipersensibilidad tipo 1 .....	15
2.5 Inmunopatogénesis de enfermedades alérgicas de piel en perros .....	16
2.5.2 Secuencia de eventos.....	19
2.6.1 Ácaros.....	21
2.7 Dermatitis alérgica por inhalantes .....	22
2.8 Métodos diagnósticos de alergia .....	25
2.8.1 Pruebas serológicas .....	25
2.8.2 Prueba de intradermorreacción .....	26
2.8.3 Skin Prick Test o test de Prick (SPT) .....	27
CAPÍTULO III. MATERIALES Y METODOS .....	29
3.1 Materiales.....	29

3.1.1	Material experimental.....	29
3.1.2	Materiales del campo.....	30
3.2	Metodología.....	31
3.2.1	Descripción del sitio experimental.....	31
3.2.2	Unidad experimental.....	32
3.3	Medición de resultados.....	35
3.3.1	Medición de grados de alergia.....	35
3.3.2	Interpretación de resultados positivos.....	36
3.3.3	Interpretación de resultados negativos.....	38
3.4	Método estadístico.....	38
3.4.1	Razón F de Fisher.....	39
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>		<b>40</b>
4.1	Distribución de individuos por raza.....	40
4.2	Análisis de las variables independientes por raza.....	40
4.3	Resultados positivos del Prick Test.....	46
4.3.1	Análisis de resultados positivos.....	47
4.4	Evaluación de la razón de Fisher aplicada en la medición del control de histamina en todas las razas.....	51
4.5	Discusión.....	53
4.5.1	Relación de las variables independientes y la raza.....	53
4.5.2	Incidencia de los grados de alergia con la raza y edad.....	54
4.5.3	Análisis de los 2 métodos de medición: cuantitativo y semicuantitativo.....	55
4.5.4	Evaluación de la interpretación de resultados.....	55
4.5.5	Evaluación de la utilidad de la prueba Prick Test.....	56
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>57</b>
5.1	Conclusiones.....	57
5.2	Recomendaciones.....	59

REFERENCIAS .....	61
ANEXOS .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferenciación cutánea.....	7
Figura 2. Estructura de la piel del perro..	7
Figura 3. Características básicas de la respuesta inmune innata y adaptativa.....	8
Figura 4. Tinción inmunohistoquímica para filagrinas y polifilagrinas. a. En un perro sano notar discretos gránulos de keratohialina e intensa tinción. b. En un perro atópico los gránulos son más pequeños y hay menor tinción.....	18
Figura 5. Esquema simplificado describiendo la adquisición de la sensibilidad y el desarrollo de la inflamación en DAC. ....	20
Figura 6. Muestra de polvo casera que contiene un ácaro de la especie D. farinae. ....	22
Figura 7. Imágenes clínicas de DAC. a. Lesiones agudas consistentes a máculas eritematosas en las áreas más comunes: hocico. b. área periocular. c. conjuntiva. d. áreas interdigitales ventral y dorsal. ....	24
Figura 8. Dermatitis atópica donde el prurito ha provocado excoriaciones y alopecia autotraumática en el dorso de la pata delantera en un bull terrier. ....	24
Figura 9. Introducción de la aguja durante técnica de intradermorreacción. ....	26
Figura 10. Aplicación del Test de Prick. ....	27
Figura 11. Concentrados de alérgenos para Prick Test y control positivo de histamina.....	29
Figura 12. Materiales para la realización del Prick Test.....	30
Figura 13. Inserción de lanceta de metal en el Prick Test.....	34
Figura 14. Aplicación de los alérgenos durante el Prick Test.....	35
Figura 15. Distribución gráfica del número total de pacientes.....	40
Figura 16. Distribución gráfica de los resultados positivos por raza para cada alérgeno.....	47

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Funciones básicas de las citoquinas tipo TH1 y TH2 .....	11
Tabla 2. Criterios de Favrot para DAC .....	23
Tabla 3. Ubicación geográfica del área de influencia .....	31
Tabla 4. Características climáticas del área de influencia .....	31
Tabla 5. Interpretación de resultados positivos por el método de Gradación ...	37
Tabla 6. Interpretación de resultados positivos por la relación entre milímetros de habones de alérgenos/sensibilidad del paciente .....	38
Tabla 7. Datos individuales de la raza Schnauzer (S) .....	41
Tabla 8. Datos individuales de la raza Golden Retriever (G) .....	42
Tabla 9. Datos individuales de la raza Labrador Retriever (L).....	43
Tabla 10. Datos individuales de la raza Akita Americano (A) .....	44
Tabla 11. Datos individuales de la raza Boyero de Berna (B) .....	45
Tabla 12. Resultados positivos en todas las razas	46
Tabla 13. Resultados en la raza Schnauzer.....	48
Tabla 14 Resultados en la raza Golden Retriever.....	49
Tabla 15 Resultados en la raza Labrador Retriever	50
Tabla 16. Clasificación de resultados generales positivos .....	51
Tabla 17. Resumen comparativo general de resultados $F_{Prueba}$ y $F_{Tabla}$ para el control de histamina en todas las razas y tiempos .....	52

## **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Introducción**

La hipersensibilidad en medicina veterinaria se define como el conjunto de signos clínicos reproducibles iniciados luego de la exposición a un estímulo determinado en una dosis tolerada por perros normales (Halliwell, 2006, citado por Halliwell, 2009, p. 213).

En un estudio sobre incidencia de enfermedades dermatológicas realizado en Reino Unido, menciona que estas abarcan el 24% de los casos que se presentan fuera de la rutina para tratamiento en clínica veterinaria (Hill et al., 2006, citado por Halliwell, 2009, p. 210), y que la piel fue el órgano que se afecta con mayor frecuencia en la población general de pacientes (Chamberlain, 1974, citado por Halliwell, 2009, p. 210).

La dermatitis atópica canina o DAC es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica que se da en los primeros años de vida de individuos genéticamente predispuestos (Halliwell, 2009, p. 213); esta patología presenta rasgos clínicos característicos asociados con anticuerpos IgE dirigidos usualmente a alérgenos ambientales (Halliwell, 2009, p. 213). En el artículo del 2007, hecho por R. Mueller sobre actualizaciones en su diagnóstico y tratamiento, se recalca que es frecuentemente desencadenada por aeroalérgenos como los ácaros del polvo, los cuales si son presentados ante un animal no atópico este no manifestará ningún signo clínico (Nolasco et al., 2005, p.3), entre estos el prurito intenso, excoriaciones y alopecia (Gross et al., 2005, p.203).

Se considera que la atopia afecta al 10% de la población canina en grados variables (Nolasco et al., 2005, p.2); es por esto que una pronta detección de algún nivel de alergia alertará al propietario para que tome las medidas preventivas y que su mascota disminuya la exposición a los alérgenos que le causen este tipo de reacciones, incluyendo la hiposensibilización como



principal vía de terapia (Nolasco et al., 2005, p.2), usando pruebas como la serología, intradermorreacción y actualmente el Prick Test (SPT), para determinar que alérgenos usar.

La intradermorreacción es el método diagnóstico más común para demostrar la presencia de anticuerpos específicos de alérgenos (Foster y Foil, 2008, p.35); esta consiste en inyectar el alérgeno hasta la zona intradérmica lo cual produce dolor, por lo que requiere una sedación previa y por ende un riesgo.

Blackley, 1873 a finales del siglo XIX, introdujo la técnica Prick Test; mientras que el primer estudio con este método lo realizó Helmtraud Ebruster en 1959 (Ebruster, 1959, citado por Heinzerling et al., 2013, p.1), sin embargo no fue hasta el año 1975 cuando Pepys modificó el procedimiento y generalizó su uso. En la actualidad es ampliamente aplicado en medicina humana, sin embargo es poco usado en veterinaria, a pesar de ser esencial para confirmar la sensibilidad en enfermedades alérgicas Tipo 1 mediadas por IgE. Destacándose por ser mínimamente invasivo, económico y con resultados inmediatos (Heinzerling et al., 2013, p.1); además de poseer una sensibilidad de 70 a 95% y especificidad de 80 a 97% para el diagnóstico de alérgenos inhalantes (Demoly et al. 2003, citado por Heinzerling et al., 2013, p.6).

En el año 2013 en Lisboa, Portugal se registró el primer reporte de uso de Prick Test en caballos con obstrucciones recurrentes de vías aéreas (RAO), usando 16 aeroalérgenos relevantes y comunes incluidos los ácaros; se estudiaron 36 animales con RAO y 10 sanos como grupo de control, tomando en cuenta su historia médica y examinación física; apoyándose en radiografías torácicas, endoscopía del tracto respiratorio y citología del lavado bronquioalveolar. Como resultado, todos los caballos con RAO salieron positivos para 5 aeroalérgenos, 4 caballos del grupo control fueron negativos para todos y los 6 restantes fueron negativos a 1 de los 3 aeroalérgenos pero con menor reactividad, con diámetros del 30-50% en relación a los habones de histamina, en contraste al 30-127% en resultados positivos de caballos con RAO.

Concluyendo que el SPT es valioso para identificar potenciales amenazas que produzcan alergia y poder reducir la carga de alérgenos. Considerando que este método podría ser un paso para establecer medidas exitosas de prevención, y una inmunoterapia específica (Botelho et al., 2013, p. 1).

En otro estudio con ácaros del polvo en beagles sensibilizados, se determinó que tanto la ruta inhalatoria, respiratoria y oral son relevantes para desencadenar una dermatitis, pero la vía epicutánea parece ser la más importante (Marsella et al., 2006, citado por Miller et al., 2013, p.369). Está probado que el contacto con el alérgeno en las primeras etapas de vida es decisivo para desarrollar niveles sustanciosos de IgE, igual que el desarrollo de respuestas IgE a alérgenos que se presenten más tarde en la vida del animal (Miller et al., 2013, p.369).

En el presente estudio se planteó usar el Prick Test con los alérgenos de los 2 tipos principales de ácaros del polvo *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus* en 5 razas seleccionadas con el fin de determinar sus posibles grados de alergia, así como también dar relevancia a este método poco conocido y aplicado en el campo de la veterinaria; tomando en cuenta 2 tipos de métodos: cuantitativo (C) y semicuantitativo (Sc), para medir las reacciones resultantes, que fueron comparadas y analizadas, estableciendo la más óptima para calcular la relación entre los controles (positivos y negativos) y los 2 alérgenos usados. Igualmente se planteó definir si existe relación entre la raza y edad con respecto a los resultados obtenidos, ya que en el estudio realizado por Nodtvedt et al., 2007, se concluyó que para presentar DAC no existe influencia del género, estación de nacimiento, vacunación, o programa de desparasitación.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo General

Determinar el grado de alergia a ácaros del polvo mediante el método "Prick Test" en caninos aparentemente sanos de las razas Boyero de Berna, Akita americano, Labrador Retriever, Golden Retriever y Schnauzer en el centro canino "De Patas" en el sector de Tumbaco.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Clasificar los grados de reacciones alérgicas ante la exposición de cada uno los alérgenos de *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus* en caninos sanos de las razas Boyero de Berna, Akita americano, Labrador Retriever, Golden Retriever y Schnauzer.
- Determinar la incidencia de alergia a ácaros de polvo *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus* de acuerdo a raza y edad de la muestra en estudio.
- Determinar la utilidad de la prueba "Prick Test" como método preventivo y diagnóstico en razas predisponentes genéticamente o que presenten signos cutáneos de alergia.

## 1.3 Hipótesis

La hipótesis de esta investigación fue la siguiente:

**H1:** La prueba "Prick Test" que utiliza alérgenos de las especies de ácaros del polvo *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus* permite identificar el grado de alergia en pacientes caninos de las razas Boyero de Berna, Akita americano, Labrador Retriever, Golden Retriever y Schnauzer en el centro canino "De Patas" en el sector de Tumbaco.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Piel del perro**

#### **2.1.1 Epidermis**

Histológicamente es la capa más externa de la piel y actúa como primera barrera de protección ante agentes externos; está compuesta por múltiples capas de células que se definen por su posición, tamaño, polaridad, morfología y estado de diferenciación de los queratinocitos. En su conformación posee 4 tipos de células:

- Queratinocitos: 85%
- Melanocitos: 5%
- Células de Langhermans: 3-8%
- Células Merkel: 2%, asociadas con la sensación táctil

Para identificar se nombran las capas desde las más internas hacia las externas:

- Capa o estrato basal, espinosa, granular, traslucido y córneo (Figura 1)

En general la epidermis de perros y gatos es delgada, posee 2 o 3 capas de células nucleadas, sin incluir al estrato córneo; en piel con pelaje el rango varía entre 0,1 a 0,5 mm. Las áreas con mayor grosor son las almohadillas plantares y el plano nasal donde llega a medir hasta 1,5mm (Miller et al., 2013, p.8).

#### **2.1.2 Dermis o corion**

Es parte integral del sistema de tejido conectivo del cuerpo y está formada por células, membrana basal y fibras:

- a) No solubles: colágeno y elastina, encargadas de resistir las fuerzas de tensión y estrés del movimiento.
- b) Polímeros solubles: proteoglicanos y ácido hialurónico, estos resisten o disipan las fuerzas de compresión y mantienen la integridad.

Además tiene apéndices de la epidermis, músculos de erección pilórica, nervios, vasos linfáticos y sanguíneos (Figura 2). En áreas de piel con pelaje abundante la dermis es más gruesa y profunda, mientras que la epidermis es delgada; en piel muy delgada el grosor de la dermis también disminuye (Miller et al., 2013, p.20).

### **2.1.3 Hipodermis o subcutis**

Es la capa más profunda y gruesa de la piel; por razones funcionales no se encuentra en áreas como labios, mejillas, párpados, orejas o ano, donde la dermis está en contacto directo con la musculatura y las fascias.

Está constituida por tejido conjuntivo laxo y adiposo, sus bandas fibrosas que se continúan con las estructuras fibrosas de la dermis penetran en la grasa subcutánea y crean lóbulos de adipocitos, formando uniones de la piel con los componentes de las fibras esqueléticas subyacentes como las láminas de fascia o el periostio (Miller et al., 2013, p.36).

La porción superficial de la hipodermis se proyecta en la dermis subyacente como papilas adiposas que rodean folículos pilosos, glándulas sudoríparas y vascularización para ayudar a proteger estas estructuras de la presión interna. Está compuesta en su 90% de triglicéridos, cuyas funciones van desde la reserva de energía, termogénesis, aislamiento, mantenimiento de contornos de la superficie cutánea, producción de estrógenos hasta ser reservorio y sitio de metabolismo de esteroides.

El grosor de la hipodermis es inversamente proporcional al flujo sanguíneo; con circulación lenta se promueve la lipogénesis y con circulación rápida la lipólisis (Miller et al., 2013, p.36).

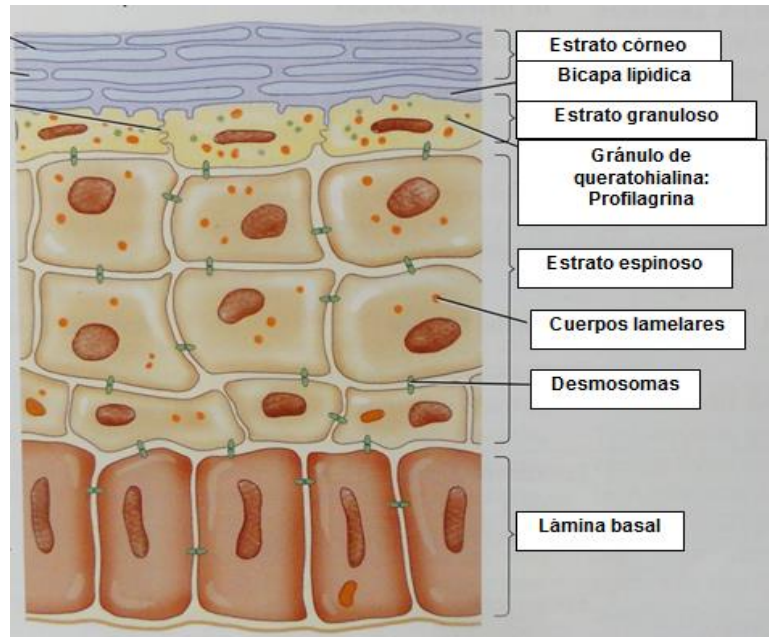


Figura 1. Diferenciación cutánea. Tomado de Miller et al., 2013, p.9.

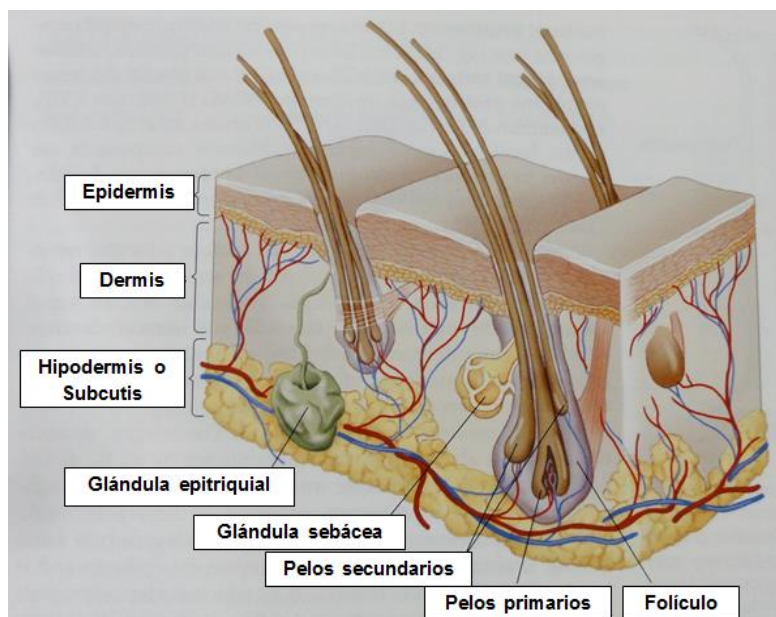


Figura 2. Estructura de la piel del perro. Tomado de Miller et al., 2013, p.9.

## 2.2 Sistema inmune de la piel (SIS)

El SIS es un componente del sistema inmune general y ayuda a que el organismo se defienda de los diversos ataques ambientales que bombardean constantemente la piel de los animales, incluyendo parásitos, bacterias, hongos, virus y alérgenos de los cuales cualquiera puede desencadenar

respuestas inmunes indeseables. Aunque el SIS debería proveer protección, este en ocasiones puede ser inefectivo o incluso perjudicial; como en el caso de la atopia canina donde se encuentra alterado facilitando la entrada de agentes causantes de alergia (Miller et al., 2013, pp.36-38).

La ecología cutánea posee 3 componentes de defensa:

- a) Físicos: pelaje que previene el contacto de patógenos con la piel y minimiza las agresiones externas, aunque puede ser reservorio de microorganismos; estrato corneo por su grosor y células queratinizadas permeables por la emulsión de sebo, sudor y lípidos epidérmicos presentes en su capa externa.
- b) Químicos: la emulsión de sebo, sudor y lípidos, posee propiedades químicas.
- c) Microbianos: sustancias hidrosolubles como sales y proteínas que inhiben microorganismos (Miller et al., 2013, p.47).

El sistema inmune se divide en 2 tipos de respuestas inmunes: innata y adaptativa (Figura 3).

#### RESPUESTA INMUNE INNATA

Sustancia nociva  
↓  
Bloqueo o ataque

#### RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

Antígenos y su reconocimiento  
↓  
Presentación de antígenos  
↓  
Activación de Linfocitos T  
↓  
Activación de Linfocitos B  
↓  
Producción de anticuerpos  
↓  
Inmunidad o inflamación

*Figura 3.* Características básicas de la respuesta inmune innata y adaptativa. Tomado de Miller et al., 2013, p.38.

### 2.2.1 Respuesta inmune innata

Incluye las barreras físicas como la piel, sustancias protectoras (moco, enzimas), proteínas solubles, células fagocíticas (macrófagos, neutrófilos, eosinófilos). Esta se apoya en estrategias como bloquear la entrada de sustancias dañinas o las ataca si estas logran pasar la barrera cutánea, la cual cuenta con la epidermis como primer mecanismo de defensa externo.

La capa protectora principal es el estrato corneo, por sus capas sobrepuestas de corneocitos separadas por lípidos, dando una barrera física difícil de penetrar. Igualmente la descamación continua hace que microbios y alérgenos no puedan entrar al organismo, desafortunadamente ácaros y pulgas son capaces de sobrevivir en la superficie cutánea y pueden penetrarla para alimentarse.

Varios procesos patológicos pueden afectar la fisiología de la epidermis alterando su permeabilidad y mecanismos de defensa, provocando piodermas secundarias; por ejemplo, los *Staphylococcus spp.* han desarrollado mecanismos eficientes para adherirse a la piel en especial si está lesionada, dando lugar a una infección; las bacterias en su caso tienen "adhesinas" (Miller et al., 2013, pp.36-38).

En animales con predisposición genética, los mecanismos de defensa innata son inefectivos para combatir los alérgenos que entran en contacto con la piel, y la epidermis parece estar incapacitada para prevenir la entrada de estas proteínas al sistema inmune cutáneo. También hay evidencia preliminar de que la función de la barrera epidérmica es reducida en dermatitis atópica aumentando la posibilidad de que ingresen alérgenos (Miller et al., 2013, p.39).



### 2.2.2 Respuesta inmune adaptativa

Tiende a ser continua además de altamente específica y con gran memoria. Su importancia radica en que muchas enfermedades requieren su respuesta para resolverse, algunas son causadas por anomalías o fallas en la misma. Se activa como respuesta a un antígeno y eventualmente en la producción de anticuerpos y linfocitos antígeno-específicos (Miller et al., 2013, p.38).

- Antígenos y su reconocimiento:

Son los que desencadenan cualquier respuesta inmune, la cual si es por parte de las IgE toman el nombre de alérgenos y cuando están envueltos en enfermedades autoinmunes se llaman autoantígenos; para que esta ocurra se debe identificar primero al antígeno. Para hacerlo el cuerpo utiliza 2 tipos de receptores de:

- a) Anticuerpos: en la superficie de los linfocitos B reconocen al antígeno en su forma tridimensional, detectando una parte de la molécula de proteína que sea altamente inmunogénica y que se encuentre por fuera. Estas secciones de antígenos se conocen como epítopos inmunodominantes.
- b) Linfocitos T: estos no pueden reconocer la proteína en su forma real, por lo que todo el antígeno debe ser procesado por una célula presentadora de antígeno en donde la proteína es desglosada en péptidos por varias enzimas como la cathepsina E.

La respuesta inmune adaptativa es posible por la gran diversidad de receptores de linfocitos T y B que se generan por reordenamientos genéticos. Conforme se forma cada linfocito se expresa un único receptor capaz de reconocer un diferente epítipo antigénico. Ambos receptores se forman en etapas tempranas de la vida para todas las potenciales proteínas sin que estas se hayan presentado previamente; esto significa que el cuerpo tiene la capacidad de responder a cualquier nueva proteína que se le presente después.

Se han identificado 3 categorías:

- Antígenos de parásitos u otros agentes infecciosos.
- Alérgenos capaces de desencadenar una reacción inflamatoria.
- Autoantígenos que son tomados como objetivo en enfermedades autoinmunes.

- Activación de linfocitos T:

Son el siguiente paso en el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Para que se active un linfocito T se necesitan señales secundarias, si estas no ocurren no hay respuesta y el hospedador se vuelve tolerante al antígeno, es decir en estado de anergia.

En general los linfocitos T en un inicio son TH0 (T Helper cell o célula T ayudante), aunque luego pueden convertirse en TH1 y TH2 dependiendo de las señales que reciba de las células presentadoras del antígeno (Tabla 1). El tipo de respuesta inflamatoria se cree es dependiente de la función de varias citoquinas secretadas. (Miller et al., 2013, p.45)

Tabla 1

*Funciones básicas de las citoquinas tipo TH1 y TH2*

TIPO DE LINFOCITO T AYUDANTE	CITOQUINA	FUNCION BASICA	RESULTADO FINAL
TH1	IL-2	Proliferación de linfocitos T	Infiltración de linfocitos T alérgeno-específicos en sitios de inflamación
	IFN- $\gamma$	Activación de macrófagos Inhibiendo la liberación de citoquinas TH2	Promueve la respuesta de TH1
	IL-3	Factor de crecimiento de mastocitos y basófilos	Aumento del número de mastocitos y basófilos
TH2	IL-4	Provoca que los linfocitos B cambien la síntesis de anticuerpos de IgG a IgE	Inflamación tipo alérgica
	IL-5	Estimulan proliferación de eosinófilos y secreción de IgA	Aumento del número de eosinófilos
	IL-6	Citoquina general de proinflamación	Activación de todas las células inflamatorias
	IL-10	Inhibición de secreción de IL-2	Promueve respuesta de las TH2

Tomado de Miller et al., 2013, p.45.

En general la respuesta de TH1 está orientada a promover la inmunidad mediada por células y la producción de IgG por los linfocitos B; mientras que la respuesta de TH2 promueve la producción de IgE y las respuestas alérgicas. Últimamente la producción de citoquinas por parte de los linfocitos TH1 y TH2 ha generado gran interés por su posible relación con el desarrollo de reacciones alérgicas a alérgenos ambientales (Miller et al., 2013, p.45).

Lesiones atópicas durante la fase inicial, se deben a la activación del subconjunto de linfocitos TH2, seguido por el subconjunto de linfocitos TH1, causantes de la persistencia de la respuesta inflamatoria. La expresión de las citoquinas TH1 y TH2 no es mutuamente exclusiva, por lo que se cree que los subconjuntos de ambas contribuyen a la patogénesis de la enfermedad (Miller et al., 2013, p.46).

- Activación de linfocitos B y producción de anticuerpos:

Los linfocitos T pueden iniciar la inflamación por sí mismos mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias; sin embargo, en muchas situaciones sí se requiere de una respuesta por parte de los anticuerpos para ayudar a eliminar microorganismos o neutralizar toxinas. La activación de linfocitos B es requerida para la síntesis de anticuerpos y se lo puede conseguir de diversas maneras:

- a) Luego del contacto directo con antígenos, las IgM e IgD en la superficie de estos, pueden reconocerlos y estimular la producción de células y más anticuerpos.
- b) Si los antígenos son reconocidos en conjunto.
- c) Algunos linfocitos B como los B1 están preprogramados para producir IgM en contra de polisacáridos bacterianos y lípidos comunes.
- d) Pueden ser estimulados por la interacción con las TH1; en este caso los linfocitos B actúan como presentadores de antígeno.

El antígeno es interiorizado por el linfocito B, luego procesado y presentado a los linfocitos T mediante la molécula clase 2 del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) el cual es una familia de genes.

El linfocito T en respuesta, secreta citoquinas que en conjunto con las señales secundarias activan y estimulan a los linfocitos B para producir anticuerpos que ayudan a combatir agentes infecciosos, ya sea neutralizando antígenos, virus y toxinas, opsonizando organismos con la unión de receptores Fc a células fagocíticas, iniciando fagocitosis, formando inmunocomplejos o iniciando una infiltración inflamatoria celular y lisis de paredes bacterianas.

Cuando están en la superficie de los linfocitos B pueden activar la célula y provocar que esta prolifere y comience a producir más anticuerpos, además de presentar antígenos a los linfocitos T y estimular una respuesta de ayuda (Miller et al., 2013, p.46).

Las respuestas de los anticuerpos a varios agentes infecciosos, alérgenos y autoantígenos se han registrado ampliamente en perros y gatos con enfermedades dermatológicas. Anticuerpos IgG y/o IgE han sido demostrados para antígenos de *Malassezia spp.* y proteínas de *Staphylococcus spp.* y *D. farinae*; aunque estas respuestas se suponen son de protección, pueden desencadenar en reacciones de hipersensibilidad y enfermedad autoinmune (Miller et al., 2013, p. 47).

La formación de anticuerpos puede involucrar varios factores como:

- a) Genéticos: codificación de genes para la MHC, citoquinas y factores reguladores de las células.
- b) Infecciosos: pueden desencadenar una enfermedad autoinmune.
- c) Ambientales: exposición a luz UV.
- d) Hormonales: algunas enfermedades tienen predisposición de sexo (Miller et al., 2013, p. 47).

- Inflamación e inmunidad:

La inflamación se caracteriza por el reclutamiento de leucocitos y proteínas del plasma dentro de tejidos donde han sido activados. Sus signos característicos son: enrojecimiento, tumor, calor, dolor y pérdida de la función; tiene como objetivo eliminar sustancias nocivas o microorganismos, y establecer un estado de inmunidad, si estos mecanismos llegan a ser inefectivos pueden causar una inflamación perjudicial, llevando al uso de drogas inmunomoduladoras para eliminar las fuentes de antígenos y tratar enfermedades cutáneas alérgicas o autoinmunes (Miller et al., 2013, p.47).

## **2.3 Inmunoglobulinas**

Son moléculas de anticuerpos constituidas por glucoproteínas. Este término se lo aplica a todos los BCR (receptores antigénicos de linfocitos B) solubles. Hay 5 diferentes clases o isotopos de inmunoglobulinas y BCR que difieren en el uso que hacen de las cadenas pesadas. La más abundante en suero es la IgG, seguida por la IgM presente en la mayoría de mamíferos, IgA predominante en secreciones como saliva, leche y líquido intestinal, IgD poco común en líquidos corporales y no existe en todos los mamíferos, y la IgE con baja concentración en suero pero con gran importancia al momento de mediar reacciones alérgicas (Tizard, 2000, p.150).

En la piel normal de perros y gatos se encuentran IgG e IgM entre los espacios intersticiales de la dermis, en vasos sanguíneos y papilas del pelo (Miller et al., 2013, p.47).

### **2.3.1 Inmunoglobulinas E**

Al igual que las IgA son producidas principalmente por células plasmáticas bajo las superficies corporales. Es una inmunoglobulina típica, de 4 cadenas en forma de Y, con 4 dominios constantes en sus cadenas pesadas de epsilon y peso molecular de 190 kDa. Al tener una concentración sérica muy baja, no

solo se une a los antígenos y los recubre como el resto, sino que actúa como una molécula de transducción de señales (Tizard, 2000, p. 153).

Normalmente existen moléculas de IgE unidas a receptores de mastocitos y basófilos (FcεRI). Cuando el antígeno se une a estas moléculas, provoca que las células liberen sustancias inflamatorias con prontitud, obteniendo una inflamación aguda que aumenta las defensas locales y ayuda a eliminar al invasor. Las IgE median las reacciones de hipersensibilidad tipo 1, y son encargadas de la inmunidad a gusanos parásitos invasores. Libre en el suero tiene una vida breve de 2 a 3 días en relación a las otras, y se desnaturaliza fácilmente mediante calentamiento leve (Tizard, 2000, p. 154).

## **2.4 Hipersensibilidad tipo 1**

Son las reacciones inflamatorias agudas mediadas por IgE unidas a mastocitos y basófilos; se deben a la liberación de moléculas activadas por dichas células. Estas tienen al menos 2 funciones biológicas importantes: inflamación aguda con el fin de eliminar antígenos y la resistencia a parásitos. La reacción de hipersensibilidad es inmediata, ya que se desarrolla después de la exposición al antígeno, denominándose alergia. Los antígenos que la estimulan son los alérgenos; cuando es sistémica e intensa se denomina anafilaxia, y no es regulada por vía inmunitaria (Tizard, 2000, p.332).

### **2.4.1 Inducción de la hipersensibilidad tipo 1**

Al estar mediada por IgE, provoca que los antígenos que inducen la síntesis de anticuerpos de IgE lleguen a través de las mucosas o la piel. Entre estos antígenos se incluyen proteínas de parásitos e insectos.

Los antígenos son captados por células dendríticas intraepiteliales (DC2), estas emigran a ganglios linfáticos cercanos donde el antígeno es presentado a los linfocitos T, de modo que estos se activan y se pide ayuda de linfocitos TH2

para producir IgE en los linfocitos B. La piel reconoce bien esta vía de sensibilización; esto también puede pasar en vías respiratoria o gastrointestinal.

La capacidad de un animal para formar IgE contra antígenos parasitarios es una señal de que esta inmunoglobulina se desarrolló de manera específica para combatirlos; siendo una hipersensibilidad tipo 1 beneficiosa. Sin embargo una reacción inapropiada de IgE puede causar problemas clínicos relevantes, ya que algunos individuos producen IgE de manera constante y excesiva; esta alteración toma el nombre de atopia, cuya genética es compleja y depende de la interacción de múltiples genes y factores ambientales. Si ambos padres son atópicos la mayor parte de su descendencia también lo será; mientras que si es solo uno de los padres el porcentaje varía (Tizard, 2000, pp. 332-333).

## **2.5 Inmunopatogénesis de enfermedades alérgicas de piel en perros**

### **2.5.1 Categorización de la dermatitis atópica canina (DAC)**

Es una enfermedad que puede ser categorizada bajo 3 pilares:

a) Defectos en el sistema inmune innato:

-Existen receptores que reconocen patógenos mediante patrones moleculares (PAMP's), y también hay receptores "Toll-like" (TLR's) que se expresan por células presentadoras de antígenos, mastocitos, neutrófilos y queratinocitos. Una deficiencia en estos provoca que la piel sea más susceptible a infecciones.

-Por histopatología se registró una notable escasez neutrófilos.

-Los péptidos antimicrobianos (AMP's) provenientes de queratinocitos, neutrófilos, sebocitos y células de glándulas sudoríparas, usualmente están en niveles bajos o imperceptibles, pero en fase de manifestación se incrementan y poseen una amplia actividad antimicrobiana (Halliwell, 2009, pp. 213-214).

b) Mal funcionamiento de la barrera:

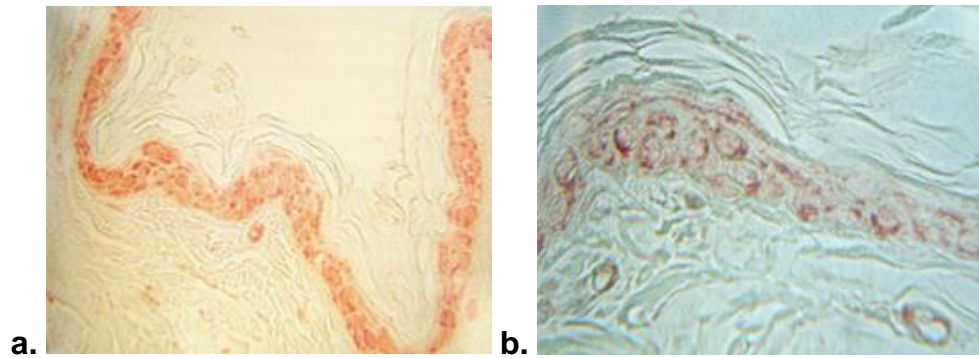
-La función de la barrera siempre se encuentra en 2 niveles:

1. Estrato corneo compuesto por corneocitos y rodeado de una matriz lipídica.
2. Estrecha unión del estrato granuloso (Halliwell, 2009, p. 214).

Tanto en humanos como en animales con dermatitis atópica se ha documentado una discontinuidad en la barrera de la piel. En perros atópicos, estudios morfológicos con un microscopio de electrones de tetróxido de rutenio sugirió un defecto en la barrera lipídica epidérmica, e indicó que está descontinuada en piel atópica sin lesiones. Por otra parte, las laminillas lipídicas intercelulares presentaron defectos estructurales en el estrato corneo, y una disminución en la cantidad de ceramidas como menciona Miller et al., 2013, p.366. La piel con DAC contiene lípidos en forma de gotas, en lugar de estar dispersos para rellenar los espacios intercelulares (Inman et al., 2011 y Marsella et al., 2009, citado por Halliwell, 2009, p.214).

Estudios experimentales en Beagles con atopia, establecieron que estos tenían una cantidad significativamente menor de filagrina, proteína en el interior de la célula que se sintetiza durante la cornificación de la piel, y que la exposición a los ácaros del polvo casero modulan su expresión (Marsella et al. 2008, citado por Miller et al., 2013, p.366). Morfológicamente su tinción era diferente entre grupos: las muestras atópicas tenían gránulos muy finos con tinción muy leve, mientras que los grupos de control mostraron gránulos discretos pero con una intensa tinción (Miller et al., 2013 p. 366) (Figura 4).





*Figura 4.* Tinción inmunohistoquímica para filaggrinas y polifilaggrinas. a. En un perro sano notar discretos gránulos de keratohialina e intensa tinción. b. En un perro atópico los gránulos son más pequeños y hay menor tinción. Tomado de Miller et al., 2013, p.367.

Estudios en un modelo experimental de DAC indicaron que la TEWL (perdida de agua transepidérmica) se incrementa en perros con sensibilidad cuya barrera esta discontinua, particularmente en sitios atópicos, incluso sin lesiones (Hightower et al. 2008, citado por Miller et al., 2013, p.366). También se encontraron defectos ultra estructurales en el estrato corneo y en la unión con el estrato granuloso; cabe recalcar que estas anomalías se encontraron antes de la exposición a los alérgenos (Miller et al., 2013, p.366).

Evidencias sugieren que las células de Langerhans también juegan un papel importante en el procesamiento y presentación de antígenos. Biopsias cutáneas de perros atópicos muestran una proliferación de estas y mayor manifestación de IgE en tejidos lesionados (Gross et al., 2005, pp.200-201).

c) Defectos en la inmunidad adquirida:

Existen aberraciones inmunológicas aunque no se ha comprobado si tienen un rol primario o son consecuencia de otros defectos (Miller et al., 2013, p.367). En relación a los cambios humorales, el total de IgE no es significativamente diferente entre perros atópicos y normales (Hill et al. 1995, citado por Miller et al., 2013, p.367), se sugiere que esto se debe a que los perros tienen altos niveles de IgE comparado con los humanos, por el grado de exposición

parasitaria que tienen; aunque si se ha comprobado que la mayoría presentan un aumento de alérgeno específico IgE (Miller et al., 2013, p.367).

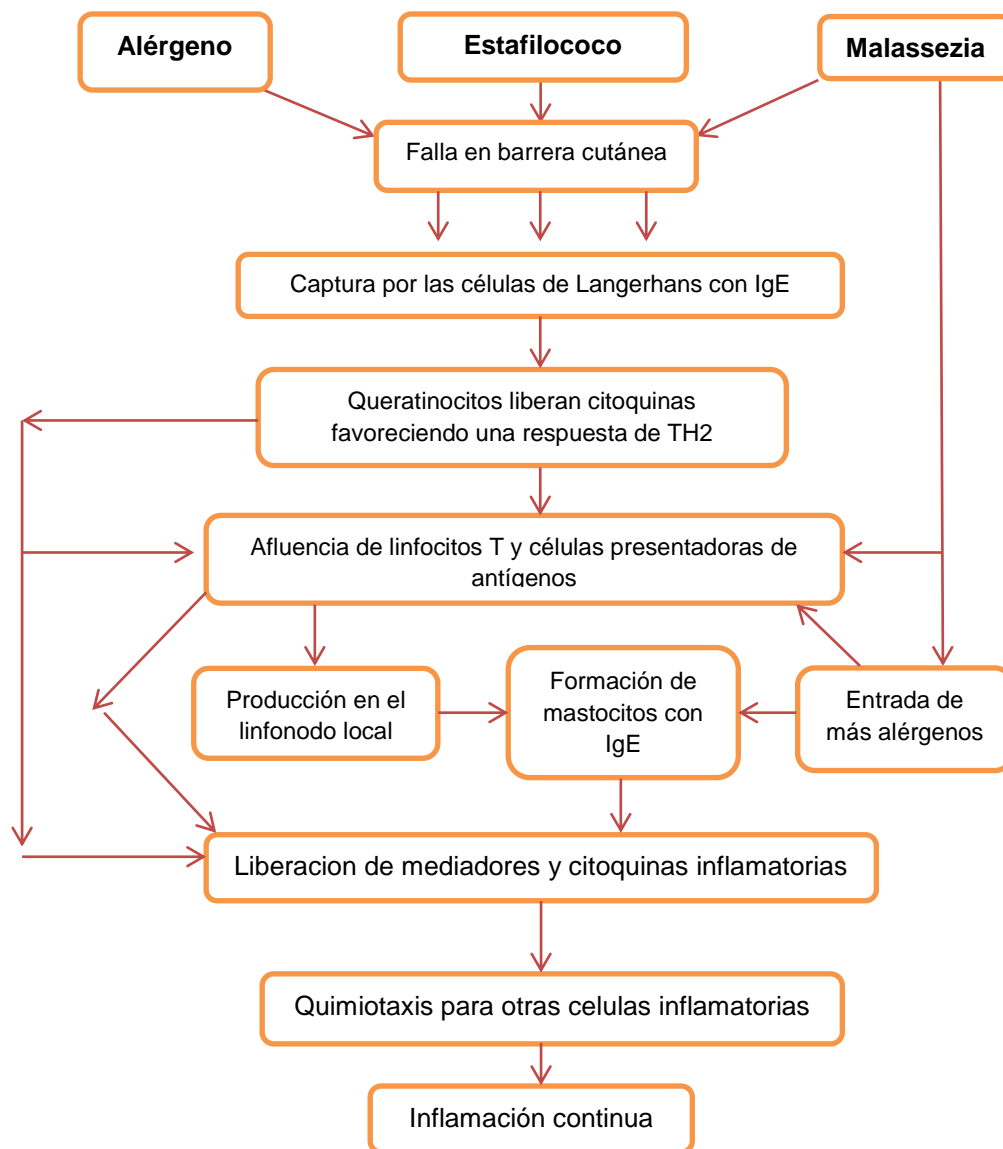
En cuanto al rol de los mediadores de inflamación, en un estudio se midió la liberación de histamina de los leucocitos periféricos, en grupos de control sanos, y perros sensibilizados artificialmente con una prueba inmunológica con el antígeno de *Dermatophagoides farinae* y anti-IgE; determinando que el conteo total de células de histamina no era significativamente diferente entre perros con DAC y perros sanos (Jackson et al. 1996, citado por Miller et al., 2013, p.369).

### **2.5.2 Secuencia de eventos**

Aunque la inmunopatogénesis de la atopia es compleja, se lo puede llegar a representar de una manera más simplificada (Figura 5):

1. Un daño en la función de barrera facilita la absorción percutánea del alérgeno.
2. El alérgeno es capturado por las células de Langerhans que contienen anticuerpos de IgE.
3. En la respuesta inmune resultante, las características genéticas de los rasgos atópicos favorecen el desarrollo de una respuesta IgE (TH2), elaborada en gran parte en el linfonodo.
4. La exposición de mastocitos que contienen anticuerpos de IgE, inicia una descarga de mediadores nuevos y pregenerados que ayudan a la afluencia de células inflamatorias.
5. Como consecuencia, estas liberan otros mediadores pro-inflamatorios.
6. En la fase crónica en particular, ocurre una respuesta TH1 concomitante con el interferón gama (IFN- $\gamma$ ).
7. El problema lo componen las infecciones secundarias, llevando a respuestas TH1 futuras.

8. Una falla en las regulaciones del sistema inmune permite la continuación de respuestas inmunes y una inflamación resultante (Halliwell, 2009, p. 214-215).



*Figura 5.* Esquema simplificado describiendo la adquisición de la sensibilidad y el desarrollo de la inflamación en DAC. Tomado de Halliwell, 2009, p. 215.

## 2.6 Polvo casero

Es un aeroalérgeno capaz de producir una reacción alérgica en un individuo susceptible. Son partículas complejas que contienen componentes moleculares de los cuales solo algunos provocan alergia. La mayoría de alérgenos tienen 2 o más determinantes antigénicos con un tamaño de 2 a 60 micrones, lo que facilita su paso hacia bronquiolos y la penetración de membranas mucosas. Toda partícula para ser un aeroalérgeno significativo tiene que ser antigénico, volátil y presente en cantidades suficientes (Reedy y Miller, 1989, p.49).

Es una sustancia heterogénea que contiene caspa animal, levaduras, restos de insectos, bacterias, material fibroso animal y vegetal, restos de comida etc.; sin embargo el polvo de diferentes partes del mundo tiene una antigenicidad similar. Está en el grupo de los alérgenos ambientales asociados a síntomas dentro de casa (indoor); dependiendo del animal estos pueden ser estacionales o perennes; sus concentraciones relativas disminuyen en verano donde hay más ventilación en los hogares, mientras que en invierno se incrementan (Reedy y Miller, 1989, pp.56-57).

### 2.6.1 Ácaros

Los ácaros (arácnidos) son un componente alergénico importante en el polvo casero; pertenecen a la familia Pyroglyphidae y es comúnmente conocido como "ácaro del polvo" (Miller et al., 2013, p.415). Existen más de 36 especies destacándose *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus* (Reedy y Miller, 1989, p.57), este último tiene proteínas alergénicas Der p 1 y Der p 2; en humanos se ha registrado que más del 80% de individuos alérgicos tienen anticuerpos IgE hacia estas (Barata, 2015, p.4).



Figura 6. Muestra de polvo casera que contiene un ácaro de la especie *D. farinae*. Tomado de Noli, 2011.

Viven en descamaciones de la epidermis de personas y animales, levaduras, mohos y remanentes de comida. La alergia a estos no depende de la viabilidad de los mismos, ya que sus desechos y ácaros muertos también son alergénicos. Tanto en animales como humanos la limpieza exhaustiva en el hogar parece no afectar sus rangos de recuperación, representando en ambos la mayor fuente de alergia al polvo casero (Reedy y Miller, 1989, p.57).

Su reproducción se regula por la temperatura y humedad. Para el cultivo en laboratorio de *D. pteronyssinus* se necesita una temperatura de 25 °C y una humedad relativa de 50%. (Reedy y Miller, 1989, p.57), siendo esta el factor influyente para su reproducción y supervivencia, ya que se osmoregulan a través de su cutícula de cobertura, por lo que un ambiente húmedo evita la pérdida excesiva de agua (Hart, 1998, p.1).

## 2.7 Dermatitis alérgica por inhalantes

En perros y gatos, la alergia a sustancias inhalantes conlleva con frecuencia a la llamada "dermatitis atópica", enfermedad alérgica cutánea común en individuos genéticamente predispuestos (Olivry et al., 2001; Sousa y Marsella, 2001; citado por Gross et al., 2005, p.200), o con tendencia hereditaria a desarrollar reacciones alérgicas mediadas por IgE a varios alérgenos ambientales incluyendo el polvo casero; puede manifestarse de manera estacional aunque puede progresar y hacerse perenne. (Gross et al., 2005,

p.200). Si las partículas del alérgeno agresor son lo suficientemente pequeñas, pueden llegar a bronquios o bronquiolos, donde la reacción local a menudo produce broncoconstricción, sibilancias y episodios de disnea similares al asma (Tizard, 2000, p.346).

Recientemente se han considerado ciertos criterios para el diagnóstico de atopia, estos fueron desarrollados por el dermatólogo Claude Favrot quien considera que la sensibilidad y especificidad puede incrementarse si se cumplen al menos 5 de los 8 (Favrot et al., 2010, citado por Machicote, 2011) (Tabla 2).

Tabla 2.

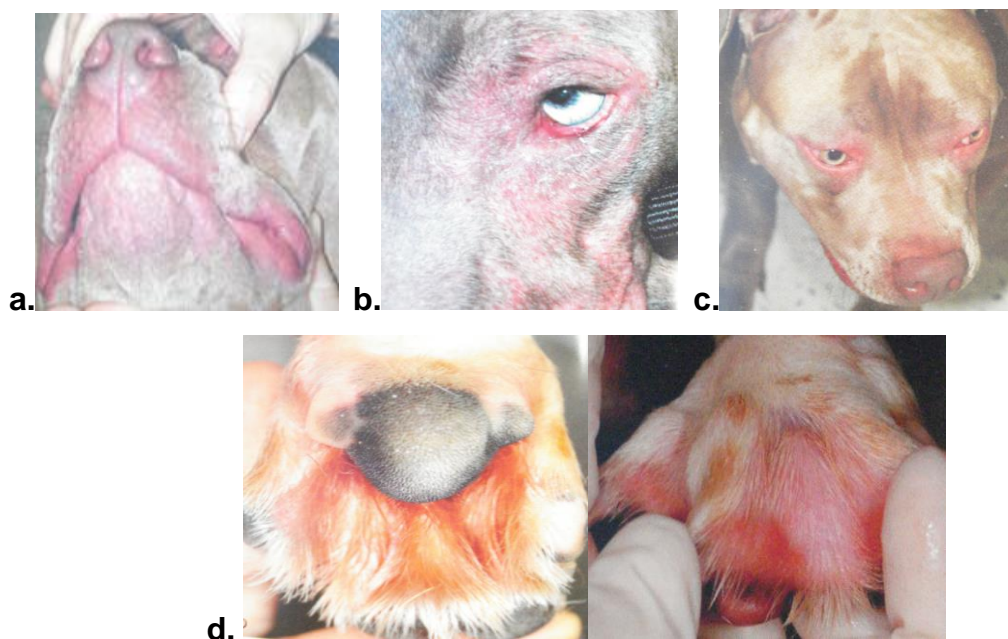
*Criterios de Favrot para DAC*

<b>Criterios de Favrot</b>
1. Inicio de los signos antes de los 3 años de edad.
2. Perro que vive en interiores.
3. Prurito que responde a glucocorticoides.
4. Prurito sin lesiones/primario al principio.
5. Extremidades delanteras afectadas.
6. Pabellones auriculares afectados.
7. Márgenes auriculares no afectados (cara cóncava).
8. Área dorsolumbar no afectada.

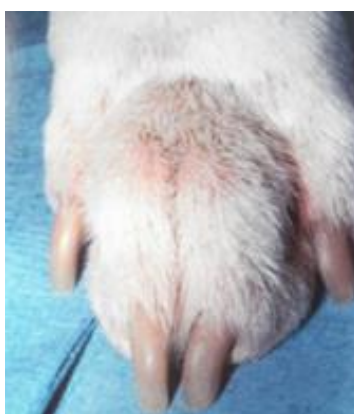
Tomado de Machicote, 2011, p.151.

Signos clínicos de DAC son raramente vistos en animales menores a los 6 meses o después de los 7 años (Gross et al., 2005, pp.200-201). Las lesiones cutáneas primarias son muy raras, ya que la mayoría son causadas por autotraumatismos secundarios llevando a varios grados de eritema, alopecia y excoriación. Las zonas del cuerpo más afectadas son cara, extremidades distales, orejas y vientre (Figura 7), pero el aspecto del dorso del carpo aumenta la sospecha (Figura 8). Las lesiones también pueden ser generalizadas. Pioderma secundaria y dermatitis por *Malassezia spp.* son

comunes y empeoran los signos clínicos y el prurito, pueden ser vistas en conjunto con otitis externas (Gross et al., 2005, pp. 202-203). Su diagnóstico se basa en los antecedentes y en identificar los antígenos agresores mediante pruebas cutáneas directas (Tizard, 2000, p.346).



*Figura 7.* Imágenes clínicas de DAC. a. Lesiones agudas consistentes a máculas eritematosas en las áreas más comunes: hocico. b. área periorcular. c. conjuntiva. d. áreas interdigitales ventral y dorsal. Tomado de Miller et al., 2013, p.374.



*Figura 8.* Dermatitis atópica donde el prurito ha provocado excoriaciones y alopecia autotraumática en el dorso de la pata delantera en un bull terrier. Tomado de Gross et al., 2005, p.203.

Aproximadamente el 80% de los individuos con DAC tienen IgE específicos circulando y reconociendo uno o más ácaros del polvo, entre otros alérgenos ambientales (Youn et al., 2002, citado por Miller et al., 2013, p.369). Actualmente está aceptado que en al menos un subconjunto de perros atópicos los alérgenos ambientales juegan un rol muy importante (Hill y DeBoer, 2001, citado por Miller et al., 2013, p.369), esto se ha demostrado a través de pruebas con parche y ensayos ambientales (Miller et al., 2013, p.369).

## **2.8 Métodos diagnósticos de alergia**

Están disponibles métodos in vivo e in vitro que pueden orientar al diagnóstico definitivo de alergias cutáneas:

### **2.8.1 Pruebas serológicas**

Es una prueba in vitro, usada para detectar alérgenos específicos IgE, aunque el medirlas es un pobre indicador del estado alérgico, por lo que no debería ser usada para discriminar entre pacientes alérgicos y sanos. Su especificidad es baja al igual que su valor predictivo positivo, siendo no válida para diagnosticar dermatitis comunes como las atópicas (Miller et al, 2013, p.379). Actualmente, presenta buena sensibilidad al compararla con la prueba intradérmica (Machicote, 2011, p.158).

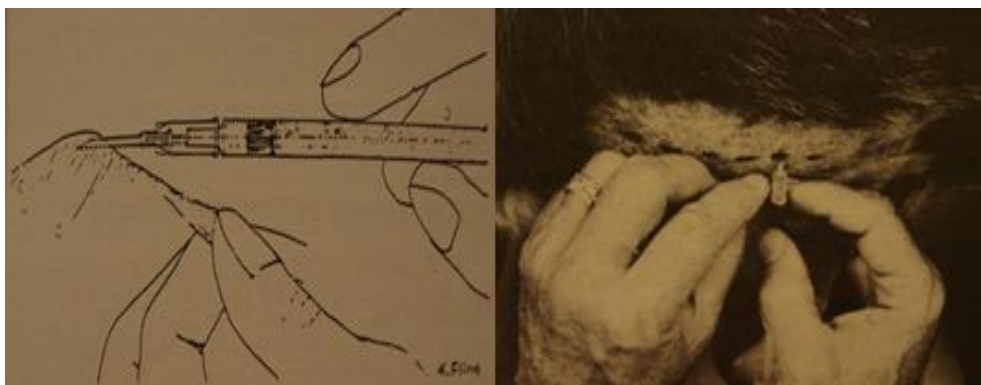
Existen 2 tipos de técnicas para identificar anticuerpos específicos de antígenos circulantes en sangre: El análisis radioalergoabsorbente (RAST), y el inmunoenzimático (ELISA), ambos tienen un principio similar; el suero del paciente se agrega a pozos con antígenos y se añade un antisuero. El reactivo más específico disponible es un fragmento peptídico humano de los receptores altamente afines a los mastocitos, que se unen en el lugar de unión del fragmento Fc, exclusivo de los anticuerpos de IgE (Foster y Foil, 2008, p.34).



### 2.8.2 Prueba de intradermorreacción

Es una prueba in vivo que se llegó a considerar como "gold standard" de las pruebas alérgicas antes de la llegada de métodos más modernos como la serología; aunque en estudios se ha demostrado que ambos tienen una alta concordancia. Esta técnica arroja resultados rápidos, altamente sensibles y es útil como apoyo para llegar a un diagnóstico oportuno, su costo es mucho menor en relación a pruebas in vitro (Miller et al, 2013, p.378).

Es necesaria una sedación previa, ya que además de provocar dolor según estudios se comprobó que el no realizarla en perros causa hipercortisolemia. Se debe introducir una aguja con el bisel ligeramente doblado hasta la zona intradérmica, liberando entre 0,05-0,1 cc del alérgeno, para conseguir una ampolla con bordes definidos (Figura 9); de igual manera 0,05 cc de sulfato de histamina como testigo positivo y 0,05 cc de solución salina fenicada al 0,4% como testigo negativo. La lectura se realiza 15 a 30 minutos después (Miller et al, 2013, p.378).



*Figura 9.* Introducción de la aguja durante técnica de intradermorreacción. Tomado de Reedy y Miller, 1989, p.99.

### 2.8.3 Skin Prick Test o test de Prick (SPT)



*Figura 10.* Aplicación del Test de Prick. Tomado de ALK-ABELLÓ, s.f.

Es una prueba esencial in vivo que se fundamenta en reproducir localmente el proceso de hipersensibilidad tipo 1, mediante la inoculación de diferentes alérgenos con una lanceta en la dermis del paciente, para confirmar sensibilidad en enfermedades alérgicas mediadas por IgE específicas (Heinzerling et al., 2013, p.1) (Figura 10), las cuales están unidas a los mastocitos provocando su desgranulación y la liberación de mediadores de inflamación como la histamina, serotonina entre otros. De igual forma se aplica una inyección subcutánea de 0,10 cc de solución acuosa de histamina como control (+) y 0,10 cc de cloruro de sodio al 0,9% como control (-). 10 a 15 minutos después se produce un habón o roncha en el punto de prueba en caso de que exista una reacción cutánea en el individuo (Machicote, 2011, p.158), esta se interpreta según el grado de inflamación. Diferentes alérgenos pueden ser probados simultáneamente, ya que la reacción resultante a un alérgeno específico es localizada (Heinzerling et al., 2013, p.2).

En humanos al compararlo con otros métodos in vitro como la serología su ventaja principal fue la rapidez en los resultados, de 10 a 15 minutos después de haber sido aplicada en la piel. También provee una prueba visible del grado de sensibilidad, además de su bajo costo (Heinzerling et al., 2013, pp.2-4).

Las pruebas in vitro tienen menor sensibilidad (Hill et al., 2004 y Chung et al, 2010, citado por Heinzerling et al., 2013, p.2) y especificidad (Ten et al., 1995 y

Van der Zee et al. 1988, citado por Heinzerling et al., 2013, p.2), la concordancia de resultados con el SPT varía entre 85% a 95% dependiendo del tipo de alérgeno usado (Bousquet et al, 1990 y Wohrl et al., 2006, citado por Heinzerling et al., 2013, p.3), y el método aplicado para detectar IgE específico (Bernstein et al., 2008 y Williams et al., 1992, citado por Heinzerling et al., 2013, p.3).

Las pruebas intradérmicas son más sensibles pero menos específicas que el SPT (Wood et al., 1999, citado por Heinzerling et al., 2013, p.4), son más complicadas y requieren una técnica precisa (Riezzo et al. 1999 y Lockey et al. 1987, citado por Heinzerling et al., 2013, p.4).

El SPT es altamente específico y sensible, 70-95% y 80-97% respectivamente, para el diagnóstico de alérgenos inhalantes (Demoly et al. 2003, citado por Heinzerling et al., 2013, p.6).

## CAPÍTULO III. MATERIALES Y METODOS

### 3.1 Materiales

#### 3.1.1 Material experimental

- Concentrado de alérgeno específico de *Dermatophagoides farinae* para diagnóstico Prick Test, Laboratorios Q Pharma Argentina S.A. Hab. Aprobados por Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), INMUNOTEK
- Concentrado de alérgeno específico de *Dermatophagoides pteronyssinus* para diagnóstico Prick Test, Laboratorios Q Pharma Argentina S.A. Hab. Aprobados por Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), INMUNOTEK (Figura 11)
- Controles:
  - Negativo: solución salina o cloruro de sodio al 0,9%, elaborado por laboratorios *Life*
  - Positivo: solución acuosa de histamina 1:1000 p/v, elaborado por LABALERGIA S.A.



Figura 11. Concentrados de alérgenos para Prick Test y control positivo de histamina.

### 3.1.2 Materiales del campo

- Examen físico: termómetro, fonendoscopio, balanza CAMRY
- Examen dermatológico: otoscopio
- Preparación del paciente: rasuradora con cuchilla #40, guantes no estériles, gasas estériles, alcohol antiséptico líquido y en gel
- Realización de la prueba cutánea SPT: lupa, fuente de luz, calibrador PRETUL, jeringas de insulina BD Ultra-Fine™, marcadores permanentes rojo y negro, bozal, cámara fotográfica, toallas de papel, cronómetro, cinta celofán, lancetas esterilizadas desechables MEDIPOINT, regla milimetrada (Figura 12)
- Hojas de registros: datos del paciente, examen físico, examen dermatológico, resultados de Prick Test, hoja de autorización
- Termo refrigerante para transportar alérgenos y controles
- Filipina



Figura 12. Materiales para la realización del Prick Test

## 3.2 Metodología

### 3.2.1 Descripción del sitio experimental

#### 3.2.1.1 Ubicación

El presente estudio se lo realizó en el centro canino "De Patas", ubicado en el sector de Churuloma, en la parroquia de Tumbaco (Tabla 3).

Tabla 3.

Ubicación geográfica del área de influencia

Provincia	Cantón	Parroquia	Latitud	Longitud	Altura
Pichincha	Quito	Tumbaco	0°12'36" S	78°24'00" W	2350 msnm

Adaptado de Instituto Nacional de Meteorología (INAMHI), 2014.

#### 3.2.1.2 Características climáticas

El trabajo realizado en la parroquia de Tumbaco presentó las siguientes características climáticas (Tabla 4).

Tabla 4.

*Características climáticas del área de influencia*

Características climáticas	
Temperatura media mensual	16,7°C
Precipitación media anual	870,6 mm
Humedad relativa media anual	78.85%
Evapotranspiración potencial anual	755,8

Adaptado de Instituto Nacional de Meteorología (INAMHI), 2014

### **3.2.2 Unidad experimental**

Estuvo constituida por 26 canes de las razas Boyero de Berna, Labrador Retriever, Golden Retriever, Akita americano y Schnauzer.

#### **3.2.2.1 Selección de los canes**

Se seleccionó esta muestra de canes luego de haber realizado un conteo de las razas que con más frecuencia acuden al centro canino "De Patas" para hacer uso de sus servicios, tomándolo a este como área de influencia, se determinó el universo de clientes para seleccionar las 5 razas más frecuentes: Boyero de Berna (18), Akita americano (20), Labrador Retriever (10), Golden Retriever (10) y Schnauzer (30), de los cuales se tomó una muestra del 30% de cada una para aplicar la prueba cutánea (Martínez et al., 2004, p.25).

Obteniendo 26 canes distribuidos en grupos de: 5 Boyeros de Berna, 6 Akitas Americanos, 3 Labrador Retriever, 3 Golden Retriever y 9 Schnauzer.

#### **3.2.2.2 Criterios de inclusión**

a) Exámenes físicos y dermatológicos:

Para considerar a los canes aptos para el test, estos debieron pasar por un examen físico general para verificar su estado de salud, luego se hizo una inspección dermatológica para detectar alteraciones en la piel que pudiesen alterar los resultados del Prick Test; al pasar ambos exámenes se pudo ratificar su estado de aparentemente sanos (Anexo 1).

b) Tratamientos o fármacos:

Se realizó una anamnesis con el fin de descartar posibles signos de alergias previas, y si estaban recibiendo tratamientos o fármacos (Anexo 2) en cuyo caso se consideró un tiempo de retiro:

- Antihistamínicos: 4 días antes

- Prednisona: 3 semanas antes
- Corticoesteroide *depot*: 3 meses antes
- Ácidos grasos Omega 3/6: 10 días antes (Machicote, 2011, p. 158).

c) Rango de edad:

Todos los pacientes debían entrar en el rango de edad entre 6 meses a 5 años; dichos rangos se determinaron al consultar bibliografía sobre la DAC, donde según autores como Favrot, 2010, los 3 años eran el límite para manifestar signos clínicos para la enfermedad, sin embargo otros como Gross et al, 2005, mencionan que estos eran poco vistos antes de los 6 meses y después de los 7 años; al tener diversos rangos preestablecidos se determinaron las edades entre los 6 meses a 5 años para incluir a los individuos de la muestra de este estudio.

Tras aprobar con todos los criterios de inclusión, se informó al dueño acerca de la prueba a realizarse mediante un tríptico informativo (Anexo 5), con el fin de que se familiarice con la técnica y otorgue su autorización para aplicarla en su mascota (Anexo 3).

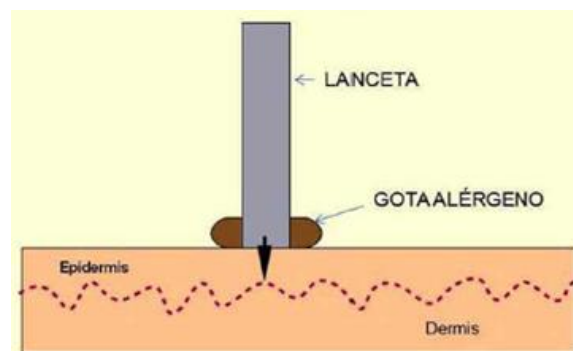
### 3.2.2.3 Procedimiento para realizar la prueba

- Se seleccionó la parte lateral del tronco, puesto que esta zona está alejada de los vasos sanguíneos, además debía estar sin abrasiones.
- Luego se realizó una tricotomía de 5x5cm en el área elegida.
- Después se limpió la zona con gasas estériles y alcohol antiséptico, el cual se dejó secar por completo al ambiente.
- Se colocó al animal en decúbito lateral y se delimitó con un marcador las 4 zonas donde se iba a inocular (control +), (control -), (alérgeno 1 *Df.*), (alérgeno 2 *Dp.*). Notando que la distancia entre cada SPT debe ser igual o >2cm, para evitar reacciones falso-positivas por contaminación directa (Nelson et al. 1996, citado por Heinzerling et al., 2013, p.5).



- Se aplicó una inyección subcutánea con agujas de insulina, 0,10 cc de solución acuosa de histamina en el punto de control (+) y de igual manera 0,10 cc de cloruro de sodio al 0,9% en el punto de control (-).
- Luego se dejó caer sobre la piel una gota de los concentrados de alérgenos específicos de *Dermatophagoides farinae* en el punto (1) y *Dermatophagoides pteronyssinus* en el punto (2) (Figura 14), e inmediatamente se pinchó por 1 segundo cada gota con una lanceta de metal creando un ángulo de 90°, tratando de mantener una presión igual en cada prueba sin provocar sangrados que induzcan a falso-positivos (Figura 13).

Se utilizó una nueva lanceta para cada alérgeno, ya que el solo limpiar una que haya sido previamente usada entre pruebas puede resultar en una contaminación cruzada (Piette et al. 2002, citado por Heinzerling et al., 2013, p.5). Este instrumento muestra excelente reproductibilidad y muy pocos resultados falsos-negativos siendo el ideal para realizar el SPT (Carr et al., 2005 y Demoly et al., 1991, citado por Heinzerling et al., 2013, p.5).



*Figura 13.* Inserción de lanceta de metal en el Prick Test. Tomado de Alamar et. al., 2012, p.25.

- Después se retiró con una toalla de papel el exceso de concentrados de la piel para evitar la contaminación cruzada entre las gotas.
- Con el calibrador se procedió a medir los habones resultantes de las reacciones de los controles (+) y (-), en conjunto con los concentrados

de alérgenos cada 5, 10 y 15 minutos; a través de los 2 métodos cuantitativo y semicuantitativo.

- Con el fin de llevar un registro permanente, se delimitó con marcador de color rojo el tamaño del habón, para luego pegar cinta celofán y poder transcribirlo a las hojas de registro.



Figura 14. Aplicación de los alérgenos durante el Prick Test.

### 3.3 Medición de resultados

#### 3.3.1 Medición de grados de alergia

La reacción de la piel hacia los 2 controles (+) y (-), y los 2 tipos de alérgenos *Df.* y *Dp.*, se midió en 3 lapsos inicial, medio y final en tiempos de 5, 10 y 15 minutos respectivamente.

En el primer minuto con el calibrador se midió el tamaño en milímetros de los controles (+) y (-) para asegurar que hayan sido aplicados correctamente y para excluir resultados negativos por una potencial interferencia con medicamentos (Heinzerling et al., 2013, p.5) que no hayan sido declarados por el propietario. Tras la verificación se realizaron las medidas en los 3 tiempos antes mencionados.

El tamaño final del habón formado por el control (+) de histamina sirvió como referencia para compararlo con las posibles reacciones que pudiesen provocar cada uno de los alérgenos. Cabe recalcar que el diámetro del habón varía según el paciente, para medirlo se aplicaron 2 métodos: cuantitativo y semicuantitativo.

### 3.3.1.1 Método cuantitativo (C)

Se calculó el diámetro medio de los habones producidos por la histamina y por los alérgenos en el caso de que existiese una reacción. Se utilizó la siguiente fórmula para cada uno:

$$\begin{aligned} & \text{Diámetro (D)} \\ & = \frac{DI \text{ (Diámetro más largo)} + dp \text{ (Diámetro medio ortogonal a DI)}}{2} \end{aligned}$$

(Ecuación 1)

Tomado de (Inmunodiagnóstico, s.f.).

### 3.3.1.2 Método semicuantitativo (Sc)

Con este se midió el diámetro más largo de los habones de histamina y de los alérgenos para realizar una estimación de la superficie, sin incluir los pseudópodos (estructuras lineales radiadas y finas de color marrón o negro en la periferia de la lesión), ya que esto no aumenta la sensibilidad para determinar el grado de sensibilización (Heinzerling et al., 2013, p.5).

### 3.3.2 Interpretación de resultados positivos

Se utilizó el método de gradación basado en la relación en porcentaje que existe entre el tamaño del habón del control positivo de histamina con el provocado por el concentrado de cada alérgeno (Braso y Jorro, 2003, citado por Alamar, 2012). Cabe recalcar que la formación de un habón en la zona de inoculación de alérgenos indica que el paciente tiene un anticuerpo de

sensibilización cutánea, lo cual representa una manifestación subclínica de hipersensibilidad.

Se tomaron como positivos a los resultados con una medida que abarque el 50% del habón de histamina desde (++) (ALK-ABELLÓ, s.f.) como se observa en la Tabla 5, ya que puede considerarse que hay reacción inmunológica o sensibilización, con o sin relevancia clínica a valorar por la historia clínica del paciente (Alamar et al., 2012). En general un tamaño de 3mm o más indica la presencia de IgE específica para los alérgenos testeados (Smith, 2013, p.21). Se tomó en cuenta que la reproductibilidad es mayor cuando se mide solo el diámetro mayor de la roncha y no el eritema asociado (Vohlonen et al. 1989 y Dirksen 1985, citado por Heinzerling et al., 2013, p.5).

Tabla 5.

Interpretación de resultados positivos del Prick Test por el Método de Gradación

<b>GRADO</b>	<b>Porcentaje (%) del área del habón del alérgeno en relación con el control positivo de histamina</b>
(-)	Mismo tamaño que el control negativo
(+)	25% del control positivo
(++)	50% del control positivo
(+++)	100% igual al control positivo
(++++)	200%

Tomado de Alamar et al., 2012

Además se hizo una interpretación en base a la relación milímetros/sensibilidad, con el objetivo de definir si los pacientes eran medianamente sensibles, con sensibilidad moderada o muy sensibles, a partir de 3mm hasta >15mm, como se observa en la Tabla 6.

Tabla 6.

*Interpretación de resultados positivos por la relación entre milímetros de habones de alérgenos/sensibilidad del paciente*

<b>Tamaño de habones de alérgenos</b>		
3 a 10mm	10 a 15mm	>15mm
Individuo es medianamente sensible	Sugieren sensibilidad moderada	Paciente muy sensible

Tomado de AllergyClinic, s.f.

### **3.3.3 Interpretación de resultados negativos**

Todo habón menor a 3mm o que abarque un porcentaje menor al 50% del habón formado por la histamina se lo consideró como negativo, ya que la posible reacción cutánea que se presente en el sitio de aplicación del alérgeno no es considerada representativa o como una guía que nos oriente hacia un posible diagnóstico de alergia a los ácaros del polvo. Esto puede ocurrir ya sea porque los niveles de IgE sanguíneos no son lo suficientemente elevados como para provocar una reacción cutánea significativa con la presencia de signos clínicos de alergia o también por una interferencia con fármacos sobre los cuales el propietario no nos haya informado como glucocorticoides, antihistamínicos, tranquilizantes, compuestos con progesterona o drogas que disminuyan la presión sanguínea.

### **3.4 Método estadístico**

En primera instancia se recolectó la información en una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel 2010, en la que se incluyeron raza, edad, sexo, peso, alimentación, hábitat e historia clínica a las cuales se las consideró como variables independientes. En este se anotaron de igual manera los resultados de los diferentes grados de alergia obtenidos posteriormente a la aplicación de los 2 alérgenos, considerándolos como variables dependientes;

estos se clasificaron según los 2 tipos de mediciones (cuantitativo y semicuantitativo) en conjunto con los 3 tiempos (5, 10 y 15 minutos).

En este mismo programa se decidió aplicar el test de Fisher, ya que al analizar los datos de los 2 métodos de medición, sus resultados arrojaron gráficas que no se podían ajustar a la función gaussiana o a la campana de Gauss, sin embargo sí lo hacían para la curva de Fisher; además se consideró que se hicieron las distintas mediciones en los mismos individuos; cabe recalcar que en este estudio se realizó un análisis comparativo entre las 2 mediciones por lo que no se usaron grupos de control. Para mayor certeza y por tener una muestra muy reducida se aplicó la tabla de Fisher con un nivel de significación de 0,05 o 5%, comparando los valores  $F_{Tabla}$  y  $F_{Prueba}$ .

Para realizar un análisis estadístico de los datos de las variables mencionadas anteriormente y con el fin de determinar si existen relaciones o diferencias significativas, se crearon tablas comparativas con los resultados positivos y con los datos propios de cada grupo, en conjunto con gráficos de barras.

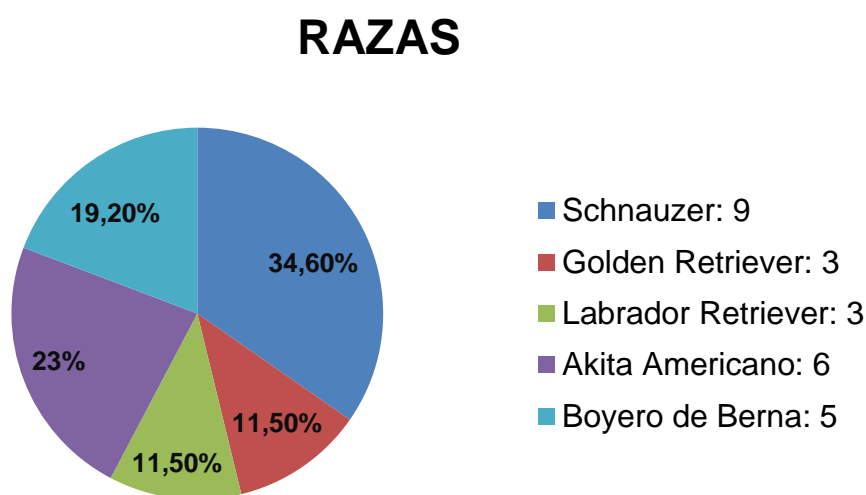
#### **3.4.1 Razón F de Fisher**

Para comprobar que el estudio es estadísticamente fiable se comparó las mediciones de los controles de histamina por medio de los 2 métodos C y Sc, cada 5, 10 y 15 minutos, para obtener las variables que la razón de Fisher requiere, se obtuvo para cada tiempo, método y raza, los respectivos cálculos: promedio, desviación standard y varianza.

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Distribución de individuos por raza

En este estudio el total de la muestra estuvo constituida por 26 pacientes de 5 razas diferentes y con distinto número de individuos en cada una.



*Figura 15.* Distribución gráfica del número total de pacientes.

Como se observa en la Figura 15, en este estudio la muestra no fue homogénea, ya que cada raza tuvo porcentajes variados, donde solo los grupos de Golden y Labrador Retriever tuvieron la misma cantidad de 11,5% (3/26); mientras que la raza Schnauzer fue la que abarcó el mayor número con el 34,6% (9/26), seguida por Akita Americano con el 23% (6/26) y Boyero de Berna con 19,2% (5/26). Por tener diferente número de pacientes en cada una de las 5 razas, se optó por analizar cada grupo de manera individual.

### 4.2 Análisis de las variables independientes por raza

Al realizar la recopilación de información de cada paciente se determinaron además de la raza a las siguientes variables: edad, sexo, hábitat, peso y

alimentación, como las más relevantes por la posible relación que pudiesen tener con los resultados que arroje el Prick Test.

Para una mejor comprensión de los datos se optó por agrupar dichas variables principales en rangos adaptados por la autora, así como se observa en las Tablas 7, 8, 9, 10 y 11.

Tabla 7.

*Datos individuales de la raza Schnauzer (S)*

<b>Raza: S</b>	<b>Población</b>	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	<b>TOTAL</b>	
<b>Variables</b>												
<b>Edad (meses)</b>	6 a 24	x			x		x		x			4
	25 a 41					x						1
	42 a 60		x	x				x		x		4
<b>Sexo</b>	H	x	x		x	x		x		x		6
	M			x			x		x			3
<b>Peso (Kg)</b>	4 a 10	x		x	x		x	x	x	x		7
	10.01 a 20		x			x						2
	20.01 a 30											
	30.01 a 40											
	40.01 a 50											
<b>Alimentación</b>	Casero											
	Balanceado		x		x	x	x	x	x	x		7
	Mixto	x		x								2
<b>Hábitat</b>	Exterior											
	Mixto	x	x	x	x	x	x	x	x	x		9
<b>Resultados</b>	Positivos		x		x						2	22,22%
	Negativos	x		x		x	x	x	x	x	7	77,8%

Como se observa en la Tabla 7, en este estudio la raza Schnauzer tuvo 9 pacientes, siendo el 22,22% positivos, y el 77,8% negativos.

Los 2 individuos con resultados positivos fueron S2 y S4 cuyos rangos de edad estuvieron entre 42–60 meses y 6–24 meses respectivamente. Con respecto al sexo ambas fueron hembras, sus pesos estuvieron entre 10,01-20kg para S2 y 4-10kg para S4. La alimentación en ambos casos fue con balanceado. Ambas tenían un hábitat mixto tanto dentro como fuera de casa.



En relación a los 7 individuos negativos (S1, S3, S5, S6, S7, S8 y S9); sus edades estuvieron distribuidas en los 3 rangos establecidos de 6-60 meses, con 3 individuos entre 6-24 meses, 1 con 25-41 meses y otros 3 con edades de 42–60 meses. El sexo fue de 3 machos y 4 hembras, con pesos de 4-10kg para 6 individuos y solo 1 con un peso mayor de 10,01-20kg. Respecto a la alimentación 5 pacientes consumían balanceado y 2 alimento mixto. Finalmente el total de canes negativos vivía en un ambiente mixto.

Tabla 8.

Datos individuales de la raza Golden Retriever (G)

<b>Raza: G</b>	<b>Población</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>TOTAL</b>	
<b>Variables</b>						
<b>Edad (meses)</b>	6 a 24	x	x		2	
	25 a 41					
	42 a 60			x	1	
<b>Sexo</b>	H					
	M	x	x	x	3	
<b>Peso (Kg)</b>	4 a 10					
	10.01 a 20					
	20.01 a 30	x	x	x	3	
	30.01 a 40					
	40.01 a 50					
<b>Alimentación</b>	Casero					
	Balanceado	x		x	2	
	Mixto		x		1	
<b>Hábitat</b>	Exterior	x	x	x	3	
	Mixto					
<b>Resultados</b>	Positivos		x	x	2	66,67%
	Negativos	x			1	33,33%

Para la raza Golden Retriever como se ve en la Tabla 8, se analizaron 3 pacientes de los que el 66,67% fueron positivos y el 33,33% restante, negativos.

Los 2 canes que resultaron positivos para diferentes grados de alergia fueron G2 y G3, ambos eran machos, con edades comprendidas entre 6–24 meses y 42–60 meses respectivamente; de igual manera sus pesos se ubicaron entre

20,01-30kg. Con respecto a su alimentación el primer caso consumía una mezcla de balanceado con comida casera, mientras que el segundo se alimentaba únicamente de balanceado. Ambos vivían en exteriores.

En el único individuo negativo (G1), su edad fue de 6-24 meses, era macho con un peso entre 20,01-30kg. La alimentación consistía en balanceado, y su hábitat era solo en exteriores.

Tabla 9.

Datos individuales de la raza Labrador Retriever (L)

<b>Raza: L</b>	<b>Población</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>TOTAL</b>	
<b>Variables</b>						
<b>Edad (meses)</b>	6 a 24		x		1	
	25 a 41	x		x	2	
	42 a 60					
<b>Sexo</b>	H					
	M	x	x	x	3	
<b>Peso (Kg)</b>	4 a 10					
	10.01 a 20					
	20.01 a 30	x	x		2	
	30.01 a 40			x	1	
	40.01 a 50					
<b>Alimentación</b>	Casero	x			1	
	Balanceado		x	x	2	
	Mixto					
<b>Hábitat</b>	Exterior	x	x	x	3	
	Mixto					
<b>Resultados</b>	Positivos	x			1	33,33%
	Negativos		x	x	2	66,67%

Como se observa en la Tabla 9, en la raza Labrador Retriever se aplicó el Prick Test en 3 pacientes, de los cuales se obtuvo el 33,33% de positivos y el 66,67% de negativos.

El can positivo fue de sexo macho (L1), cuya edad estaba entre 25-41 meses, con peso de 20,01–30kg. Su alimentación se basaba solo en comida casera, mientras que su hábitat fue únicamente en exteriores.

Los individuos negativos fueron ambos machos (L2 y L3), cuyas edades oscilaron entre 6-24 meses y 25-41 meses respectivamente. Los pesos para el primer caso fueron de 20,01–30kg, y 30,01–40kg para el segundo. En ambos canes la alimentación era en base a balanceado y su hábitat fue en exteriores.

Tabla 10.

Datos individuales de la raza Akita Americano (A)

<b>Raza: A</b>	<b>Población</b>	A1	A2	A3	A4	A5	A6	<b>TOTAL</b>
<b>Variables</b>								
<b>Edad (meses)</b>	6 a 24				x			1
	25 a 41	x	x	x				3
	42 a 60					x	x	2
<b>Sexo</b>	H	x		x	x			3
	M		x			x	x	3
<b>Peso (Kg)</b>	4 a 10							
	10.01 a 20							
	20.01 a 30	x			x	x		3
	30.01 a 40		x	x			x	3
	40.01 a 50							
<b>Alimentación</b>	Casero						x	1
	Balanceado	x	x	x		x		4
	Mixto				x			1
<b>Hábitat</b>	Exterior	x	x			x	x	4
	Mixto			x	x			2
<b>Resultados</b>	Positivos							0 0%
	Negativos	x	x	x	x	x	x	6 100%

En el grupo de la raza Akita Americano como se ve en la Tabla 10, la muestra estuvo formada por 6 individuos (A1, A2, A3, A4, A5 y A6), el 100% fueron negativos.

Sus edades estuvieron ubicadas en los 3 rangos de 6-60 meses, con 3 canes de 25-41 meses, 2 con 42-60 meses y 1 de 6-24 meses. La mitad de la población eran hembras y los 3 restantes machos. Los pesos igualmente fueron la mitad entre 20,01–30kg y la otra mitad de 30,01-40kg. Con respecto a la alimentación 4 individuos consumían balanceado, mientras que el consumo de alimento casero y mixto tuvo 1 paciente cada uno. La mayoría de canes de

este grupo, es decir 4 vivían en un hábitat de exteriores, mientras que los otros 2 lo hacían en un ambiente mixto.

Tabla 11.

Datos individuales de la raza Boyero de Berna (B)

<b>Raza: B</b>	<b>Población</b>	B1	B2	B3	B4	B5	<b>TOTAL</b>
<b>Variables</b>							
<b>Edad (meses)</b>	6 a 24	x	x				2
	25 a 41			x		x	2
	42 a 60				x		1
<b>Sexo</b>	H		x		x	x	3
	M	x		x			2
<b>Peso (Kg)</b>	4 a 10						
	10.01 a 20						
	20.01 a 30						
	30.01 a 40	x	x		x	x	4
	40.01 a 50			x			1
<b>Alimentación</b>	Casero						
	Balanceado	x	x	x		x	4
	Mixto				x		1
<b>Hábitat</b>	Exterior	x		x		x	3
	Mixto		x		x		2
<b>Resultados</b>	Positivos						0 0%
	Negativos	x	x	x	x	x	5 100%

En este estudio la raza Boyero de Berna estuvo conformada por 5 canes, de los cuales el 100% fueron negativos al test. Las edades de los pacientes abarcaron los 6-60 meses, con 2 canes tanto en 6-24 meses como en 25-41 meses, y 1 solo en el rango de 42-60 meses. El sexo fue de 3 hembras y 2 machos; mientras que los pesos en su mayoría fueron de 30,01-40kg en 4 individuos, y el restante que pesó entre 40,01-50kg. Igualmente 4 pacientes consumían balanceado y solo 1 se alimentaba de una mezcla entre comida casera con balanceado. El hábitat de 3 canes fue solo en exteriores y 2 vivían en ambientes mixtos, así como se observa en la Tabla 11.

### 4.3 Resultados positivos del Prick Test

Para la elaboración de las siguientes tablas se tomaron en cuenta únicamente los resultados positivos.

Tabla 12

Resultados positivos del Prick Test en todas las razas

Razas:	S	G	L	A	B
Individuos positivos: <b>5</b>	2	2	1	0	0
% de ejemplares positivos	22,22%	66,67%	33,33%	0%	0%
<i>Dermatophagoides</i>					
<i>farinae (D.f.)</i>	1	1			
ALÉRGENO <i>Dermatophagoides</i>					
<i>pteronyssinus (D.p.)</i>	1	1	1		

Tras realizar la prueba cutánea en los 26 canes, se registraron 5 individuos positivos con diferentes grados de alergia de los que el 22,22% de la población de la raza (S) se vio afectada, seguida por el 33,33% de ejemplares de la raza (L) y por último el 66,67% de la muestra de la raza (G) (Tabla 12).

De los 2 positivos del grupo (S) el 50% de estos pacientes manifestaron una reacción positiva hacia *D.f.*, mientras que el 50% restante lo hizo para *D.p.*, lo mismo ocurrió con la raza (G) cuyos 2 pacientes positivos manifestaron una reacción cutánea para cada uno de los alérgenos; finalmente el único individuo positivo perteneciente al grupo (L) fue reactivo para *D.p.* (Figura 16).

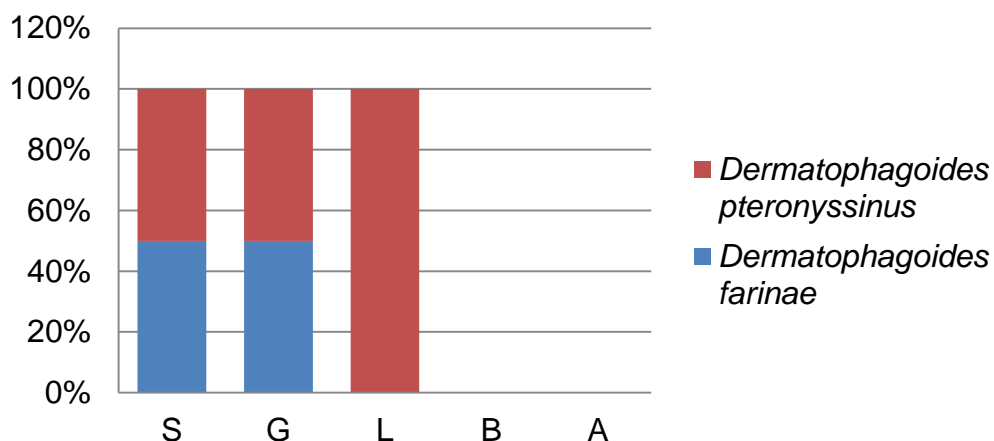


Figura 16. Distribución gráfica de los resultados positivos por raza para cada alérgeno.

#### 4.3.1 Análisis de resultados positivos

Con el fin de facilitar la interpretación de resultados se asignaron rangos para los 3 tiempos (T1-T3), igualmente para las mediciones en milímetros (R1-R5), y en grados o cruces (C1-C5) como se ve en la Tabla 5, estos fueron útiles para monitorear el desarrollo de las reacciones alérgicas, ya que se pudo documentar que en ciertos casos la respuesta cutánea no se manifestaba en el primer tiempo (5 minutos) sino que ocurría en los tiempos posteriores. De igual manera se compararon resultados mediante los 2 métodos de medición: cuantitativo y semicuantitativo.

Para realizar la interpretación final se siguieron los parámetros establecidos en la Tabla 6.

Tabla 13

*Resultados del Prick Test en la raza Schnauzer*

RAZA: S	RANGOS	RESULTADOS EN mm					GRADOS DE ALERGIA				
		R1	R2	R3	R4	R5	C1	C2	C3	C4	C5
TIPOS DE MEDICIÓN	TIEMPOS	0-2.9mm	3-7mm	7.1-11mm	11.1-15mm	15.1-18mm	(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)
MÉTODO SEMICUANTITATIVO (SC)	T1	5MIN	x		x						x
	T2	10MIN	x		x					x	
	T3	15 MIN		x		x			x	x	
MÉTODO CUANTITATIVO (C)	T1	5MIN	x		x					x	
	T2	10MIN	x		x					x	
	T3	15 MIN		x	x				x	x	

*Nota:* Color rosado= S2: D.p. Color verde= S4: D.f.

Como se ve en la Tabla 13, en la raza Schnauzer se obtuvieron 2 casos positivos siendo uno de ellos el individuo S2 (color rosado), el cuál no manifestó reacción alguna en T1 y T2, ya que por ninguno de los 2 métodos (C y Sc) hubo una medida >3mm ubicándose en R1 y C1 (-); esto varió en T3 cuando el calibrador marcó 6mm (Sc) y 4,5mm (C) situándose en ambos casos en R2 y en C3 (++) indicando que el paciente es medianamente sensible al alérgeno *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Con respecto al segundo paciente positivo S4 (color verde), en T1 y T2 se ubicó en R3, con ambos valores de 11mm (Sc). Sin embargo, en grados de alergia las ubicaciones variaron, ya que en T1 hubo un pico en la reacción cutánea situándose en C5, para luego en T2 decrecer y desplazarse a C4, donde se mantuvo hasta T3 a pesar de que con 13mm subió a R4. Con el método C sus valores fueron de 8mm (T1), 9mm (T2) y 10mm (T3), ubicándose en C4 y R3. Se indica entonces que al coincidir por ambos métodos en C4 con (+++) grados de alergia, presenta una sensibilidad moderada al alérgeno *Dermatophagoides farinae*.

Tabla 14

## Resultados del Prick Test en la raza Golden Retriever

RAZA: G	RANGOS	RESULTADOS EN mm					GRADOS DE ALERGIA				
		R1	R2	R3	R4	R5	C1	C2	C3	C4	C5
TIPOS DE MEDICIÓN	TIEMPOS	0-2.9mm	3-7mm	7.1-11mm	11.1-15mm	15.1-18mm	(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)
MÉTODO SEMICUANTITATIVO (SC)	T1 5MIN	x	x				x			x	
	T2 10MIN			x	x					x	x
	T3 15 MIN				x	x				x	x
MÉTODO CUANTITATIVO (C)	T1 5MIN	x	x				x			x	
	T2 10MIN		x	x					x	x	
	T3 15 MIN			x	x					x	x

Nota: Color naranja= G2: D.f. Color celeste= G3: D.p.

Como se ve en la Tabla 14, en la raza Golden Retriever se detectaron 2 individuos positivos; uno de ellos G2 (color naranja), este paciente no presentó reacción alguna en T1 por ninguno de los 2 métodos ya que los valores registrados fueron inferiores a los 3mm mínimos para considerar cierto grado de alergia. Esto varió en T2 donde con 11mm (Sc) y 8mm (C) se ubicó con ambos en R3, sin embargo en grados de alergia con Sc se situó en C4 (+++), mientras que con C se posicionó en C3 (++) . Para finalmente en T3 obtener mediciones de 18mm (Sc) y 12mm (C), colocándose en el casillero R5 con el primer método y en R4 con el segundo método, a pesar de estar en rangos diferentes, estos sí coincidieron en grados de alergia con C4 (+++), por lo que se concluye que este can posee una sensibilidad moderada a muy sensible para el alérgeno *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Para el segundo can positivo G3 (color celeste), en T1 se ubicó por ambos métodos en R2 y C4 (+++), con valores de 6mm (Sc) y 5mm (C). En T2 esto se modificó ya que al incrementarse los valores, 8mm en Sc y 7mm en C, con el primer método el resultado se ubicó en R3 y con el segundo en R2, coincidiendo ambos en el grado C4 (+++). Finalmente en T3 se obtuvieron valores definitivos de 14mm (Sc) y 9,5mm (C), situándose en rangos diferentes, R4 y R3 respectivamente; sin embargo ambos coincidieron en el grado de alergia C4 (+++) durante los 3 tiempos de la prueba; concluyendo que en este



caso el paciente tiene una sensibilidad de mediana a moderada para el alérgeno del ácaro del polvo *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Tabla 15

Resultados del Prick Test en la raza Labrador Retriever

RAZA: L	RANGOS	RESULTADOS EN mm					GRADOS DE ALERGIA				
		R1	R2	R3	R4	R5	C1	C2	C3	C4	C5
TIPOS DE MEDICIÓN	TIEMPOS	0-2.9mm	3-7mm	7.1-11mm	11.1-15mm	15.1-18mm	(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)
MÉTODO SEMICUANTITATIVO (SC)	T1	5MIN	x				x				
	T2	10MIN	x				x				
	T3	15 MIN			x					x	
MÉTODO CUANTITATIVO (C)	T1	5MIN	x				x				
	T2	10MIN	x				x				
	T3	15 MIN		x						x	

Nota: Color morado= L1: D.p.

El único individuo positivo en la raza Labrador Retriever fue L1 (color morado). El cual no manifestó ninguna reacción cutánea en T1 y T2 ya que sus valores no superaron los 3mm mínimos para considerar que exista algún grado de alergia. Por el contrario en T3 sí se registraron alteraciones en Sc con 8mm ubicándose en R3, y en C con 7mm situándose en R2, con respecto a los grados de alergia ambos se ubicaron en C4 (+++), concluyendo que este individuo es medianamente sensible al alérgeno del ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Con el fin de mostrar cual fue el resultado final de la prueba en los individuos positivos, se elaboró la Tabla 16 donde se muestran los valores finales de los habones de histamina y de los habones de alérgenos a los que los pacientes reaccionaron, por medio de los 2 métodos aplicados, C y Sc.

Tabla 16

Clasificación de resultados generales positivos para el Prick Test

INDIVIDUOS POSITIVOS	DIÁMETROS FINALES HABONES DE:						INTERPRETACIÓN	ALÉRGENO
	HISTAMINA		ALÉRGENOS					
	C	SC	C		SC			
S2	10mm	15mm	4,5mm	(++)	6mm	(++)	Medianamente sensible	<i>D. pteronyssinus</i>
S4	9,5mm	13mm	10mm	(+++)	13mm	(+++)	Sensibilidad moderada	<i>D. farinae</i>
G2	13,5mm	18mm	12mm	(+++)	18mm	(+++)	Sensibilidad moderada a muy sensible	<i>D. farinae</i>
G3	11,5mm	14mm	9,5mm	(+++)	14mm	(+++)	Sensibilidad mediana a moderada	<i>D. pteronyssinus</i>
L1	10mm	13mm	7mm	(+++)	8mm	(+++)	Medianamente sensible	<i>D. pteronyssinus</i>

Nota: C: método cuantitativo. Sc: método semicuantitativo.

Como se observa en la Tabla 16, en este estudio 3 pacientes (S2, G3 y L1) de los 5 positivos resultaron tener algún grado de alergia para el alérgeno *D. pteronyssinus*, y los 2 restantes (S4 y G2) reaccionaron al alérgeno *D. farinae*.

Con respecto a la sensibilidad, se registraron 2 individuos (S2 y L1) como medianamente sensibles, mientras que G3 manifestó ser medianamente sensible pero con tendencia a tener una sensibilidad moderada; el paciente S4, mostró en concreto una sensibilidad moderada. Finalmente el can que manifestó la mayor respuesta alérgica fue G2, el cual de acuerdo a las mediciones resulto tener una sensibilidad de moderada a muy sensible hacia el alérgeno mencionado anteriormente.

#### 4.4 Evaluación de la razón de Fisher aplicada en la medición del control de histamina en todas las razas

Tras aplicar la razón de Fisher en los datos obtenidos de la medición del control de histamina a través de ambos métodos (C y Sc) en cada raza, se obtuvieron los resultados de la Tabla 17; donde se muestra si las mediciones tienen o no una correlación; para afirmar que exista correlación  $F_{Prueba}$  debe ser menor a  $F_{Tabla}$ , lo que significa que el método que se aplique para medir no interfiere de manera significativa en los resultados de la prueba; mientras que si se determina que no hay correlación  $F_{Prueba}$  debe ser mayor a  $F_{Tabla}$ , indicando

que la medición que se aplique sí tiene influencia en los resultados que se obtengan.

Finalmente cabe recalcar que se decidió aplicar un análisis intragrupo, ya que no es posible comparar entre razas al tener diferentes poblaciones en cada una.

Tabla 17

Resumen comparativo general de resultados  $F_{Prueba}$  y  $F_{Tabla}$  para el control de histamina en todas las razas y tiempos

RAZAS	TIEMPOS $F_{Prueba}/F_{Tabla}$								
	5min		C/NC	10min		C/NC	15min		C/NC
Schnauzer (S)	6,47	4,49	NC	18,229	4,49	NC	12,27	4,49	NC
Golden Retriever (G)	1,029	7,71	C	2,239	7,71	C	3,398	7,71	C
Labrador Retriever (L)	1,18	7,71	C	2,38	7,71	C	4,435	7,71	C
Akita Americano (A)	4,439	4,96	C	7,065	4,96	NC	12,38	4,96	NC
Boyero de Berna (B)	6,938	5,32	NC	22,26	5,32	NC	10,95	5,32	NC

*Nota:* C=Si hay correlación. NC=No hay correlación.

Como se ve en la Tabla 17, en este estudio, para la raza S con 9 pacientes se observó que no existe una correlación de resultados entre el método cuantitativo y semicuantitativo en ninguno de los 3 tiempos, lo cual indica que al realizar mediciones comparativas entre el habón de histamina y el posible habón formado por el alérgeno testeado, se debe escoger entre uno de los 2 métodos y aplicarlo durante toda la prueba, ya que si se usan de manera aleatoria los resultados pueden verse afectados.

Con respecto a las razas G y L ambas con 3 individuos cada una, en el 100% de los casos hubo correlación entre ambos métodos y en los 3 tiempos, esto indica que los resultados que se obtuvieron fueron similares, por lo tanto las muestras tienen características parecidas, y el método que se escoja para medir no fue influyente al momento de compararlo con el posible habón del alérgeno.

En la raza A con 6 canes, el 100% de individuos mostraron una correlación entre ambos métodos al ser comparados a los 5 minutos, sin embargo esto no ocurrió a los 10 y 15 minutos posteriores, lo cual significa que sí existen diferencias significativas entre las muestras en estos periodos, por lo que el método que se elija de igual manera debe ser el mismo en toda la prueba ya que el no tener uno fijo podrían alterarse los resultados.

Finalmente, en la raza B con 5 individuos en el 100% de los casos, sí existe una diferencia entre los resultados que arrojan ambas pruebas, por lo que al no haber una correlación entre las muestras en ninguno de los 3 tiempos, igualmente se debe aplicar el mismo método de medición para no afectar los datos resultantes.

## **4.5 Discusión**

### **4.5.1 Relación de las variables independientes y la raza**

Respecto a las variables independientes sexo, peso y alimentación; al tener muestras reducidas y variadas en cada una de las razas no fue viable determinar si estas fueron influyentes al momento de manifestar o no algún grado de reacción alérgica; sin embargo, el hábitat podría tomarse en cuenta como un factor a considerar, ya que para la reproducción y supervivencia de ácaros, es necesaria una temperatura de 25 °C y una humedad relativa del 50% (Reedy y Miller, 1989, p.57); en el caso de la zona de Tumbaco donde se elaboró este estudio, los promedios anuales de humedad relativa y temperatura son de 78.85% y 16,7°C respectivamente (INHAMI, 2014), por lo que el lugar cumple con al menos uno de los dos requisitos que favorecen el crecimiento de ácaros en concentraciones que pudiesen desarrollar síntomas de alergia en individuos predispuestos.

En la muestra general, el 50% de canes vivía en exteriores incluyendo a 3 positivos, y el 50% restante lo hacía en un ambiente mixto donde estaban los

otros 2 positivos, lo cual muestra que los individuos que habitaban en exteriores también estaban expuestos ácaros por las condiciones climáticas de la zona.

#### **4.5.2 Incidencia de los grados de alergia con la raza y edad**

En el presente estudio, el 19,23% de una muestra de 26 canes del Centro Canino "De Patas"; manifestó diferentes grados de alergia hacia los alérgenos de los ácaros de polvo *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae* mediante el método Prick Test, siendo 2 de las 3 razas afectadas, Golden Retriever con 2/3 y Labrador Retriever con 1/3, concordando con la investigación de DAC realizada por Shaw et al., 2004, en 429 perros de estas razas donde se determinó un 0,47% de heredabilidad demostrando el fuerte componente genético de esta enfermedad.

Con respecto a los 2 alérgenos testeados, el 60% presentó una sensibilidad hacia *Dermatophagoides pteronyssinus* con 2 pacientes de las razas Golden y Labrador Retriever, ambos con (+++) grados de alergia cada uno, el tercer can fue de la raza Schnauzer y manifestó (++) grados de alergia ante dicho alérgeno; mientras que el 40% restante tuvo una sensibilidad hacia *Dermatophagoides farinae* donde los 2 individuos fueron de las razas Schnauzer y Golden Retriever, ambos con (+++) grados de alergia. Estos porcentajes concuerdan con la investigación realizada en la ciudad de México con el fin de identificar cuáles alérgenos provocaban DAC con mayor frecuencia en esa localidad, aplicando el test de intradermorreacción a 250 pacientes, testeando 71 tipos de alérgenos en cada perro, incluidos estos 2 tipos de ácaros del polvo. Como resultado, 175 casos (70%) tuvieron reacciones positivas, siendo el 14,43% pertenecientes al grupo de insectos y ácaros del polvo, donde el *D. pteronyssinus* se destacó como alérgeno individual con 51,72%, mientras que el *D. farinae* lo hizo con el 41,37% (Nolasco et al., 2005, pp.2-3).

En relación a la edad, el 40% de pacientes se ubicó en el rango de 6-24 meses con 2 individuos de razas Schnauzer y Golden, otro 20% fue conformado por 1 Labrador de 25-41 meses, y el 40% restante fueron 2 canes de razas Schnauzer y Golden con 42-60 meses, lo cual según los criterios de Favrot para manifestar DAC supera el límite de los 3 años, sin embargo de acuerdo con Gross et al., 2005, pp.200-201, estas edades no superaron los 7 años límites para presentar signos clínicos, por lo que sí se consideró a estos canes como positivos ambos para *D. pteronyssinus*.

#### **4.5.3 Análisis de los 2 métodos de medición: cuantitativo y semicuantitativo**

Tras evaluar las mediciones de histamina obtenidas en este estudio, y a pesar de que en las razas Golden y Labrador Retriever hubo correlación en los 3 tiempos; se evidenció que en el resto de razas no hubo correlación constante; estos resultados imposibilitan que se pueda determinar cuál de los 2 es el más idóneo; sin embargo por tiempos, a los 5 minutos el 60% de datos si tuvieron una correlación, mientras que a los 10 y 15 minutos el porcentaje bajó al 40%; en base al trabajo de campo esta disminución en el porcentaje puede ser atribuida a la incomodidad de los canes por permanecer inmovilizados durante los 10 y 15 minutos finales, donde la mayoría comenzó a manifestar signos de estrés dificultando la medición, de igual manera por la baja sensibilidad del calibrador. Por esto es recomendable que se defina previamente que método se va a usar para que el resultado y la interpretación sean lo más objetivos posibles.

#### **4.5.4 Evaluación de la interpretación de resultados**

Para la interpretación objetiva de los niveles de sensibilidad manifestados por los 5 pacientes positivos, fue necesario evaluar en conjunto a las mediciones en cruces con los resultados en milímetros, ya que unos pocos milímetros de diferencia entre el habón de histamina y el habón de alérgeno, como ocurrió

con los canes G2 y G3, marcó la pauta para que una sensibilidad tenga la tendencia a ser más severa, dependiendo de la exposición que tenga el animal al ácaro al que fue positivo.

Igualmente un monitoreo constante durante los 3 tiempos fue de gran ayuda para observar el desarrollo de la reacción cutánea que presentaron los canes positivos, ya que se pudo documentar que en el caso de G2, este no presentó reacción alguna a los 5 minutos (T1) e incluso existieron pacientes como S2 y L1 los cuales no tuvieron ninguna reacción cutánea a los 5 minutos (T1) y 10 minutos (T2) y fue solo durante los 15 minutos (T3) cuando se pudo observar la sensibilidad de estos canes, por lo que sí es fundamental establecer previamente los rangos de tiempos, para poder apreciar el desarrollo de las reacciones.

#### **4.5.5 Evaluación de la utilidad de la prueba Prick Test**

De acuerdo con este estudio, se pudo determinar que el Prick Test, es útil en casos donde el profesional veterinario se enfrente a un individuo cuya raza sea predisponente a manifestar signos de alergia como ocurrió con 2/3 pacientes Golden Retriever y 1/3 Labrador Retriever, mas no se pudo definir su utilidad en canes que presenten signos; ya que esta investigación fue desarrollada con pacientes aparentemente sanos. Cabe recalcar, que este test sirve de ayuda siempre y cuando no se la tome como método de diagnóstico definitivo, sino como un apoyo que se complementa en conjunto con la historia y signos clínicos del paciente, ya que los test positivos, incluso con la formación de grandes habones, se pueden dar sin la manifestación de signos clínicos, como ocurrió con los canes estudiados, donde el test fue capaz de detectar la presencia de anticuerpos IgE específicos hacia los alérgenos de los ácaros del polvo, y por ende predecir los posibles signos de alergia en un futuro; esto se puede denominar de acuerdo con el Manual de Diagnóstico de Enfermedades Alérgicas a través del método Prick Test de Smith, 2013, p.21. cómo una "sensibilización clínicamente silenciosa".

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Este estudio permitió observar el desarrollo de las reacciones cutáneas, durante los 3 tiempos (T1, T2 y T3), mediante la evaluación en conjunto de los resultados en milímetros y cruces, para realizar una interpretación objetiva de los niveles de sensibilidad.

Con los resultados en milímetros, y por medio del cálculo con regla de tres, se obtuvieron los porcentajes de habones de alérgenos *D. farinae* y *D. pteronyssinus* en relación a los de histamina, ubicándolos según los grados o cruces de alergia, encontrando 5 pacientes positivos, clasificándolos de acuerdo a la sensibilidad presentada, hallando 2 de ellos como medianamente sensibles, 1 con sensibilidad moderada, 1 con sensibilidad mediana a moderada y el último con sensibilidad moderada a muy sensible.

En este estudio, la incidencia de alergia a ácaros del polvo de acuerdo a la raza de los pacientes positivos, fue de 2/9 en la raza Schnauzer, 2/3 Golden y 1/3 Labrador, el 60% manifestó una reacción cutánea hacia *Dermatophagoides pteronyssinus* y 40% restante lo hizo para *Dermatophagoides farinae*; considerando la edad, 2 pacientes Schnauzer y Golden de 6-24 meses tuvieron una reacción cutánea para *D.f.*, 1 Labrador de 25-41 meses para *D.p.*, y 2 canes de razas Schnauzer y Golden entre 42-60 meses reaccionaron para *D.p.*.

Con este estudio se evidenció la utilidad del método Prick Test para el diagnóstico precoz de alergia a estos 2 tipos de ácaros del polvo, especialmente para pacientes sanos y cuya raza tenga predisposición genética respaldada por estudios.



A pesar de que el Prick Test fue capaz de detectar la presencia de anticuerpos IgE específicos hacia los alérgenos de los ácaros del polvo, en individuos sin signos clínicos de alergia, este no debe ser tomado como método de diagnóstico definitivo, sino como un apoyo que complemente la historia y signos clínicos del paciente.

Con la aplicación del test de Fisher se demostró que en todas las razas y tiempos no hubo una correlación constante entre los resultados de los 2 métodos de medición: cuantitativo y semicuantitativo, por lo que el método que se escoja debe ser aplicado durante toda la prueba.

## 5.2 Recomendaciones

Se recomienda que el profesional veterinario que realice el Prick Test, además de haber recibido una capacitación previa, también deba tener conocimientos generales sobre enfermedades alérgicas, los alérgenos relevantes en el área, y la correcta interpretación de los resultados de esta prueba.

Se debe recalcar a los propietarios que un Prick Test con resultado positivo no es capaz de predecir la naturaleza de los signos de alergia; ya que diferentes pacientes con resultados positivos hacia la misma sustancia pueden reaccionar de diferentes maneras tras la exposición a él/los alérgenos o incluso no presentar ninguna reacción.

Se debe considerar que como toda prueba usada en medicina clínica el Prick Test es solo una parte de la evaluación integral de un paciente, ya que si el resultado no concuerda con las manifestaciones clínicas, puede haber motivos para repetir el test bajo diferentes condiciones o incluso recurrir a otros métodos como la serología.

Es recomendable que para futuros estudios, se consideren muestras más representativas en razas como Golden Retriever y Labrador Retriever, las cuales según la bibliografía consultada son las que tienen una mayor predisposición genética para desarrollar dermatitis atópica.

Para criaderos de razas con predisposición genética, sería ideal realizar este tipo de prueba cutánea en los reproductores, usando los alérgenos de ácaros del polvo, ya que de esta manera se evitará que las camadas futuras manifiesten este tipo de alergia en sus primeros años de vida.

Durante toda la prueba se debe procurar que el paciente se encuentre en un ambiente tranquilo y sin distracciones, igualmente se lo debe inmovilizar sin

demasiada fuerza, para asegurar el menor estrés posible y facilitar la medición de resultados.

## REFERENCIAS

- Alamar, R., Sierra, C., Zaragoza, V. y Olaya, V. (2012). *Prick-test en el diagnóstico de alergia cutánea. Enfermería Dermatológica*. Valencia, España: Unidad De Alergia Hospital General de Castellón y Servicio de Dermatología Hospital General Universitario de Valencia.
- AllergyClinic. (s.f.). *Diagnosing Allergic Diseases*. Recuperado el 16 de mayo de 2016 de [http://www.allergyclinic.co.nz/diagnosis\\_allergies.htm](http://www.allergyclinic.co.nz/diagnosis_allergies.htm)
- ALK-ABELLÓ (s.f.). *Productos*. Recuperado el 16 de julio de 2015 de [http://www.alkabello.com/ES/productos/diagnostico/in\\_vivo/Pages/Lancetas.aspx](http://www.alkabello.com/ES/productos/diagnostico/in_vivo/Pages/Lancetas.aspx)
- ALK-ABELLÓ (s.f.). *Lecturas e interpretación de los tests cutáneos*. Recuperado el 23 de septiembre de 2015 de <http://www.alkabello.com/ES/profesionales/pricktest/lecturaseinterpretacion/Pages/welcome.aspx>
- Barata, H. (2015). *Batería mínima de alérgenos en el Prick Test su justificación*. Asociación de Alergia, Asma e Inmunología (aaiba). Buenos Aires, Argentina.
- Bernstein, I., Li, J., Bernstein, D., Hamilton, R., Spector, S. et al. (2008). *Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter*. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* ELSEVIER 100(3 Suppl 3):S1–S148.
- Blackley, C. (1873). *Experimental researches on the causes and nature of catarrhus aestivus*. Londres, Inglaterra: Tindal & Cox.
- Botelho, P., Andrade, G., Tilley, P., Pacheco, J. y Sales, L., Correa, M. y Branco, F. (2013). *Proceedings of the 59th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners: First Report of the Use of Skin Prick Test Diagnostic Technique in Horses*. Recuperado el 2 de septiembre de 2015 de: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2013/Tilley.pdf>
- Bousquet, J., Chanez, P., Chanal, I. y Michel, F. (1990). *Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: a new automated specific IgE assay*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 85(6):1039–1043.

- Braso, J. y Jorro, G. (2003). *Pruebas cutáneas y otras exploraciones in vivo con alérgenos*. Barcelona, España: Manual de Alergia Clínica Masson; p.63-69.
- Chamberlain, K. (1974). *Atopic (allergic) dermatitis*. *Veterinary Clinics of North America*; 4: 29-39.
- Carr, W., Martin, B., Howard, R., Cox, L. y Borish, L. (2005). *Comparison of test devices for skin prick testing*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 116(2):341–346.
- Chung, B., Kim, H., Park, C. y Lee, C. (2010). *Diagnostic usefulness of the serum specific IgE, the skin prick test and the atopy patch test compared with that of the oral food challenge test*. *Annals of Dermatology* 22(4):404–411.
- Demoly, P., Bousquet, J. y Romano, A. (2003). *In vivo methods for the study of allergy*. In *Middleton's Allergy - Principles and Practice*. (6.<sup>a</sup> ed.) Filadélfia, Estados Unidos: Mosby; 430–439.
- Demoly, P., Bousquet, J., Manderscheid, J., Dreborg, S., Dhivert, H. y Michel, F. (1991). *Precision of skin prick and puncture tests with nine methods*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 88(5):758–762.
- Dirksen, A., Malling, H., Mosbech, H., Soborg, M. y Biering, I. (1985). *HEP versus PNU standardization of allergen extracts in skin prick testing: A comparative randomized in vivo study*. *Allergy* 40(8):620–624.
- Ebruster, H. (1959). *The prick test, a recent cutaneous test for the diagnosis of allergic disorders*. *Wien Klin Wochenschr* 551–554.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W. y Picco, F. (2010). *A prospective study on the Clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis*. *Veterinary Dermatology*. 21:23-31.
- Foster A. y Foil C. (2008). *Manual de dermatología en pequeños animales y exóticos*. (2.<sup>a</sup> ed.). Barcelona, España: Ediciones S Segunda Edición.
- Gross, T., Ihrke, P., Walder, E. y Affolter, V. (2005) *Skin diseases on cat and dog*. (2.<sup>a</sup> ed.). Ciudad de Singapur, Singapur: Blackwell.

- Halliwell, R. (2009). *Allergic skin diseases in cats and dogs EJCAP, Vol. 19, Issue 3*. Roslin, Midlothian, Reino Unido. School of Veterinary Studies, Easter Bush Veterinary Centre, EH25 9RG.
- Halliwell, R. (2009) *The immunopathogenesis of allergic skin diseases in dogs and cats*. Roslin, Midlothian, Reino Unido. School of Veterinary Studies, Easter Bush Veterinary Centre, EH25 9RG.
- Halliwell, R. (2006). *Revised nomenclature for veterinary allergy*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 114: 207-208.
- Hart, B. (1998) *Life cycle and reproduction of house-dust mites: environmental factors influencing mite populations*. PUBMED. Recuperado el 19 de Julio de 2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10096801>
- Heinzerling, L., Mari, A., Bergmann, K., Bresciani, y M., Burbach, G. et al. (2013). *The skin prick test – European standards, Clinical and Translational Allergy*. Erlangen, Alemania: Recuperado el 2 de julio de 2015 de <http://www.ctajournal.com/content/pdf/2045-7022-3-3.pdf>
- Hightower, K., Marsella, R., Creary, E. et al. (2008). *Evaluation of transepidermal water loss in canine atopic dermatitis: a pilot study in Beagle dogs sensitized to house dust mites*. Palm Springs, California: The 23rd Proceedings of the North American Veterinary Dermatology Forum.
- Hill, P. y DeBoer, D. (2001). *The ACVD task forcé on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 81 (3-4): 169-186.
- Hill., P., Eden, C., Huntley, S., Morey, V., Ramsey, S., Richardson, C. et al. (2006). *Survey of the prevalence and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice*. *Veterinary Rec.*; 158:533-539.
- Hill, D., Heine, R. y Hosking, C. (2004). *The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy*. *Pediatric Allergy and Immunology* 15(5):435–441.

- Hill, P. Moriello, K., y DeBoer, D. (1995). *Concentrations of total serum IgE, IgA and IgG in atopic and parasitized dogs*. Veterinary Immunology and Immunopathology 44 (2): 105-113.
- Inman, A., Olivry, T., Dunston, S., Montiero-Rivierre, N. y Gatto, H. (2001). *Electron microscopic observations of stratum corneum intercellular lipids in normal and atopic dogs*. Veterinary Pathology; 38: 720-723.
- Inmunodiagnóstico. (s.f.). *Alérgenos Prick Test*. Recuperado el 13 de marzo de 2016 de <http://www.inmunodiagnostico.cl/producto/alergenos/prick-test/prick-test/>
- Instituto Nacional de Meteorología (INAMHI). (2014). *Anuario Meteorológico N.51-2011. Quito, Ecuador*. Recuperado el 7 de abril de 2016 de <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/anuarios/meteorologicos/Am%202011.pdf>
- Jackson, H., Miller, H., y Halliwell, R. (1996). *Canine leukocyte histamine release: response to antigen and to anti IgE*. Veterinary Immunology and Pathology 53(3-4): 195-206.
- Lockey, R., Benedict, L., Turkeltaub, P. y Bukantz, S. (1987). *Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST)*. Journal of Allergy and Clinical Immunology 79(4):660–677.
- Machicote, G. (2011). *Dermatología canina y felina*. Navarra, España: SERVET, Grupo Asis Biomedica S.L.
- Marsella, R., Nicklin, C. y López, J. (2006). *Studies on the role of route of allergen exposure in high IgE- producing Beagle dogs sensitized to house dust mites*. Veterinary Dermatology 17(5): 306-312.
- Marsella, R., Samuelson, D., y Harrington, L. (2008). *Evaluation of fillagrin expression in sensitized atopic Beagles and in normal controls before and after allergen exposure*. Hong Kong, China. Advances in Veterinary dermatology, 6th World Congress.
- Marsella, R. y Girolomoni, G. (2009). *Canine models of atopic dermatitis: A useful tool with untapped potential*. Journal of Investigation: Dermatology; 19:2351-2357.

- Martínez, A., Muñoz, J. y Pascual, A. (2004). *Tamaño de muestra y precisión estadística*. Almería, España. Monografías Ciencia y Tecnología.
- Miller W., Griffin C. y Campbell K. (2013). Muller and Kirk's *Small animal dermatology*. (7.<sup>a</sup> ed.). Hong Kong, China: ELSEVIER.
- Nelson, H., Knoetzer, J. y Bucher, B. (1996). *Effect of distance between sites and region of the body on results of skin prick tests*. Journal of Allergy and Clinical Immunology 97(2):596–601.
- Nodtvedt, A. Bergvall, K. Sallander, M. et al. (2007). *A case control study of risk factors of canine atopic dermatitis among boxer, bullterrier and West Highland white terrier dogs in Sweden*. Veterinary Dermatology, Wiley Online Library 18(5): 309-315.
- Nolasco, L., Carrera, R. y Martínez, R. (2005). *Pruebas de intradermorreacción en la Ciudad de México: Frecuencia de alergen*os. Recuperado el 8 de febrero del 2016 de <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2005/19.pdf>
- Noli, C. (2011). *Dermatitis Atópica Canina: Los avances recientes en nuestra comprensión de su patogénesis, diagnóstico y tratamiento*. Barcelona, España: Eukanuba Veterinary Diaries.
- Olivry, T, DeBoer, D. y Griffin, C. (2001). *The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon*. Veterinary Immunology Inmunopathology 81, 143-5.
- Pepys, J. (1975). *Skin testing*. British Journal of Hospital medicine; 14: 412-6.
- Piette, V., Bourret, E., Bousquet, J. y Demoly, P. (2002). *Prick tests to aeroallergens: is it possible simply to wipe the device between tests?*. Allergy 57 (10):940–942.
- Prélaud, P. Guaguére, E. Alhaidari, Z. et al. (1998). *Reevaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis*. Revue de Médecine Vétérinaire 149, 1057-64.
- Reedy L. y Miller W. (1989). *Allergic skin disease in dogs and cats*. Filadélfia, Estados Unidos: W.B. Saunders Company ISBN 0-7216-2432-4.



- Riezzo, I., Bello, S., Neri, M., Turillazzi, E. y Fineschi, V. (2010). *Ceftriaxone intradermal test-related fatal anaphylactic shock: a medico-legal nightmare*. *Allergy* 65(1):130–131.
- Shaw, S., Wood, J., Freeman, J., Littlewood, J. y Hannant, D. (2004). *Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers*. *American Journal of Veterinary Research* 65: 1014-20.
- Smith, W. (2013). *Skin Prick Test for the diagnosis of allergic disease*. Australian Society of Clinical Immunology and Allergy inc. (ASCI).
- Sousa, C. y Marsella, R. (2001). *The ACBD task forcé on canine atopic dermatitis (II): genetic factors*. *Veterinary Immunology Inmunopathology* 81, 155-7.
- Ten, R., Klein, J. y Frigas E. (1995). *Allergy skin testing*. Mayo Clinic Proceedings, Journal ELSEVIER, 70(8):783–84.
- Tizard, I. (2000). *Inmunología Veterinaria*. (6.<sup>th</sup> ed.) Pennsylvania, Estados Unidos: McGraw-Hill.
- Van der Zee, J., De, G., Van, S., Jansen, H. y Aalberse, R. (1988). *Discrepancies between the skin test and IgE antibody assays: study of histamine release, complement activation in vitro, and occurrence of allergenspecific IgG*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 82(2):270–281.
- Vohlonen, .I, Terho, E., Koivikko, A., Vanto, T., Holmen, A. y Heinonen, O. (1989). *Reproducibility of the skin prick test*. *Allergy*, 44(8):525–531..
- Willemse, A. (1986). *Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria*. *Journal of Small Animal Practice* 27, 771-8.
- Williams, P., Dolen, W., Koepke, J. y Selner, J. (1992). *Comparison of skin testing and three in vitro assays for specific IgE in the clinical evaluation of immediate hypersensitivity*. *Annals of Allergy* 68(1):35–45.
- Wohrl, S., Vigl, K., Zehetmayer, S., Hiller, R., Jarisch et al. (2006). *The performance of a component-based allergen-microarray in clinical practice*. *Allergy* 61(5):633–639.

- Wood, R., Phipatanakul, W., Hamilton, R. y Eggleston, P. (1999). *A comparison of skin prick tests, intradermal skin tests, and RASTs in the diagnosis of cat allergy*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 103(5 Pt 1):773–779.
- Youn, H., Kang, H., Bhang, D. et al. (2002). *Allergens causing atopic diseases in canine*. *Journal of Veterinary Science* 3 (4): 335-341.

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Hoja de registro para datos clínicos de los pacientes.

### EXAMEN FISICO GENERAL:

Nombre del Paciente:

Raza:

<b>PESO:</b>	<b>TEMPERATURA:</b>	<b>MUCOSAS:</b>
<b>FC:</b>	<b>LINFONODOS:</b>	<b>TLLC:</b>
<b>FR:</b>	<b>CAMPOS PULMONARES:</b>	<b>PULSO:</b>
<b>RETORNO DEL PLIEGUE CUTANEO:</b>	<b>PALPACIÓN ABDOMINAL:</b>	<b>REFLEJO PUPILAR:</b>
<b>NOTAS:</b>	<b>REFLEJO DEGLUTORIO:</b>	<b>REFLEJO TUSÍGENO:</b>

### EXAMEN DERMATOLOGICO:

<b>PARASITOS:</b>	<b>CALIDAD DE PELO:</b>	
<b>PRESENCIA DE ALOPECIA:</b>		
Distribución:		
<b>LESIONES PRIMARIAS</b> (mácula, pápula, quiste, roncha, tumor, nódulo):		
Distribución:		
<b>LESIONES SECUNDARIAS</b> (escamas, costra, cicatriz, enrojecimiento, comedones, callo, liquenificación, hiper/hipopigmentación):		
Distribución:		
<b>PRURITO:</b>		
<b>ESTADO DE PULPEJOS:</b>	<b>NARIZ:</b>	<b>OIDOS:</b>
<b>MUCOSAS:</b>		
<b>ZONA PERIANAL:</b>	<b>ANEXOS:</b>	
<b>COLOR:</b>	<b>OLOR</b> (rancio, sebo):	
<b>SONIDO</b> (chapoteo, crepitante):	<b>TACTO</b> (crepitante fluctuante, endurecimiento, áspero, seco, graso, asimetrías):	
<b>NOTAS:</b>		

**Anexo 2. Hoja de registro de datos y resultados del Prick Test.**

**PRUEBA CUTANEA "PRICK TEST"**

Fecha:

Propietario:

Dirección:

Nombre del paciente:

Raza:

Edad: (meses)

Sexo: Castrado/Entero

Vacunas: Desparasitación:

Tipo de alimentación:

Hábitat:

Convive con otras mascotas?:

Consumo algún tipo de fármaco o medicamento? (antihistamínicos, corticoides, ácidos grasos? Cuál?:

TIEMPOS	HISTAMINA +		SOLUCION SALINA -	<i>D. Farinae</i> 1		<i>D. Pteronyssinus</i> 2	
	M. C.	M. SC.		M.C.	M. SC.	M.C.	M. SC.
	5 MIN.						
10 MIN.							
15 MIN.							

### Anexo 3. Autorización del propietario para aplicar el Prick Test en su mascota.

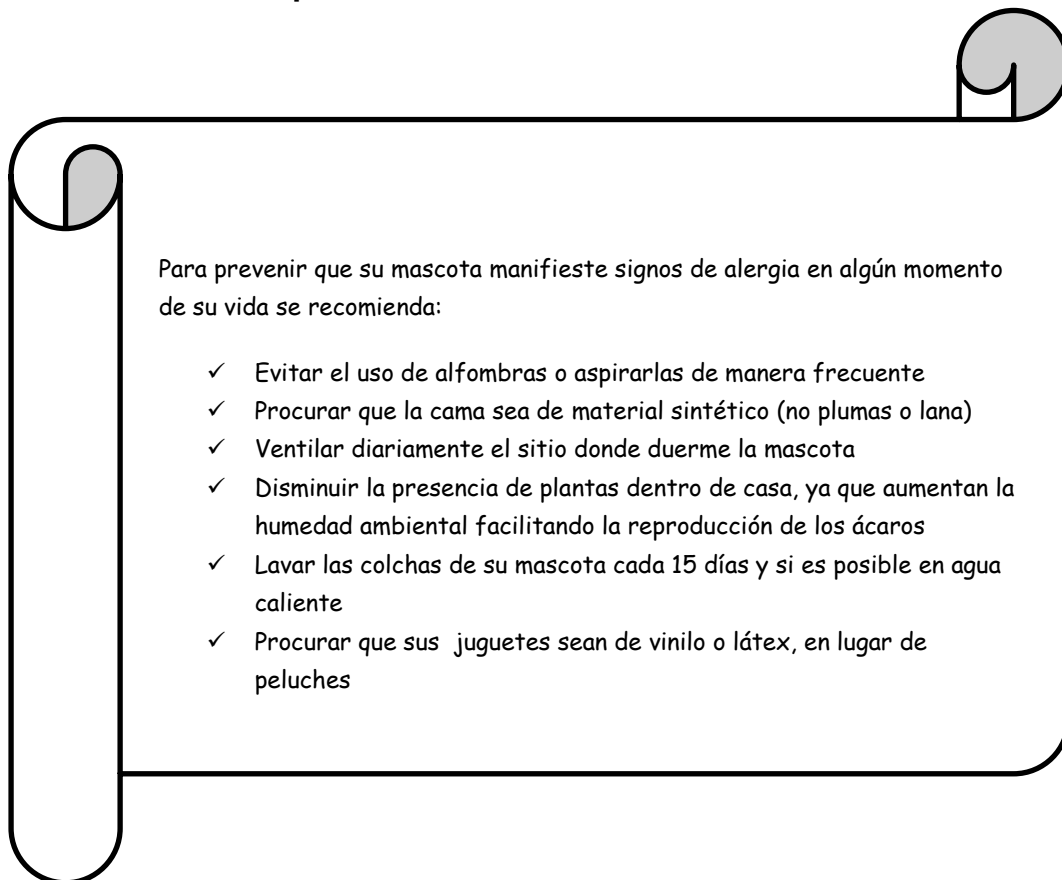
Quito,.....de..... del.....

Yo....., con  
C.I..... autorizo a la Srta.  
Estefanía Gálvez Grijalva egresada de la carrera de Medicina Veterinaria y  
Zootecnia de la Universidad de las Américas (UDLA), para que realice la  
prueba cutánea "Prick Test" ante los ácaros del polvo, a mi mascota  
..... de raza ..... sexo..... y  
edad.....

Atentamente,





F: .....

### Anexo 4. Folleto de prevención.



## Anexo 5. Tríptico informativo para los propietarios.

<p style="text-align: center;"><b>"PRICK TEST"</b> <b>PRUEBA ALERGICA</b> <b>CONTRA LOS</b> <b>ACAROS DEL POLVO</b></p> 		<p>MENSAJE: Al realizar esta prueba cutánea en su mascota usted está previniendo que su mejor amigo tenga predisposición a desarrollar una alergia a futuro que pudiese afectar su calidad de vida</p> <p style="text-align: center;"><i>"LA CLAVE DE UNA BUENA SALUD ES LA PREVENCIÓN"</i></p>  <p style="text-align: center;">Estefanía Gálvez Grijalva Egresada de Medicina Veterinaria y Zootecnia</p> 
---	--	---

<p>En el polvo casero podemos encontrar una gran variedad de componentes incluidas las 36 especies de ácaros (arácnidos) siendo <i>D. farinae</i> y <i>D. pteronyssinus</i> las más importantes y principales causantes de alergia</p>  <p>En los perros, a diferencia de los humanos, los síntomas de alergia al polvo y demás sustancias inhalantes se manifiesta principalmente a través de la piel con una enfermedad llamada "dermatitis atópica" o DAC; cuyos síntomas son comezón excesiva, enrojecimiento e inflamación cutánea, lesiones, costras, etc., en cara, patas, orejas y vientre</p> <p>Esta patología se presenta en animales de entre 6 meses a 5 años, genéticamente predispuestos, es decir, con tendencia hereditaria a desarrollar reacciones alérgicas; la única manera de diagnosticarlo es a través de una prueba alérgica</p> <p>En la actualidad la llamada "teoría de la higiene", ha provocado que la exposición de nuestras mascotas a bacterias y parásitos disminuya, en conjunto con prácticas de excesiva limpieza y uso de detergentes antibacteriales que han ido afectando la barrera de protección que tiene la piel, volviéndola más susceptible</p>	<p>El método "Prick Test" es una prueba in vivo, es decir que se la realiza de manera directa en el paciente, teniendo como ventaja que es mínimamente invasivo, proporciona resultados inmediatos y ofrece una confirmación objetiva de sensibilidad ante alérgenos; siendo también útil para detectar una predisposición a desarrollar enfermedades atópicas</p> <p>Los resultados que arroje esta prueba se manifiestan de manera local, por lo que no existe ningún riesgo de que el paciente presente una reacción generalizada que pudiese poner en riesgo su salud y bienestar</p> 	<p style="text-align: center;"><b>PROTOCOLO:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1-Se rasura el área lateral del tronco (5x5cm)</li> <li>2-Limpiamos el área con antiséptico</li> <li>3- Se sujeta al animal suavemente y delimitamos con un marcador las zonas donde vamos a inocular</li> <li>4-Colocamos en cuatro puntos diferentes 1 gota de: <ul style="list-style-type: none"> <li>-Alérgeno <i>Dermatophagoides farinae</i></li> <li>-Alérgeno <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i></li> <li>-Sulfato de histamina (control positivo)</li> <li>-Solución salina (control negativo)</li> </ul>  </li> <li>5- Presionamos durante 1 segundo con una lanceta de metal a través de cada gota, sin provocar sangrado ya que puede inducir a errores</li> <li>6- Esperamos de 15 minutos para evaluar los resultados localmente</li> </ol> 
--	---	---

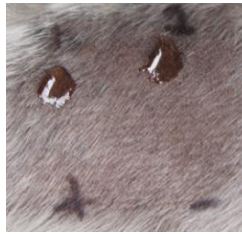
## Anexo 6. Imágenes del procedimiento de aplicación del Prick Test



Señalar los 4 puntos para la inoculación de los 2 alérgenos y los 2 controles (+) v (-)



Inocular con jeringas de insulina: 0,10 cc de histamina en el punto (+) y 0,10cc de solución salina en el punto (-)



Dejar caer sobre la piel 1 gota de cada alérgeno en los puntos 1 (D.f.) y 2 (D.p.)



Pinchar con una lanceta individual a través de la gota de cada uno de los 2 alérgenos



Medir los diámetros de los habones de histamina y alérgenos, cada 5, 10 y 15 minutos



RESULTADO POSITIVO



RESULTADO NEGATIVO



Registro de resultados con cinta celofán



**Anexo 7. Inspección física del paciente.**



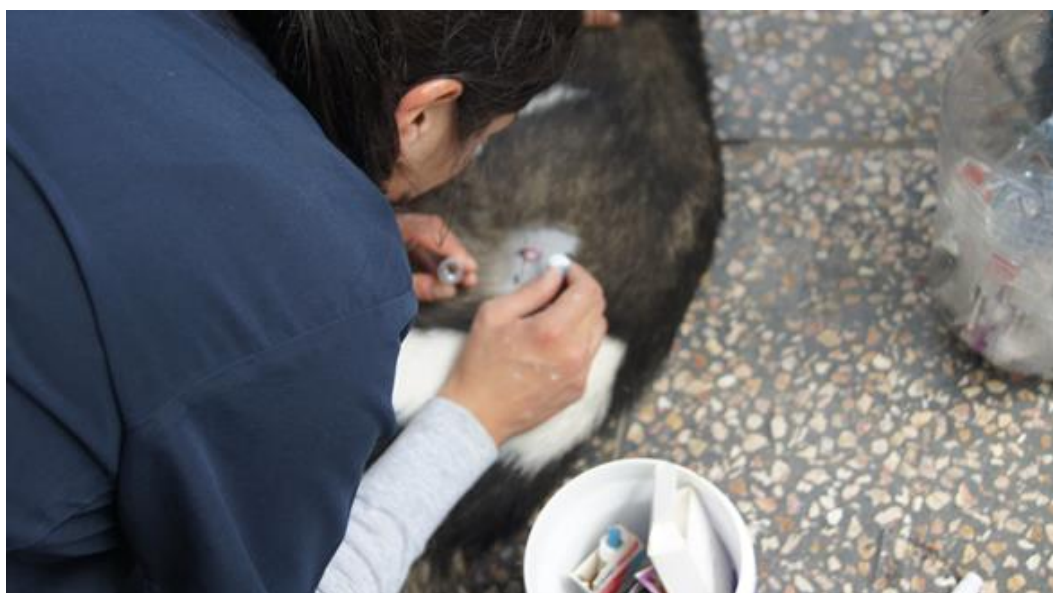
**Anexo 8. Inspección dermatológica del paciente.**



## Anexo 9. Mesa de trabajo y materiales



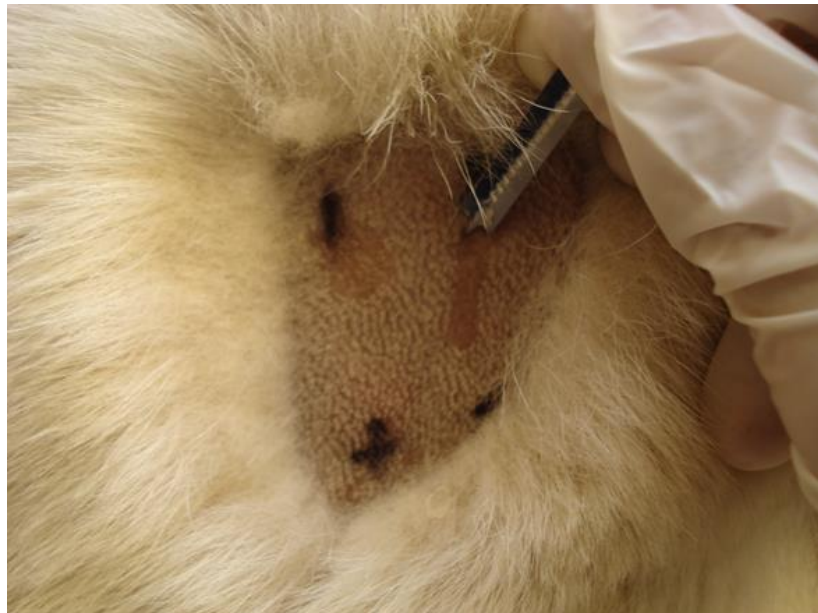
## Anexo 10. Aplicación de alérgenos en la piel del paciente



**Anexo 11. Aplicación de inyección subcutánea del control negativo de solución salina.**



**Anexo 12. Presión con lanceta de metal a través de la gota de alérgeno.**





**Anexo 13. Monitoreo de la reacción cutánea con fuente de luz.**



**Anexo 14. Medición de resultados con el calibrador.**



**Anexo 15. Registro de resultados con cinta celofán.**



**Anexo 16. Paciente al finalizar el Test de Prick.**

