

## Serology in laboratory diagnostics of skin allergic diseases in dogs and cats

Szczepanik M., Wilkołek P., Sub-Department of Clinical Diagnostic and Veterinary Dermatology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The aim of this paper was to present serological approach to diagnostics of skin allergic diseases in companion animals. The most often recognized allergic skin diseases in dogs and cats are food allergy, flea hypersensitivity and atopic dermatitis. Several diagnostic methods, namely: intradermal skin test (IDST), patch tests, basophil degranulation tests and measuring the IgE and IgG levels are available. Here, serological methods for atopic dermatitis and food allergy are presented and described. Recently, detection of circulating allergen-specific IgE (and IgG) antibodies by ELISA has been proposed as an alternative for IDST and ELISA-based screening tests for allergen groups are also available.

Studies comparing the intradermal skin test and ELISA have suggested that there is a poor correlation, as normal or parasitized dogs may give false-positive reactions by ELISA, and dogs with atopic dermatitis may give false-negative results. Improved tests based on the use of monoclonal antibodies to IgE or identification of IgE using biotinylated FcεR1α chain have emerged, but even these tests do not completely correlate to intradermal skin test, with sensitivity and specificity for ELISA varying between different antigens. Allergen-specific IgE to dust mites has been identified in both normal and atopic cats, therefore allergen-specific ELISA correlates poorly in with intradermal skin test in this species. In dietary hypersensitivity there is poor correlation between the presence of allergen-specific IgE or IgG and clinical presentation of an individual case.

**Keywords:** allergic skin diseases, serological methods, ELISA, dog, cat.

Alergiczne choroby skóry u psów i kotów są coraz powszechniejszymi problemami klinicznymi. W przypadku tych gatunków jedną z najczęściej rozpoznawanych chorób alergicznych jest atopowe zapalenie skóry. W przypadku kotów jest ono określane jako alergiczne zapalenie skóry niewywołane alergią pokarmową i uczuleniem na pchły (1). U obu gatunków często jest też rozpoznawana alergia pokarmowa. Diagnostyka tych chorób jest złożona. Dużą rolę, szczególnie w odniesieniu do atopowego zapalenia skóry, odgrywa obraz kliniczny choroby, a rozpoznanie stawiane jest na podstawie kryteriów diagnostycznych. W przypadku alergii pokarmowej dominujące znaczenie w diagnostyce przypisuje się diecie eliminacyjnej i próbie prowokacyjnej (2). Ponieważ w patogenezie każdej z wymienionych

## Diagnostyka serologiczna alergicznych chorób skóry u psów i kotów

Marcin Szczepanik, Piotr Wilkołek

z Zakładu Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

jednostek chorobowych odgrywa rolę nadwrażliwość typu natychmiastowego zależna od przeciwciał IgE (i/lub IgG), w diagnostyce pomocniczo wykorzystuje się oznaczanie miana swoistych przeciwciał. Celem tego artykułu jest przybliżenie informacji na temat zastosowania metod serologicznych stosowanych w diagnostyce wybranych chorób alergicznych skóry u psów i kotów, ze zwróceniem uwagi na użycie tych metod oraz ich ograniczenia.

### Diagnostyka serologiczna w rozpoznawaniu atopowego zapalenia skóry u psów

Atopia definiowana jest jako genetyczna predyspozycja do rozwoju alergii IgE-zależnej, polegającej na wytwarzaniu swoistych przeciwciał klasy IgE w odpowiedzi na niskie stężenia alergenów powszechnie występujących w środowisku, na które u większości osobników zdrowych nie rozwija się reakcja IgE-zależna. Natomiast atopowe zapalenie skóry (AZS) jest zapalną, przewlekłą i nawracającą chorobą skóry, w której głównym objawem podmiotowym jest uporczywy świąd, a zmiany cechuje typowa lokalizacja i obraz kliniczny. Diagnostyka choroby w przypadku psów opiera się głównie na kryteriach klinicznych. Opracowano kilka rodzajów tych kryteriów – według Willemse, według Prelud'a i najnowsze obecnie obowiązujące według Favrota (3). Diagnostyka alergologiczna ma więc tutaj charakter pomocniczy i służy przede wszystkim ustaleniu czynnika uczulającego w celu jego wyeliminowania ze środowiska zwierzęcia (co w większości przypadków jest zwykle niemożliwe) lub też do przygotowania zestawów do immunoterapii swoistej.

W diagnostyce alergologicznej stosuje się dwie podstawowe metody: testy skórne (najpowszechniej używa się testów śródskórnych, chociaż istnieje również możliwość stosowania testów naskórnych) oraz oznaczanie miana swoistych przeciwciał. Jak dotychczas, za bardziej miarodajne uważane są testy śródskórne, ale diagnostyka serologiczna jest coraz powszechniej wykorzystywana w ustalaniu czynników uczulających. W metodach tych stosowane jest oznaczanie poziomu swoistych przeciwciał IgE i IgG. Testy te najczęściej

wykorzystują metodę ELISA (4, 5). Porównując wyniki testów śródskórnych z oznaczaniem mian swoistych przeciwciał, uzyskuje się zmienne korelacje. Wiele psów zdrowych lub z inwazjami pasożytniczymi ma podwyższony poziom swoistych przeciwciał. Przykładowo w badaniach Halliwella i wsp. (6) wykazano, że znaczny odsetek psów klinicznie zdrowych wykazuje miano przeciwciała IgE przeciwko *Dermatophagoides farinae*, chociaż ich miano były niższe niż u psów atopowych. Podobnie wyniki uzyskali Koeblich i wsp. (7) wykonujący badania na klinicznie zdrowych beaglach. Stwierdzili oni, że 21% zdrowych psów ma wykrywalne przeciwciała przeciwko co najmniej jednemu gatunkowi roztoczy. Należy jednak pamiętać, że również w przypadku testów śródskórnych obserwuje się podobne zjawisko i część zdrowych psów wykazuje reakcje dodatnie (7).

W ostatnich latach do oznaczania poziomu przeciwciał swoistych wykorzystywane są przeciwciała monoklonalne oraz metody bazujące na wykrywaniu przeciwciał z zastosowaniem swoistego receptora dla IgE – FcεR1α. Metody te wykazują lepszą korelację z wynikami testów śródskórnych, ale nie jest ona pełna. Wykazano, że czułość i swoistość tych testów jest zależna między innymi od badanego alergenu. W badaniach wykonanych u psów atopowych stwierdzono, że czułość metody z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych wynosi 90,4%, podczas gdy swoistość 91,6% (autorzy odnosili uzyskane wyniki do wyników testów śródskórnych). Największą czułość stwierdzono w przypadku alergenów roztoczy kurzu domowego i pyłków traw (95,1%), najmniejszą dla alergenów pyłków drzew (84,3%). Najwyższą swoistość stwierdzono w przypadku alergenów roztoczy kurzu domowego (96,3%), najmniejszą dla alergenów pyłków chwastów – 80,7% (8). Hammerling i wsp. (9) oceniali czułość i swoistość oznaczania przeciwciał IgE (metody immunodot i ELISA) w porównaniu do wyników testów śródskórnych stwierdzili, że czułość wynosi od 70 do 100%, zależnie od ocenianego alergenu i użytej metody (najwyższa w przypadku alergenów pyłków traw i zastosowania metody immunodot), a swoistość od 78 do 92% (najwyższa w przypadku alergenów pyłków traw i metody

ELISA). Badania Lee i wsp. (5) wskazały, że testy oznaczające poziom swoistych przeciwciał u psów z zastosowaniem metody ELISA są powtarzalne, nie stwierdzono również znaczących różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi w różnych laboratoriach. Wyniki uzyskane z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych, jak i metod wykrywania przeciwciał z zastosowaniem receptora FcεR1α były porównywalne (5). Mankamentem metod serologicznych jest częste występowanie reakcji krzyżowych pomiędzy alergenami roztoczy kurzu domowego (*D. farinae*, *D. pteronyssinus*) i roztoczy magazynowych (*A. siro*, *L. destructor*, *T. putrescentiae*). Tego typu reakcje krzyżowe mogą być odpowiedzialne za pojawianie się fałszywie dodatnich wyników w stosunku do roztoczy magazynowych u psów uczulonych na roztocza kurzu domowego (10). Oczywiście tego typu fałszywe reakcje występują również w przypadku użycia testów śródskórnych, choć są mniej powszechne, jak w przypadku oznaczania przeciwciał swoistych (11). Istotne informacje dotyczące zastosowania oznaczania przeciwciał IgE w diagnostyce atopowego zapalenia skóry wnoszą stosunkowo niedawno opublikowane badania przeprowadzone przez Roque i wsp. (12), mające na celu porównanie występowania przeciwciał swoistych w stosunku do roztoczy kurzu domowego (*D. farinae* i *D. pteronyssinus*) u psów atopowych i psów niewykazujących objawów atopii. Zdaniem autorów miano swoistych przeciwciał jest statystycznie istotnie wyższe u psów zdrowych w porównaniu do psów atopowych (12).

Pomimo pewnych mankamentów metod serologicznych i w dalszym ciągu ich niepełnej zgodności z testami śródskórnymi, można uznać, że są one już na tyle dopracowane, że mogą być z powodzeniem stosowane u psów w diagnostyce alergologicznej. Należy oczywiście pamiętać, że nie mogą być stosowane jako jedyne kryterium do postawienia rozpoznania choroby. Korzystając z uzyskanych wyników, należy jednak zawsze pamiętać, by nie interpretować ich w oderwaniu od obrazu klinicznego u poszczególnych pacjentów i traktować je jedynie jako uzupełnienie w diagnostyce atopowego zapalenia skóry.

### Zastosowanie diagnostyki serologicznej w przypadku atopowego zapalenia skóry u kotów

W przypadku atopowego zapalenia skóry u kotów (w piśmiennictwie opisywanego jako alergiczne zapalenie skóry niewywołane alergią pchłą i alergią pokarmową) nie istnieją specyficzne testy diagnostyczne. Postawienie rozpoznania u tego gatunku

jest trudniejsze niż ma to miejsce u psów, ponieważ nie istnieją również kliniczne kryteria diagnostyczne. Tym samym diagnoza opiera się na obrazie chorobowym, wykluczeniu innych chorób o podobnych objawach oraz pomocniczo na diagnostyce alergologicznej. Podobnie jak w przypadku psów, za najbardziej wiarygodne u kotów uważane są testy śródskórne. Testy te są jednak dużo trudniejsze do wykonania i interpretacji niż u psów. Poza testami śródskórnymi czynnikiem uczulającym może być ponadto ustalony na podstawie testów serologicznych. W czasie wykonywania diagnostyki alergologicznej *in vitro* nie zaleca się, by zwierzęta otrzymywały glikokortykosteroidy, które mogą dodatkowo zaburzyć wyniki, natomiast antybiotyki, leki przeciwhistaminowe i wielonienasycone kwasy tłuszczowe nie wpływają na wyniki (13). Testy serologiczne wykazują zróżnicowaną korelację z wynikami testów śródskórnych. Kadoya (14) podaje, że zgodność pomiędzy tymi metodami wynosi od 63% do ponad 90% zależnie od badanego alergenu, podczas gdy Gilbert i Halliwell (15) uważają, że korelacja pomiędzy poziomem swoistych przeciwciał IgE badanych metodą ELISA, a wynikami testów śródskórnych jest słaba, a poziomy przeciwciał swoistych (w przypadku *D. farinae*) nie różni się statystycznie pomiędzy kotami atopowymi a zdrowymi. Zdaniem Gilberta i Halliwell (15) w przypadku kotów mamy do czynienia z heterogenicznością przeciwciał IgE. Autorzy ci wykazali, że surowica kotów z wykrywalnymi swoistymi przeciwciałami IgE nie daje pozytywnej reakcji w teście Prausnitz-Küstnera w odróżnieniu od surowicy kotów mających dodatnie wyniki w testach śródskórnych. Autorzy ci stwierdzili, że pozytywne testy śródskórne na alergen *D. farinae* występowały jedynie u 6 spośród 10 kotów, u których poziom przeciwciał był podwyższony, co świadczy o niskiej swoistości metod serologicznych (6). Baxley i wsp. (16) stwierdzili powszechność występowania swoistych przeciwciał IgE przeciwko roztoczu kurzu domowego.

W przypadku przeciwciał swoistych w stosunku do *D. farinae* obecne były one u ponad 42% zdrowych kotów niewykazujących objawów atopowego zapalenia skóry. Podobne rezultaty autorzy ci uzyskali w przypadku *D. pteronyssinus*, gdzie stwierdzono obecność przeciwciał u ponad 55% kotów niewykazujących objawów atopii. W przypadku przeciwciał przeciwko *D. farinae* udało się autorom wykazać statystycznie istotne różnice w ich poziomach pomiędzy kotami alergicznymi a zdrowymi. Poziomy przeciwciał u chorych kotów były istotnie wyższe. W przypadku kotów z objawami klinicznymi atopii u około 1/3 zwierząt

nie wykazano przeciwciał w stosunku do *D. farinae* i u około połowy w stosunku do *D. pteronyssinus*. Co interesujące, autorzy stwierdzili wykrywalne poziomy przeciwciał w stosunku do roztoczy kurzu domowego również u nieznacznego odsetka kotów SPF, które nie miały wcześniej kontaktu z tego typu alergenami – 7,7% w przypadku *D. farinae* i 11,5% w przypadku *D. pteronyssinus*. Autorzy ci nie zalecają tej metody w diagnostyce choroby w związku z powszechnością występowania przeciwciał u kotów zdrowych. Metoda ta zdaniem autorów może być użyteczna jako dodatkowe pomocnicze kryterium diagnostyczne oraz w celu wyselekcjonowania antygenów do immunoterapii swoistej. Taglinger i wsp. (17) oceniali występowanie przeciwciał w stosunku do roztoczy kurzu domowego (*D. farinae*, *D. pteronyssinus*) u kotów z objawami alergicznych chorób skóry i klinicznie zdrowych. Autorzy podjęli próbę ustalenia czy obraz kliniczny choroby wpływa na poziomy przeciwciał w stosunku do alergenów. Badania nie potwierdziły, by poziomy przeciwciał swoistych w stosunku do roztoczy różniły się istotnie pomiędzy kotami klinicznie zdrowymi a chorymi, niezależnie od obrazu klinicznego choroby (17). Diesel i DeBoer (18) przeprowadzili porównanie najnowszych dostępnych obecnie testów do oznaczania swoistych przeciwciał i stwierdzili, że ich poziomy nie różni się w sposób istotny statystycznie pomiędzy zwierzętami atopowymi a kotami niewykazującymi cech choroby, zarówno w przypadku alergenów niesezonowych, jak i roślinnych. Nawet najnowsze i najbardziej czułe metody oparte na technologii wykrywania przeciwciał z zastosowaniem receptora dla IgE – FcεR1α (która uważana jest obecnie za najlepszą metodę wykrywania swoistych przeciwciał IgE) nie są wystarczające do postawienia rozpoznania atopowego zapalenia skóry kotów, a wyniki mogą być jedynie używane do przygotowania zestawów do immunoterapii swoistej (18). Scott (2) uważa, że diagnostyka serologiczna czynnika uczulającego powinna być prowadzona u kotów, u których testy śródskórne nie są jednoznaczne, a uzyskane wyniki znajdują zastosowanie w przygotowaniu immunoterapii swoistej u takich osobników.

Podsumowując informacje dotyczące diagnostyki serologicznej dotyczącej atopii u kotów, należy traktować tę metodę jako element pomocniczy w przypadku diagnostyki atopii u tego gatunku, a największą wagę przykładając do cech klinicznych choroby i wykluczenia innych chorób o podobnych objawach. Metod tych należy używać jedynie u kotów z rozpoznaną już atopią w celu przygotowania immunoterapii swoistej.

## Diagnostyka serologiczna w diagnostyce alergii pokarmowej

Alergia pokarmowa jest jedną z powszechniej występujących alergicznych chorób skóry u psów i kotów. Objawia się ona głównie silnym niesezonowym świądem, a objawy i umiejscowienie zmian często są bardzo zbliżone do tych, jakie występują w przebiegu atopowego zapalenia skóry. W diagnostyce choroby najważniejszą metodą jest zastosowanie diety eliminacyjnej i wykonanie następnie próby prowokacyjnej. Od wielu lat prowadzone są badania mające na celu zastosowanie metod serologicznych do diagnostyki czynników uczulających w przypadku alergii pokarmowej oraz w celu monitorowania postępów leczenia (19, 20, 21, 22, 23).

Początkowo badania prowadzone na temat diagnostyki serologicznej nie były specjalnie zachęcające. W 1998 r. Mueller i Tsohalis (21) na podstawie wykonanych przez siebie doświadczeń u psów ze znaną alergią pokarmową oraz grupą zwierząt kontrolnych (klinicznie zdrowych lub chorych na inne choroby skóry), stwierdzili, że metoda ta nie jest przydatna do diagnostyki, ponieważ poziom przeciwciał IgE u psów z alergią pokarmową był niewykrywalny.

Później prowadzone badania (2003 r.) dotyczące poziomów przeciwciał IgG i IgE w stosunku do licznych alergenów pokarmowych (wołowina, kurczak, wieprzowina, jagnięcina, indyk, mięso ryb, jaja, ryż, kukurydza, jęczmień, mleko, soja, ziemniaki) wykazały występowanie istotnych statystycznie różnic pomiędzy zwierzętami klinicznie zdrowymi, atopowymi i z chorobami układu pokarmowego, w tym z alergią pokarmową (20). Autorzy badań stwierdzili, że w przypadku przeciwciał IgE istotne różnice dotyczyły wszystkich ocenianych alergenów, a najwyższe poziomy tych przeciwciał wykazywały zwykle zwierzęta atopowe. Podwyższony poziom przeciwciał IgE w stosunku do alergenów pokarmowych u psów atopowych może być przypuszczalnie wynikiem pobudzenia limfocytów Th2 i prawdopodobnie nie ma znaczenia klinicznego. Nie zawsze poziom przeciwciał był wyższy u zwierząt chorych w porównaniu do zdrowych, przykładowo przeciwciała w przypadku jęczmienia, kurczaka, jagnięciny, mleka, miały najwyższy poziom u zwierząt zdrowych. Również w przypadku przeciwciał IgG występowały różnice istotne pomiędzy zwierzętami zdrowymi a atopowymi i chorymi na choroby przewodu pokarmowego. W przypadku większości alergenów najwyższe wartości spotykane były u psów z chorobami przewodu pokarmowego, co może być wynikiem upośledzenia bariery jelitowej i zwiększonej przepuszczalności

blony śluzowej jelit dla antygenów, chociaż i w tym przypadku dla niektórych antygenów (jak jaja, indyk czy kurczak) najwyższe poziomy odnotowano u psów zdrowych.

Opublikowane w tym samym roku (19) wyniki badań mających na celu potwierdzenie przydatności metody w monitorowaniu postępów leczenia, wykonane u psów z alergią pokarmową na soję i kukurydzę nie potwierdziły, aby metoda ta była skuteczna w diagnostyce czy monitorowaniu postępów leczenia. Autorzy dostrzegli, że u zwierząt z alergią pokarmową podczas stosowania diety eliminacyjnej nie dochodzi do spadku poziomu swoistych przeciwciał IgE w stosunku do alergenów, na które są uczulone, a wręcz przeciwnie, poziom tych przeciwciał rośnie w czasie stosowania diety. Wykonanie próby prowokacyjnej skutkującej nawrotem objawów klinicznych prowadzi do wzrostu poziomu przeciwciał swoistych, ale nie jest ono specyficzne dla alergenu – podanie zwierzętom karmy z kukurydzą prowadziło do wzrostu przeciwciał zarówno w stosunku do kukurydzy, jak i soi, co może być wynikiem reakcji krzyżowych pomiędzy tymi alergenami. Również badania Ricci i wsp. (23) nie potwierdzają przydatności badania poziomów przeciwciał w diagnostyce i monitorowaniu postępów leczenia przy alergii pokarmowej. Autorzy wykonali badania u psów z alergią pokarmową na alergeny kurczaka, u których stosowano hydrolizowaną dietę eliminacyjną.

W przypadku przeciwciał swoistych IgE w wielu przypadkach poziom tych przeciwciał był niewykrywalny w czasie badania lub podlegał na tyle dużym wahaniom, że autorzy nie podjęli się określenia przydatności tej metody w diagnostyce. Również w przypadku przeciwciał IgG nie stwierdzono, by ulegały one istotnym zmianom w czasie badania. Autorzy są więc zdania, że w przypadku alergii pokarmowej przeciwciała klasy IgE być może nie odgrywają kluczowej roli w patogenecie i uważają, że oznaczanie przeciwciał IgE, jak również IgG nie jest przydatne w diagnostyce choroby.

Podobne wyniki zostały uzyskane w 2011 r. przez Zimmer i wsp. (24). Tak jak w przypadku przytoczonych powyżej ostatnich dwóch doświadczeń, autorzy ci podjęli próbę wykazania wpływu diety eliminacyjnej na poziom swoistych przeciwciał IgG i IgE u psów z alergią pokarmową. U badanych zwierząt, pomimo występowania klinicznej poprawy, nie stwierdzono, aby poziom przeciwciał swoistych IgG i IgE statystycznie różniły się przed i po 6–8 tygodniach stosowania diety eliminacyjnej.

Pewne nadzieje w zastosowaniu metod serologicznych w diagnostyce alergii

pokarmowej dają opublikowane w ubiegłym roku badania przeprowadzone przez Bethlehem i wsp. (25). Badania te dotyczyły zastosowania testów płatkowych oraz oznaczania przeciwciał IgG i IgE w przypadku alergii pokarmowej. W odniesieniu do badań serologicznych autorzy stwierdzili, że czułość tych metod jest niska i wynosi 6,7 (IgE) i 26,7% (IgG), ale charakteryzują się ona względnie dużą swoistością wynoszącą odpowiednio 91,4 i 88,3%. Autorzy ci są zdania, że wprawdzie pozytywne wyniki nie mogą być specjalnie użyteczne w diagnostyce, to uzyskanie wyniku negatywnego wskazuje na wysokie prawdopodobieństwo, że zwierzę na dany alergen nie jest uczulone. Dzięki temu wynikowi można więc wytypować źródła białka stosowane w diecie eliminacyjnej (25).

Podsumowując wyniki badań dotyczących diagnostyki serologicznej, nie można z całym przekonaniem polecić oznaczania poziomu przeciwciał swoistych do diagnostyki alergii pokarmowej oraz do monitorowania postępów leczenia. Niepowodzenia z zastosowaniem tych metod mogą być uwarunkowane niedoskonałościami używanych metod, ale być może również faktem, że patogeneta choroby jest bardziej złożona i za jej objawy odpowiadają również inne mechanizmy immunopatologiczne, poza nadwrażliwością typu I zależną od przeciwciał. Najnowsze badania dają jednak pewną nadzieję, że diagnostyka serologiczna, o ile nie da możliwości postawienia rozpoznania alergii pokarmowej, to przynajmniej ułatwi w przyszłości dobór odpowiednich składników do przeprowadzenia diety eliminacyjnej.

## Piśmiennictwo

- Hobi S., Linek M., Marignac G., Olivry T., Beco L., Nett C., Fontaine J., RRoosje P., Bergvali K., Belova S., Koebrich S., Pin D., Kovalik M., Meurcy S., Wilhelm S., Favrot C.: Clinical characteristics and causes of pruritus in cats; a multicentre study on feline hypersensitivity associated dermatoses. *Vet. Dermatol.* 2011, **22**, 406-413.
- Scott D. W., Miller W. H., Griffin C. E.: *Small Animal Dermatology*. Saunders Company, Philadelphia 2001.
- Favrot C., Steffan J., Seewald W., Picco F.: A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 23-31.
- Day M.J.: *Clinical Immunology of the Dog and Cat*. Manson Publishing Ltd., London 2008.
- Lee K. W., Blankenship K. D., McCurry Z. M., Esch R. E., DeBoer D. J., Marsella R.: Performance characteristics of a monoclonal antibody cocktail-based ELISA for detection of allergen-specific IgE in dogs and comparison with a high affinity IgE receptor-based ELISA. *Vet. Dermatol.* 2009, **20**, 157-164.
- Halliwell R.E.W., Gilbert S.M., Lian T. M.: Induced and spontaneous IgE antibodies to Dermatophagoides farinae in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Vet. Dermatol.* 1998, **9**, 179-184.
- Koebrich S., Nett-Mettler C., Wilhelm S., Favrot C.: Intradermal and serological testing for mites in healthy beagle dogs. *Vet. Dermatol.* 2012, **23**, 192-199.
- Mueller R.S., Fieseler K.V., Rosychuk A., Greenwal T.: *Putrescentiae* and *Lepidoglyphus destructor* in normal dogs and dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 2002, **13**, 211-229.
- Haemmerling R., Deweka A. L.: Comparison of two diagnostic tests for canine atopy using monoclonal anti-IgE antibodies. *Vet. Dermatol.* 1998, **9**, 191-199.

10. Saridomichelakis M.N., Marsella R., Lee K.W., Esch R.E., Farmaki R., Koutinas A. F.: Assessment of cross-reactivity among five species of house dust and storage mites. *Vet. Dermatol.* 2008, **19**, 67-76.
11. Farmaki R., Saridomichelakis M. N., Leontides L., Papazahariadou M. G., Gioulekas D., Koutinas A. F.: Dust mite species in the households of mite-sensitive dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 2012, **23**, 222-245.
12. Roque J. B., O'Leary C. A., Kyaw-Tanner M., Latter M., Mason K., Shipstone M., Vogelnest L. Duffy D.: High allergen-specific serum immunoglobulin E levels in non-atopic West Highland white terriers. *Vet Dermatol.* 2011, **22**, 257-266.
13. Chandler E.A., Gaskell C.J., Gaskell R.M.: *Feline Medicine and Therapeutics*. Blackwell Publishing, Oxford 2004.
14. Kadoya M., Momoi Y., Iwasaki T.: Comparison of intradermal test and antigenspecific IgE test in 22 cases of feline allergic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 2004, **15**, 20-40.
15. Gilbert S., Halliwell R.E.: Feline immunoglobulin E: induction of antigen-specific antibody in normal cats and levels in spontaneously allergic cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998, **63**, 235-252
16. Bexley J., Hogg J. E., Hammerberg B. Halliwell R. E. W.: Levels of house dust mite-specific serum immunoglobulin E (IgE) in different cat populations using a monoclonal based anti-IgE enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Vet. Dermatol.* 2009, **20**, 562-568.
17. Taglinger K., Helps C.R., Day M.J., Foster A.P.: Measurement of serum immunoglobulin E (IgE) specific for house dust mite antigens in normal cats and cats with allergic skin disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **105**, 85-93.
18. Diesel A., DeBoer D. J.: Serum allergen-specific immunoglobulin E in atopic and healthy cats: comparison of a rapid screening immunoassay and complete-panel analysis. *Vet. Dermatol.* 2010, **22**, 39-45.
19. Jackson H. A., Jackson M. W., Coblenz L. Hammerberg B. Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Vet. Dermatol.* 2003, **14**, 181-187.
20. Foster A.P., Knowles T.G., Hotston Moore A., Cousins P.D.G., Day M.J., Hall E.J. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, **92**, 113-124.
21. Mueller R. Tsohalis J.: Evaluation of serum allergen-specific IgE for the diagnosis of food adverse reactions in the dog. *Vet. Dermatol.* 1998, **9**, 167-171.
22. Martin Á., Paz Sierra M., Gonzalez J., Ángeles A.M.: Identification of allergens responsible for canine cutaneous adverse food reactions to lamb, beef and cow's milk. *Vet. Dermatol.* 2004, **15**, 349-356.
23. Ricci R., Hammerberg B., Paps J., Contiero B., Jackson H.: A comparison of the clinical manifestations of feeding whole and hydrolysed chicken to dogs with hypersensitivity to the native protein. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 358-366.
24. Zimmer A., Bexley J., Halliwell R. E.W., Mueller R. S.: Food allergen-specific serum IgG and IgE before and after elimination diets in allergic dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011, **144**, 442-447.
25. Bethlehem S., Bexley J., Mueller R. S.: Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012, **145**, 582-589.