

TÂNIA MARA MARIANO PEREIRA

**RELAÇÃO ENTRE UMIDADE, OLEOSIDADE E TEMPERATURA E
POPULAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM DIFERENTES ÁREAS
ANATÔMICAS DE CÃES COM E SEM DERMATOPATIAS**



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

TÂNIA MARA MARIANO PEREIRA

**RELAÇÃO ENTRE UMIDADE, OLEOSIDADE E TEMPERATURA E
POPULAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM DIFERENTES ÁREAS
ANATÔMICAS DE CÃES COM E SEM DERMATOPATIAS**

Presidente Prudente - SP
2020

636.089
P436r

Pereira, Tânia Mara.

Relação entre umidade, oleosidade e temperatura e população de fungos patogênicos em diferentes áreas anatômicas de cães com e sem dermatopatias / Tânia Mara Pereira. – Presidente Prudente, 2020.

49f.: il.

Dissertação de Mestrado em Ciência Animal -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2020.

Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Giuffrida

1. Leveduras. 2. Atopia. 3. Cães. I. Autor. II. Título.

TÂNIA MARA MARIANO PEREIRA

**RELAÇÃO ENTRE UMIDADE, OLEOSIDADE E TEMPERATURA E
POPULAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM DIFERENTES ÁREAS
ANATÔMICAS DE CÃES COM E SEM DERMATOPATIAS**

Dissertação apresentada à Pró-reitora de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Presidente Prudente, 29 de setembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério Giuffrida
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Osimar de Carvalho Sanches
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dra. Cecília Laposy Santarem
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos meus pais Pedro Pereira Pinto e Tania Mara Mariano, minhas nonas Anna Piccelli e Ana Bella, meu irmão Pedro, meus tios Pedro Paulo e Cassia, e a minha prima que me aturou durante esse processo, Carol Funayama e meus amigos, que sempre me deram apoio e incentivo permitindo assim a sua realização.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me iluminar em todos os momentos da minha vida.

Agradeço a todos que colaboraram para que este trabalho pudesse ser realizado, em especial à minha família.

Dedico em especial a minha mãe que mesmo nos momentos mais difíceis sempre esteve ao meu lado, me apoiando e me incentivando na realização dos meus sonhos, hoje infelizmente ela não está mais presente fisicamente, mais tenho a certeza que sempre vai estar torcendo por mim, onde quer que esteja..

Agradecimentos especiais ao excelente Prof. Dr. Rogério Giuffrida, por me orientar e pelo muito que me ensinou, por toda a atenção dispensada, para que eu concluísse esse trabalho, bem como a equipe do laboratório de microbiologia da Universidade do Oeste Paulista, agradeço ainda Luana Batista e Luana Rodrigues, que sempre estavam de prontidão para me auxiliar.

A todos aqueles que contribuíram e torceram e me incentivaram nesta trajetória e que não foram citados nominalmente.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES – Código de Financiamento 001”.

*“Os nossos pais, amam-nos porque somos
seus filhos, é um fato inalterável. Nos
momentos de sucesso, isso pode parecer
irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso,
oferecem um consolo e uma segurança
que não se encontram em qualquer outro
Lugar.”*

(Bertrand Russell)

RESUMO

Relação entre umidade, oleosidade e temperatura e população de fungos patogênicos em diferentes áreas anatômicas de cães com e sem dermatopatias

Malassezia pachydermatis e fungos dermatófitos são microrganismos associados a dermatopatias em cães, mas que também podem estar presentes no tegumento canino como microrganismos saprofitos. Os fatores que modulam a migração desses agentes, da condição de saprófita para patógeno, são pouco conhecidos. O presente estudo avaliou a influência da umidade, oleosidade e temperatura da pele de cães sobre a população de leveduras do gênero *Malassezia* e dermatófitos, em 58 cães com e 69 sem dermatoses, independente de idade, raça e sexo. A umidade e a oleosidade foram medidas por meio de instrumentos de bioimpedância em quatro áreas anatômicas: área frontal da cabeça (AFC), axilar (AA) e área lombossacral (ALS). Nestes mesmos pontos, a temperatura da superfície da pele foi avaliada por termômetro infravermelho e amostras de pele foram coletadas com tiras de carpete estéril e submetidas à cultura quantitativa para *Malassezia* e dermatófitos, com valores expressos em UFC/ tira. A inter-relação entre os dados foi avaliada por meio da análise de componentes principais (ACPs). No AA, a temperatura, umidade e oleosidade foram superiores aos demais. As ACPs revelaram que umidade e oleosidade interagem independentemente da população de patógenos fúngicos, em AFC e AA. Dermatófitos parecem interagir com a oleosidade da pele na ALS. Cães com doenças de pele têm uma gama mais ampla de resultados e interações no AA e ALS do que cães sem doenças de pele. Conclui-se que diferentes áreas anatômicas podem apresentar fatores homeostáticos que regulam a população de patógenos fúngicos.

Palavras-chave: *Malassezias*, cães, análise de componentes principal.

ABSTRACT

Relationship between humidity, oiliness and temperature and population of pathogenic fungi in different anatomical areas of dog with and without dermatopathies

Malassezia pachydermatis and dermatophyte fungi are fungal microorganisms associated with dermatopathies in dogs, but which can also be present in the canine integument as saprophytic microorganisms. The factors that modulate the migration of these agents, from the condition of saprophyte to pathogen, are little known. The present study evaluated the influence of moisture, oiliness and skin temperature of dogs on the population of yeasts of the genus *Malassezia* and dermatophytes, in 58 dogs with and 69 without skin diseases, regardless of age, race and sex. Moisture and oiliness were measured by bioimpedance instrument in four anatomical areas: frontal area of the head (AFC), left and right axillae (AAD e AAE) and lumbosacral area (ALS). At these same points, the temperature of the skin surface was assessed by infrared thermometer and skin samples were collected with sterile carpet strips and subjected to quantitative culture for *Malassezia* and dermatophytes, with values expressed in CFU / strip. The interrelation between the data was assessed by principal component analysis (PCA). In the ADE, temperature, humidity and oiliness were higher than the others. ACPs revealed that moisture and oiliness interact independently of the population of fungal pathogens, in AFC and ADE. In ALS, dermatophytes appear to interact with skin oiliness. Dogs with skin disorders have a wider range of results and interactions in the ADE and ALS than dogs without skin diseases. It is concluded that different anatomical areas may present homeostatic factors that regulate the population of fungal pathogens.

Keywords: *Malassezia pachydermatis*, dogs, principal component analysis.

SUMÁRIO

1	ARTIGO CIENTÍFICO.....	10
2	ANEXO - NORMAS DA REVISTA VETERINARY DERMATOLOGY.....	35

1 **Artigo científico a ser submetida à revista *Veterinary Dermatology***
2 **RELAÇÃO ENTRE UMIDADE, OLEOSIDADE E TEMPERATURA E**
3 **POPULAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM DIFERENTES ÁREAS**
4 **ANATÔMICAS DE CÃES COM E SEM DERMATOPATIAS.**

5 **Tânia Mara Mariano Pereira¹**

6 **Bruna da Silva Luiz²**

7 **Diogo Santos da Silva²**

8 **Luana Cassemiro Rodrigues²**

9 **Luana Batista Peres Abreu²**

10 **Daniela Vanessa Moris³**

11 **Rogério Giuffrida⁴**

12 1- Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da
13 Universidade do oeste Paulista

14 2- Graduando do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste
15 Paulista

16 3- Professora Dra do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
17 Universidade do Oeste Paulista

18 4- Professor Dr do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
19 Universidade do Oeste Paulista

20	Sumario
21	Área frontal da cabeça (AFC)
22	Área axilar (AA)
23	Área axilar direita (AAD)
24	Área axilar esquerda (AAE)
25	Área lombossacral (ALS)
26	Análises de componentes principais (ACPs)
27	Análise de componente principal (ACP)
28	Componente principal (CP)
29	Componente principal 1 (CP1)
30	Componente principal 2 (CP2)
31	Unidade formadora de colônia por tira (UFC/tira)
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	

54
55
56
57
58

59 **Resumo**

60 *Malassezia pachydermatis* e fungos dermatófitos são microrganismos
61 associados a dermatopatias em cães, mas que também podem estar presentes
62 no tegumento canino como microrganismos saprofíticos. Os fatores que
63 modulam a migração desses agentes, da condição de saprófita para patógeno,
64 são pouco conhecidos. O presente estudo avaliou a influência da umidade,
65 oleosidade e temperatura da pele de cães sobre a população de leveduras do
66 gênero *Malassezia* e dermatófitos, em 58 cães com dermatoses e 69 com pele
67 clinicamente higidas, independente de idade, raça e sexo. A umidade e a
68 oleosidade foram medidas por meio de instrumentos de bioimpedância em
69 quatro áreas anatômicas: área frontal da cabeça (AFC), área axilar (AA) e área
70 lombossacral (ALS). Nestes mesmos pontos, a temperatura da superfície da
71 pele foi avaliada por termômetro infravermelho e amostras por descamação
72 (pelo) foram coletadas com tiras de carpete estéril e submetidas à cultura
73 quantitativa para *Malassezia* e dermatófitos, com valores expressos em UFC/
74 tira. A inter-relação entre os dados foi avaliada por meio da análise de
75 componentes principais (ACPs). No AA, a temperatura, umidade e oleosidade
76 foram superiores aos demais. As ACPs revelaram que umidade e oleosidade
77 interagem independentemente da população de patógenos fúngicos, em AFC e
78 ADE. Dermatófitos parecem interagir com a oleosidade da pele na ALS. Cães
79 com doenças de pele têm uma gama mais ampla de resultados e interações no
80 ADE e ALS do que cães sem doenças de pele. Conclui-se que diferentes áreas
81 anatômicas podem apresentar fatores homeostáticos que regulam a população
82 de patógenos fúngicos.

83
84
85

85 **Introdução**

86 Nos mamíferos, a pele é um órgão dinâmico que pode adaptar-se
87 constantemente ao ambiente por meio de funções fisiológicas, imunológicas,
88 sensoriais e de proteção, sendo uma barreira protetora composta por três
89 componentes: físico (pelos e queratina), químico (emulsões) e microbianos
90 (microrganismos saprofíticos). Dentre os componentes de barreira mais
91 importantes, destaca-se a camada mais superficial da epiderme, formada pelos
92 corneócitos, ou queratinócitos cornificados, que estão rodeados pelos lipídeos
93 lamelares complexos (1–3) Estes lipídeos tem funções antibacterianas e de
94 barreira contra a perda de água por evaporação (4,5) e interagem com a
95 população local de microrganismos, incluindo *Malassezia*, gênero de leveduras
96 lipofílicas que compõe a microbiota cutânea de muitos mamíferos e aves,
97 sendo um dos microrganismos mais abundantes na pele de animais
98 homeotérmicos (6). Estes fungos têm predileção por áreas corporais ricas em
99 glândulas sebáceas, visto que não possuem genes que codificam a síntese de

100 ácidos graxos, e, desta forma, dependem de fontes exógenas destas
101 substâncias para suas necessidades nutricionais (7).

102 Dentre as espécies de *Malassezia* que afetam os cães, destaca-se *M.*
103 *pachydermatis*, que coloniza com frequência sítios mucosos ricos em glândulas
104 sebáceas, incluindo as áreas perianal e perioral. A frequência de isolamento e
105 a densidade populacional da levedura tende a ser elevada em cães com
106 dermatite localizada, especialmente nas áreas anatômicas acometidas (8). A
107 população destas leveduras é fortemente influenciada por distúrbios
108 hormonais, alimentares, metabólicos e infecciosos. Quando em excesso, estas
109 leveduras secretam lipases e fosfolipases que hidrolisam componentes da
110 derme e geram ácidos graxos livres insaturados com ação pró-inflamatória que
111 determinam sinais clínicos que incluem alopecia regional ou generalizada
112 acompanhada de eritema (eritrodermia esfoliativa), seborreia úmida, lesões
113 papulocrostosas, liquenificação e/ou hiperpigmentadas, entre outros (9).

114 De forma semelhante à *Malassezia*, dermatófitos são agentes etiológicos
115 de lesões dermatológicas em humanos e animais. Eles são caracterizados por
116 apresentarem elevada afinidade por substratos queratinizados, como os
117 presentes na pele e pelos dos mamíferos (10). Os gêneros mais comuns
118 incluem *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* que são classificados
119 segundo seu nicho de desenvolvimento preferencial em antropofílicos, quando
120 parasitam preferencialmente humanos, zoofílicos, quando parasitam
121 preferencialmente animais e geofílicos quando se desenvolvem em substratos
122 do ambiente como, por exemplo, o solo (11).

123 Assim como *Malassezia*, a colonização da pele por dermatófitos é
124 modulada pelo equilíbrio entre substâncias lipídicas e a umidade cutânea (12).
125 Nos últimos anos, a avaliação destes parâmetros têm sido facilitada pelo
126 avanço tecnológico com o surgimento de aparelhos de bioimpedância, capazes
127 de predizer o percentual de oleosidade e umidade da pele ao medir a
128 capacidade cutânea de resistir ao fluxo de uma determinada corrente elétrica,
129 quando se aplica uma certa tensão elétrica em seus terminais (13). O presente
130 trabalho teve como objetivo avaliar a temperatura e o percentual de umidade e
131 oleosidade da pele de cães com aparelho de bioimpedância e verificar a
132 associação destes parâmetros com população de fungos patogênicos na pele
133 de cães com e sem dermatopatias em três diferentes sítios anatômicos.

134

135 **Material e métodos**

136 O presente projeto foi aprovado por Comitê de Ética em Uso de Animais
137 de Instituição reconhecida pelas normas internacionais vigentes (Protocolo n.
138 3716). Os cães incluídos na pesquisa foram selecionados de forma aleatória a
139 partir da rotina de atendimentos de ambulatórios clínicos de uma Instituição de
140 Ensino Superior de Medicina Veterinária, durante doze meses. Foram incluídos
141 58 cães com lesões dermatológicas visíveis, de qualquer natureza e 69 cães
142 sem lesões dermatológicas visíveis, sem predileção por idade, sexo e raça em
143 no período de 12 meses. O diagnóstico clínico da dermatopatia considerado
144 para o caso em questão foi o realizado pelo médico veterinário da instituição de
145 ensino, presente no momento e local de atendimento.

146 No momento do atendimento, evitou-se selecionar para a pesquisa,
147 animais com dermatopatias úmidas, exudativas ou sangrantes, em razão da
148 possibilidade do material de coleta microbiológica (carpetes estéreis) absorver
149 fluídos, o que pode interferir diretamente nas análises microbiológicas.

150 Também foram excluídos na seleção, cães medicados com antifúngicos
151 sistêmicos e/ou tópicos nas últimas duas semanas que antecedeu a coleta.

152 Nos animais sem dermatopatias, o percentual de umidade e oleosidade
153 cutâneas foram avaliados em quatro pontos anatômicos, com uso aparelho
154 manual de leitura de bioimpedância (SkinUp™): área frontal da cabeça (AFC),
155 axila direita (AAD) e esquerda (AAE) e região lombo-sacral (ALS).

156 Para a realização da medida, seguiu-se a recomendação do fabricante do
157 aparelho, com pequenas modificações no procedimento, visto tratar-se de
158 aparelho indicado para uso em humanos. Após acionar o aparelho e afastar os
159 pelos do animal, visto que o sensor do mesmo é muito sensível, o qual foi
160 colocado em contato direto com a pele do animal. Após alguns segundos, o
161 resultado foi registrado no painel de leitura, sendo expresso em “percentual de
162 umidade” e “percentual de oleosidade”. Nos animais com dermatopatias, as
163 mesmas áreas foram avaliadas, contudo uma quinta medida foi realizada
164 adicionalmente na área lesional mais representativa da dermatopatia
165 diagnosticada.

166 Nos mesmos pontos de medição da umidade e oleosidade, a temperatura
167 da pele foi aferida com termômetro de infravermelho G Tech™. O aparelho foi
168 colocado próximo ao ponto de leitura, acionado, e, após alguns segundos, a
169 leitura foi realizada no visor, sendo os resultados expressos em graus Celsius.

170 Nos mesmos pontos de aferição mencionados acima, procedeu-se
171 colheita de amostras de descamações epidérmicas com tiras quadradas de
172 carpete estéreis de 9 cm² de área, atritadas por cerca de 20 segundos no ponto
173 selecionado (14). Após a coleta, as tiras foram encaminhadas para laboratório
174 de análises microbiológicas no menor tempo possível, e colocadas em contato
175 com agar Mycosel suplementado com 0,4% de cloranfenicol, em placas de
176 Petri descartáveis, por uma hora. Após este período, foram retiradas e as
177 placas seladas com fita adesiva e incubadas a 25°C por até sete dias.

178 Diariamente, as placas cultivadas foram avaliadas quanto ao crescimento
179 de colônias leveduriformes compatíveis com o gênero *Malassezia* (tonalidade
180 bege, secas, convexas e friáveis ao toque) ou de dermatófitos (coloração
181 branca ou bege, aspecto granular ou cotonoso, com pigmento amarelo ou
182 marrom no verso). A confirmação da espécie *M. pachydermatis* foi realizada
183 mediante a observação microscópica da morfologia típica (“pinos de boliche”),
184 crescimento em meio de Sabouraud sem adição de lipídeos, e produção das
185 enzimas catalase e urease (15). Os fungos dermatófitos foram identificados
186 mediante características macro e micromorfológicas e testes bioquímicos (16).

187 Após confirmação da espécie, as colônias de *M. pachydermatis* e de
188 dermatófitos foram enumeradas e os valores expressos em Unidades
189 Formadoras de Colônias por tira (UFC/tira). Para as axilas direita e esquerda,
190 calculou-se a média das contagens, visando compor um único parâmetro para
191 esta área anatômica.

192 Para a realização das análises estatísticas das contagens de
193 microrganismos, os resultados expressos em UFC/tira foram acrescidos do
194 valor 1,0 e sofreram transformação logarítmica na base 10.

195 Considerando-se a distribuição assimétrica dos dados, os percentuais de
196 umidade e oleosidade e a temperatura foram expressos como mediana ±
197 desvio interquartil. As diferenças entre percentuais de umidade, oleosidade e
198 temperatura da pele e as contagens de microrganismos foram comparadas

199 entre áreas anatômicas pelo teste não paramétrico de Friedman. As mesmas
200 variáveis foram comparadas entres sexos pelo teste de Mann-Whitney (17).

201 Para verificar a possível associação entre os fatores estudados e as
202 populações de microrganismos, procedeu-se a análise de componentes
203 principais (ACP), separadamente para cada área corporal(18;19).

204 Foram realizadas quatro ACPs: uma para cada área anatômica (frontal da
205 cabeça, axilar e lombo-sacral) e uma para as raças dos animais. Para cada
206 ACP foram incluídas, as variáveis “percentual de oleosidade”, “percentual de
207 umidade”, “temperatura”, “contagem de dermatófitos” e “contagem de
208 *Malassezia*”. Como estas variáveis não estavam na mesma unidade,
209 procedeu-se a padronização dos valores com a fórmula:

210

211
$$\text{Valor Padronizado} = (\text{Valor real} - \text{Média})/\text{desvio padrão}$$

212

213 A seguir, calculou-se a matriz de covariância dos dados, que é usada
214 para revelar a estrutura de interdependência entre as variáveis da matriz
215 original de dados. A seguir foram calculados cinco CPs. Cada CP representa a
216 melhor aproximação que corresponde à direção de maior variância no espaço
217 multivariado (20;21).

218 O próximo passo foi calcular os autovalores e autovetores normalizados.
219 Cada autovetor l é um vetor de pesos de um componente principal. que
220 fornece a quantidade de variância explicada pelo respectivo componente, de
221 modo que CP1 tem o maior autovalor, CP2 o segundo maior, e assim por
222 diante (22).

223 A interpretação da ACP só é possível para os dois primeiros CP, ao gerar-
224 se gráficos em duas dimensões (*biplots*). No *biplot*, em um eixo, foram
225 dispostos os valores do CP1 e em outro os valores do CP2. O intercruzamento
226 dos eixos separa os dados em quatro quadrantes.

227 Na sequência, os elementos (cães) incluídos no estudo foram adicionados
228 como pontos localizados nas coordenadas dos CPS 1 e 2. A nuvem de pontos
229 nos *biplots*, representa, portanto, como cada cão se relaciona com os CP1 e
230 CP2. Para melhor visualização dos dados, os pontos que representam os cães
231 foram marcados com cores diferentes e agrupados dentro de uma área
232 comum, segundo a presença, ou não, de dermatopatias. Finalmente, cada
233 variável foi adicionada no gráfico como um vetor representado por uma “seta”.
234 Setas no mesmo quadrante sugeriram agrupamentos de variáveis. O
235 comprimento linear das setas indicou a influência desta variável dentro da
236 estrutura dos dados (23).

237 Para cada ACP, também foram construídas matrizes gráficas que indicam
238 a contribuição de cada variável em cada CP, representados como esferas com
239 diferentes dimensões. Esferas de cor mais intensa e com áreas maiores
240 indicaram que contribuição da variável foi mais intensa para o CP em questão.
241 Contudo, apenas as duas primeiras colunas foram consideradas nesta análise,
242 visto que nos biplots, são plotados apenas os dois primeiros CPs. Esta análise
243 foi complementada com gráficos de barras denominados *scree-plots* que
244 indicam quanto cada CP contém da variabilidade dos dados (19).

245 A ACP também foi realizada para discriminar e/ou agrupar as diferentes
246 raças de cães. Para esta análise, calculou-se, para cada raça, as médias das
247 variáveis incluídas no estudo. Foram excluídos desta ACP cães sem raça
248 definida, visto que podem contaminar os dados com variabilidade não

249 explicada, deixando a análise sem sentido. A partir desta última ACP, gerou-se
250 um gráfico do tipo *biplot*, identificando-se cada ponto como representante de
251 uma raça diferente, a fim de verificar-se como o padrão racial do animal se
252 relaciona com as demais variáveis.

253 As ACPs foram conduzidas no Programa R com auxílio do pacote
254 *ggBiplot* (24,25).

255

256 **Resultados**

257 Não foram observadas diferenças entre sexos, considerando-se as
258 variáveis estudadas ($p > 0,05$). Machos e Fêmeas com dermatopatias
259 apresentaram percentual de oleosidade e umidade, e temperatura mais altos
260 na região axilar do que nas demais. O mesmo padrão foi observado para
261 animais sem dermatopatias. Na tabela 1 estão sumarizados os resultados das
262 medianas e desvios interquartílicos dos parâmetros avaliados na pele dos
263 cães, segundo presença de dermatopatias e sexo dos animais.

264 Nas Figuras 1 e 2 e 3 podem ser observados os *box-plots* relativos à
265 distribuição dos dados de oleosidade, umidade e temperatura nos cães, com e
266 sem dermatopatias. Os padrões observados graficamente foram similares para
267 cães com e sem dermatopatias nas três áreas anatômicas pesquisadas.

268 Nas figuras 4, 5, e 6 podem ser observados para cada região anatômica,
269 os gráficos do tipo *biplot*, com cores separadas para cães com e sem
270 dermatopatias. A contribuição individual de cada variável para a variabilidade
271 dos dados está descrita logo abaixo por meio de uma matriz de combinações
272 (Variável x CP) e por meio do *scree plot* para indica a contribuição de cada
273 variável para as dimensões com maior poder explicativo. Na figura 7, pode ser
274 observado o *biplot* relativo à distribuição das raças segundo as dimensões
275 avaliadas e variáveis estudadas.

276

277 **Discussão**

278 Observa-se na tabela 1, resultados ligeiramente diferentes para cada
279 área anatômica, considerando-se as categorias observadas. A região axilar
280 tendeu a apresentar medidas dos parâmetros de umidade, oleosidade e
281 temperatura mais elevados do que as outras. Estas diferenças são reforçadas
282 quando se observa os padrões de distribuição dos *box-plots*, nos quais esta
283 área anatômica apresenta-se com caixas deslocadas para pontos mais altos
284 que as demais (Figuras 1 a 3). Estes resultados estão possivelmente
285 relacionados às dobras cutâneas e oclusão natural das estruturas anatômicas
286 que caracterizam a área axilar. Nestas condições, a obliteração anatômica
287 pode influenciar na proliferação de agentes fúngicos como *Malassezia*, que
288 tendem a se multiplicar mais intensamente em áreas ocluídas da pele, nas
289 quais determina lesões mais intensas do que em áreas não ocluídas (26).

290 Observa-se também nos *box-plots* que alguns cães tendem a apresentar
291 áreas corporais com temperaturas mais baixas, denotadas pelos pontos
292 (*outliers*) abaixo das linhas. Em contraste, muitos cães apresentam resultados
293 de oleosidade e umidade discrepantes dos demais, também denotado pelos
294 pontos acima das linhas. Estes resultados possivelmente refletem a
295 variabilidade inerente às condições fisiológicas da pele e precisam ser mais
296 bem explorados para determinar quais fatores (alimentares, endócrinos etc.)
297 explicam a variabilidade observada. Tais fatores não foram avaliados na

298 presente pesquisa, não sendo possível determinar sua influência nos
299 resultados.

300 A temperatura e umidade da pele são condições fisiológicas que
301 influenciam na proliferação *M. pachydermatis*, visto que a levedura se
302 desenvolve entre temperaturas de 25 a 41°C, com crescimento ótimo a 37°C
303 (27). Os mecanismos de regulação destes parâmetros estão diretamente
304 associados às propriedades de barreira da pele dos animais e que modulam a
305 proliferação de microrganismos na superfície da derme (28).

306 As condições de umidade e temperatura ambientais não foram avaliadas
307 no momento das medidas de biopimpedância e temperatura da pele dos cães.
308 Contudo, é ao menos razoável supor que influenciem as condições de
309 homeostase cutânea e, dessa forma, possam modular a microbiota fúngica
310 cutânea. Em humanos. Esta condição já foi em humanos com infecções por
311 *Malassezia*, que são mais comuns em regiões geográficas quentes e úmidas
312 (27).

313 Não foram observadas diferenças significativas entre sexo, para os
314 parâmetros fisiológicos das diferentes áreas anatômicas. Estes resultados
315 sugerem que os mecanismos endócrinos que regulam a homeostase do
316 tegumento dos cães não foram capazes de influenciar a umidade, temperatura
317 e oleosidade da pele dos animais. Considerando-se que as fêmeas não foram
318 avaliadas quanto ao estágio do ciclo estral, nem se foram histerectomizadas, a
319 influência do sexo nos parâmetros avaliados permanece incerta.

320 Ao contrastar-se os resultados observados nos biplots em diferentes
321 áreas anatômicas foram observadas diferenças importantes nas ACPs. Na área
322 frontal da cabeça, a umidade e oleosidade interagiram de forma significativa,
323 contudo, de forma independente da população de microrganismos fúngicos,
324 visto que estes formaram um agrupamento independente, denotado pelas
325 setas em quadrantes diferentes, tanto em animais com dermatopatias como em
326 animais sem dermatopatias. A temperatura também foi inserida em um
327 agrupamento Independente. Na área axilar, observou-se dois agrupamentos:
328 um formado pela temperatura, umidade e oleosidade, e outro formado pelos
329 microrganismos pesquisados, ambos denotados pelas setas presentes no
330 mesmo quadrante.

331 Estes resultados contrastam com as observações da área frontal da
332 cabeça, onde a temperatura não parece interagir com a oleosidade e umidade.
333 Com efeito, a zona axilar, por ser obliterada pela sobreposição dos membros
334 sobre o tórax é capaz de manter um microambiente diferenciado, com baixa
335 perda de líquidos e temperaturas mais elevadas. Contudo, este ambiente não
336 parece interagir com a microbiota fúngica potencialmente patogênica.

337 Na área lombo-sacral, os *Biplots* revelam que as interações entre os
338 parâmetros fisiológicos e os microrganismos estudados parece ser mais
339 significativa. Neste caso, os dermatófitos parecem interagir com a oleosidade,
340 enquanto que as populações de *Malassezia* não interagiram com outros
341 fatores, assim como a temperatura e a umidade.

342 A oleosidade da pele é fator preponderante para o desenvolvimento de
343 *M. pachydermatis* no tegumento dos cães. As infecções determinadas pelo
344 agente estão fortemente associadas a problemas metabólicos e hormonais que
345 influenciam diretamente na composição e estabilidade de ácidos graxos
346 secretados na pele (29–31). Ácidos graxos insaturados como o oleico e

347 linoleico parecem exercer efeito micostático sobre o agente, ao modificarem a
348 composição da parede celular (29).

349

350 Os resultados observados relativos à interação entre umidade e
351 oleosidade da pele eram esperados, visto que a homeostase é diretamente
352 influenciada por barreiras epiteliais, mantidas pela presença de agentes
353 higroscópicos naturais dentro dos corneócitos e por lipídios intercelulares
354 organizados de maneira ordenada para formar uma barreira a perda de água
355 transepidérmica (32).

356 As elipses representativas dos animais com e sem dermatopatias em
357 cada *biplo*t indicam que estes grupos estão sobrepostos no que tange a
358 multidimensionalidade dos dados. Estes resultados sugerem que uma parte da
359 variabilidade dos dados possa ser explicada pela presença de alterações
360 clínicas na derme, tendo com efeito algumas patologias como a atopia os cães
361 apresentam alterações nas propriedades lipídicas da pele, semelhantes às
362 alterações observadas na dermatite atópica em humanos, que se
363 correlacionaram com uma ruptura da barreira cutânea (33). Contudo para
364 outras enfermidades, pouco se conhece acerca das estruturas de barreira da
365 pele capazes de influenciar no desenvolvimento de patologias diversas.

366 As interações entre dermatófitos e os mecanismos de homeostase
367 cutânea diferem dos mecanismos observados em *Malassezia*. São
368 importantes, não apenas fatores fisiológicos, como também mecanismos de
369 defesa local e sistêmicos, que incluem a estrutura física e química da pele, a
370 exposição constante à luz ultravioleta, a temperatura, a falta de umidade e a
371 presença de microbiota normal que dificultam o crescimento de microrganismos
372 patogênicos (34).

373 Segundo observado no *Biplo*t da figura 7, a raça Buldogue Inglês foi
374 segregada das demais, denotado pelo ponto distante no quadrante esquerdo
375 superior. Considerando-se que se trata de uma análise multivariada, o
376 resultado sugere que interrelação entre as contagens de fungos patogênicos e
377 umidade, oleosidade e temperatura desta raça diferenciam-se das demais.
378 Com efeito, esta raça pode apresentar-se predisposta à doenças
379 dermatológicas relacionadas à fatores genéticos ou hereditários, além de
380 conformação anatômica da pele compostas de dobras e pregas que alteram o
381 ambiente cutâneo de forma a favorecer a um ambiente úmido e rico em
382 secreções lipídicas (35).

383 Outras raças se destacaram por apresentar-se relacionadas mais com
384 as características fisiológicas da pele (umidade, oleosidade e temperatura) do
385 que com as populações de agentes fúngicos, incluindo Shar-pei, Pequinês,
386 Dálmata Pinsher, Pug, Pastor belga, Buldogue francês e Bull terrier, conforme
387 se observa o agrupamento no quadrante superior direito. Estes resultados
388 sugerem que os fatores fisiológicos avaliados podem ser fortemente
389 influenciados por fatores raciais. A raça Shapei, e, especial, mostrou-se
390 distante das demais, possivelmente porque apresenta conformação da pele
391 com pregas que podem influenciar fortemente a umidade, oleosidade e
392 temperaturas do microambiente cutâneo, similarmente ao que foi observado
393 para Buldogue Inglês Estes resultados foram esperados, visto que esta raça,
394 comumente apresenta várias dermatopatias associadas as características
395 anatômicas da pele (36).

396 Diante dos resultados, conclui-se que dentre os microambientes
 397 pesquisados, a região axilar apresenta maior percentual de umidade e
 398 oleosidade e temperaturas mais elevadas, em comparação a região frontal da
 399 cabeça e lombo-sacral. As ACPs revelaram que estes parâmetros não parecem
 400 interagir com populações de patógenos na área frontal da cabeça e na região
 401 axilar. Nestas duas últimas áreas anatômicas, cães com dermatopatias
 402 apresentam amplitude de variação de parâmetros fisiológicos mais extensa do
 403 que cães sem dermatopatias.

404
 405

406 Referências Bibliográficas

- 407 1. DeBoer DJ. Canine Atopic Dermatitis: New Targets, New Therapies. *J*
 408 *Nutr* [Internet]. 2004 Aug 1;134(8):2056S-2061S. Available from:
 409 <https://academic.oup.com/jn/article/134/8/2056S/4688875>
- 410 2. Schürer NY, Plewig G, Elias PM. Stratum corneum lipid function.
 411 *Dermatologica* [Internet]. 1991 [cited 2019 Apr 15];183(2):77–94.
 412 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1743378>
- 413 3. Hester SL, Rees CA, Kennis RA, Zoran DL, Bigley KE, Wright AS, et al.
 414 Evaluation of Corneometry (Skin Hydration) and Transepidermal Water-
 415 Loss Measurements in Two Canine Breeds. *J Nutr* [Internet]. 2004 Aug
 416 1;134(8):2110S-2113S. Available from:
 417 <https://academic.oup.com/jn/article/134/8/2110S/4688890>
- 418 4. Chesney CJ. Measurement of skin hydration in normal dogs and in dogs
 419 with atopy or a scaling dermatosis. *J Small Anim Pract* [Internet]. 1995 Jul
 420 [cited 2019 Apr 15];36(7):305–9. Available from:
 421 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7474960>
- 422 5. Hobi S, Klinger C, Classen J, Mueller RS. The effects of a topical lipid
 423 complex therapy on dogs with atopic dermatitis: a double blind,
 424 randomized, placebo-controlled study. *Vet Dermatol* [Internet]. 2017 Aug
 425 [cited 2019 Apr 15];28(4):369-e84. Available from:
 426 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28220545>
- 427 6. Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, et al.
 428 Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin.
 429 *Nature* [Internet]. 2013 Jun 22 [cited 2019 May 15];498(7454):367–70.
 430 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23698366>
- 431 7. Wu G, Zhao H, Li C, Rajapakse MP, Wong WC, Xu J, et al. Genus-Wide
 432 Comparative Genomics of *Malassezia* Delineates Its Phylogeny,
 433 Physiology, and Niche Adaptation on Human Skin. Barsh GS, editor.
 434 *PLOS Genet* [Internet]. 2015 Nov 5 [cited 2019 May 15];11(11):e1005614.
 435 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26539826>
- 436 8. Velegriaki A, Cafarchia C, Gaitanis G, Iatta R, Boekhout T. *Malassezia*
 437 infections in humans and animals: pathophysiology, detection, and
 438 treatment. *PLoS Pathog* [Internet]. 2015 Jan [cited 2016 Aug
 439 26];11(1):e1004523. Available from:
 440 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25569140>
- 441 9. Bajwa J. Canine *Malassezia* dermatitis. *Can Vet J = La Rev Vet Can*
 442 [Internet]. 2017 [cited 2019 May 16];58(10):1119–21. Available from:
 443 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28966366>
- 444 10. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin
 445 mycoses worldwide. *Mycoses* [Internet]. 2008 Sep [cited 2013 Jul 30];51

- 446 Suppl 4:2–15. Available from:
447 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18783559>
- 448 11. Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. Dermatophytoses in animals.
449 Mycopathologia [Internet]. 2008 Jan [cited 2016 Apr 22];166(5–6):385–
450 405. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18478363>
- 451 12. Wagner DK, Sohnle PG. Cutaneous defenses against dermatophytes and
452 yeasts. Clin Microbiol Rev [Internet]. 1995 Jul;8(3):317–35. Available
453 from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7553568>
- 454 13. Aroom KR, Harting MT, Cox CS, Radharkrishnan RS, Smith C, Gill BS, et
455 al. Bioimpedance analysis: a guide to simple design and implementation.
456 J Surg Res [Internet]. 2009 May 1 [cited 2017 Jun 6];153(1):23–30.
457 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18805550>
- 458 14. Mariat F, Tapia G. [Enumeration of keratinophilic fungi in a population of
459 cynocephalus monkeys (*Papio papio*)]. Ann Parasitol Hum comparée
460 [Internet]. 1966 [cited 2013 Aug 1];41(6):627–34. Available from:
461 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5987836>
- 462 15. Schlottfeldt F dos S, Tramontin SW, Nappi BP, Santos JI dos.
463 Reclassificação taxonômica de espécies do gênero *Malassezia*: revisão
464 da literatura sobre as implicações clinicolaboratoriais. J Bras Patol e Med
465 Lab [Internet]. 2002 Jul [cited 2016 Sep 1];38(3):199–204. Available from:
466 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-
467 24442002000300006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442002000300006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
- 468 16. Lacaz C da S, Porto E, Heins-vaccari EM, Melo NT de. Guia para
469 Identificação: Fungos, Actinomicetos e Algas de Interesse Médico. 1st ed.
470 São Paulo: Sarvier; 1998. 456 p.
- 471 17. Feinstein AR. Principles of medical statistics [Internet]. 1st ed. Boca
472 Raton: Chapman & Hall/CRC; 2002 [cited 2019 Mar 11]. 701 p. Available
473 from: [https://www.crcpress.com/Principles-of-Medical-
474 Statistics/Feinstein/p/book/9781584882169](https://www.crcpress.com/Principles-of-Medical-Statistics/Feinstein/p/book/9781584882169)
- 475 18. Jolliffe IT, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent
476 developments. Philos Trans R Soc A Math Phys Eng Sci [Internet]. 2016
477 Apr 13;374(2065):20150202. Available from:
478 <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsta.2015.0202>
- 479 19. Mishra S, Sarkar U, Taraphder S, Datta S, Swain D, Saikhom R, et al.
480 Principal Component Analysis. Int J Livest Res [Internet]. 2017;1.
481 Available from: <http://www.ejmanager.com/fulltextpdf.php?mno=261590>
- 482 20. Qureshi NA, Suthar V, Magsi H, Sheikh MJ, Pathan M, Qureshi B.
483 Application of Principal Component Analysis (PCA) to Medical Data.
484 Indian J Sci Technol [Internet]. 2017 Feb 1;10(20):1–9. Available from:
485 <http://www.indjst.org/index.php/indjst/article/view/91294>
- 486 21. Sartorio SD. Aplicações de técnicas de análise multivariada em
487 experimentos agropecuários usando o software R. Esalq/Usp. USP;
488 2008.
- 489 22. Lever J, Krzywinski M, Altman N. Principal component analysis. Nat
490 Methods [Internet]. 2017 Jul 1;14(7):641–2. Available from:
491 <http://www.nature.com/articles/nmeth.4346>
- 492 23. Gabriel KR, Odoroff CL. Biplots in biomedical research. Stat Med
493 [Internet]. 1990 May 3;9(5):469–85. Available from:
494 <http://doi.wiley.com/10.1002/sim.4780090502>
- 495 24. Vu VQ. ggbiplot: A ggplot2 based biplot [Internet]. R package version

- 496 0.55. 2011. p. 12. Available from: <http://github.com/vqv/ggbiplot>
- 497 25. R Development Core Team. R Software [Internet]. R: A Language and
498 Environment for Statistical Computing. Vienna; 2019. Available from:
499 <http://www.r-project.org>
- 500 26. Bond R, Patterson-Kane JC, Lloyd DH. Clinical, histopathological and
501 immunological effects of exposure of canine skin to *Malassezia*
502 *pachydermatis*. *Med Mycol* [Internet]. 2004 Apr [cited 2016 Sep
503 1];42(2):165–75. Available from:
504 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15124870>
- 505 27. Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegriaki A. The
506 *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. *Clin Microbiol Rev*
507 [Internet]. 2012 Jan [cited 2016 Sep 1];25(1):106–41. Available from:
508 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22232373>
- 509 28. Chikakane K, Takahashi H. Measurement of skin pH and its significance
510 in cutaneous diseases. *Clin Dermatol* [Internet]. 1995 [cited 2016 Sep
511 1];13(4):299–306. Available from:
512 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8665438>
- 513 29. Huang HP, Little CJ, Fixter LM. Effects of fatty acids on the growth and
514 composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine
515 otitis externa. *Res Vet Sci* [Internet]. 1993 Jul [cited 2016 Sep
516 1];55(1):119–23. Available from:
517 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8378605>
- 518 30. Coutinho SD, Paula CR. Proteinase, phospholipase, hyaluronidase and
519 chondroitin-sulphatase production by *Malassezia pachydermatis*. *Med*
520 *Mycol* [Internet]. 2000 Feb [cited 2016 Sep 1];38(1):73–6. Available from:
521 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10746230>
- 522 31. Cafarchia C, Gallo S, Romito D, Capelli G, Chermette R, Guillot J, et al.
523 Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species
524 in healthy dogs and in dogs with localized cutaneous lesions. *J Vet Diagn*
525 *Invest* [Internet]. 2005 Jul [cited 2016 Aug 31];17(4):316–22. Available
526 from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16130988>
- 527 32. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin hydration: a review on its molecular
528 mechanisms. *J Cosmet Dermatol* [Internet]. 2007 Jun;6(2):75–82.
529 Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1473-2165.2007.00300.x>
- 530 33. Chermprapai S, Broere F, Gooris G, Schlotter YM, Rutten VPMG,
531 Bouwstra JA. Altered lipid properties of the stratum corneum in Canine
532 Atopic Dermatitis. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* [Internet]. 2018
533 Feb;1860(2):526–33. Available from:
534 <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005273617303802>
- 535 34. Wagner DK, Sohnle PG. Cutaneous defenses against dermatophytes and
536 yeasts. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1995 Jul [cited 2015 Aug
537 27];8(3):317–35. Available from:
538 <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=174627&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- 539
- 540 35. Pedersen NC, Pooch AS, Liu H. A genetic assessment of the English
541 bulldog. *Canine Genet Epidemiol* [Internet]. 2016 Dec 29;3(1):6. Available
542 from: [http://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40575-016-](http://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40575-016-0036-y)
543 [0036-y](http://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40575-016-0036-y)
- 544 36. Mutter GH. Skin Diseases of the Chinese Shar-Pei. *Vet Clin North Am*
545 *Small Anim Pract* [Internet]. 1990 Nov;20(6):1655–70. Available from:

546
547
548

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561690501667>

550 **Tabela 1** – Medianas e desvios-interquartílicos do percentual de umidade,
 551 oleosidade e temperatura da pele de cães com e sem dermatopatias, segundo
 552 o sexo e localização anatômica.

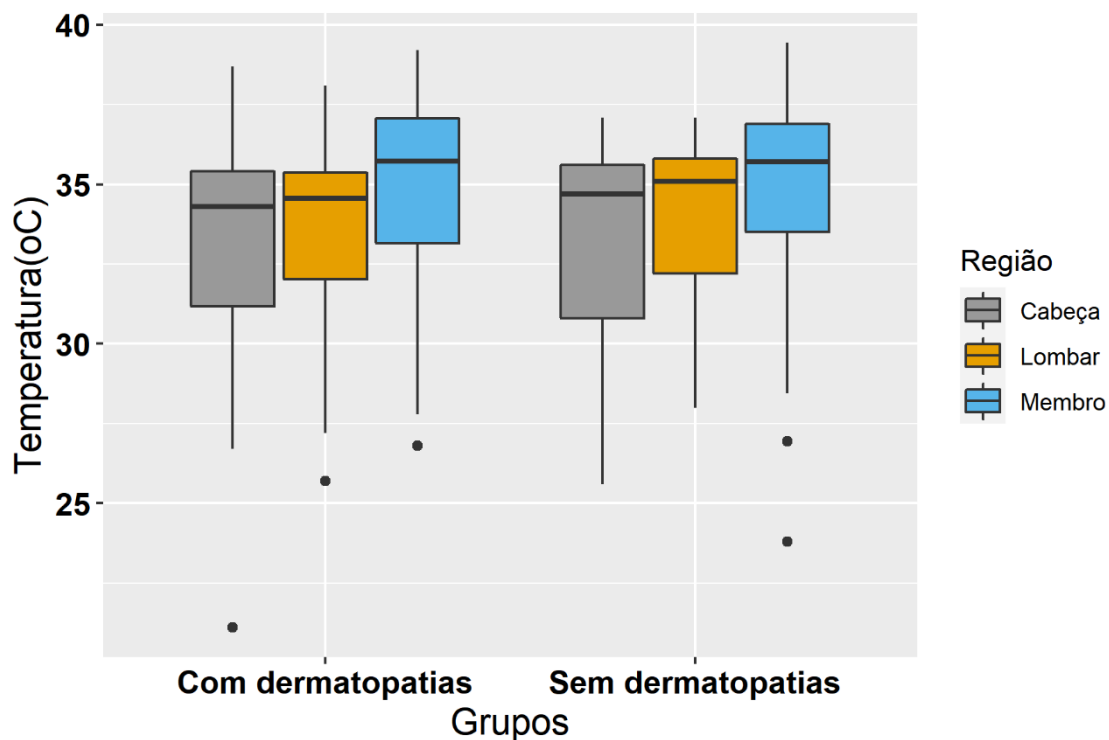
Parâmetro	Região	Com dermatopatias		Sem dermatopatias	
		Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Oleosidade	Cabeça	17,1 ± 3 ^a	16,5 ± 8,0 ^a	16,0 ± 5,9 ^a	15,9 ± 6,2 ^{ab}
	Axilar	24,9 ± 13,2 ^b	24,7 ± 11,2 ^b	25,4 ± 10,3 ^b	21,6 ± 7,8 ^a
	Lombar	17,7 ± 5,4 ^{ab}	15,9 ± 3,9 ^a	16,2 ± 7,6 ^a	16,2 ± 5,8 ^b
Umidade	Cabeça	11,4 ± 4,2 ^a	11,0 ± 7,2 ^a	10,7 ± 5,5 ^a	10,8 ± 7,9 ^{ab}
	Axilar	20,8 ± 13,7 ^b	17,7 ± 8,7 ^b	19,0 ± 13,2 ^b	14,55 ± 6,7 ^a
	Lombar	11,8 ± 25,5 ^b	10,6 ± 2,9 ^a	11,85 ± 7,5 ^a	10,9 ± 5,9 ^b
Temperatura	Cabeça	32,9 ± 3,5 ^a	34,5 ± 5,2 ^a	35,25 ± 3,0 ^a	34,4 ± 5,6 ^a
	Axilar	35,7 ± 2,6 ^b	35,8 ± 4,2 ^b	36,45 ± 2,6 ^b	35,3 ± 3,3 ^b
	Lombar	33,9 ± 3,8 ^a	32,8 ± 3,3 ^a	35,5 ± 2,4 ^c	34,4 ± 5,0 ^c

553 Obs: letras diferentes na mesma coluna, indicam diferenças estatísticas
 554 significativas, dentro de cada região anatômica.

555

556

557

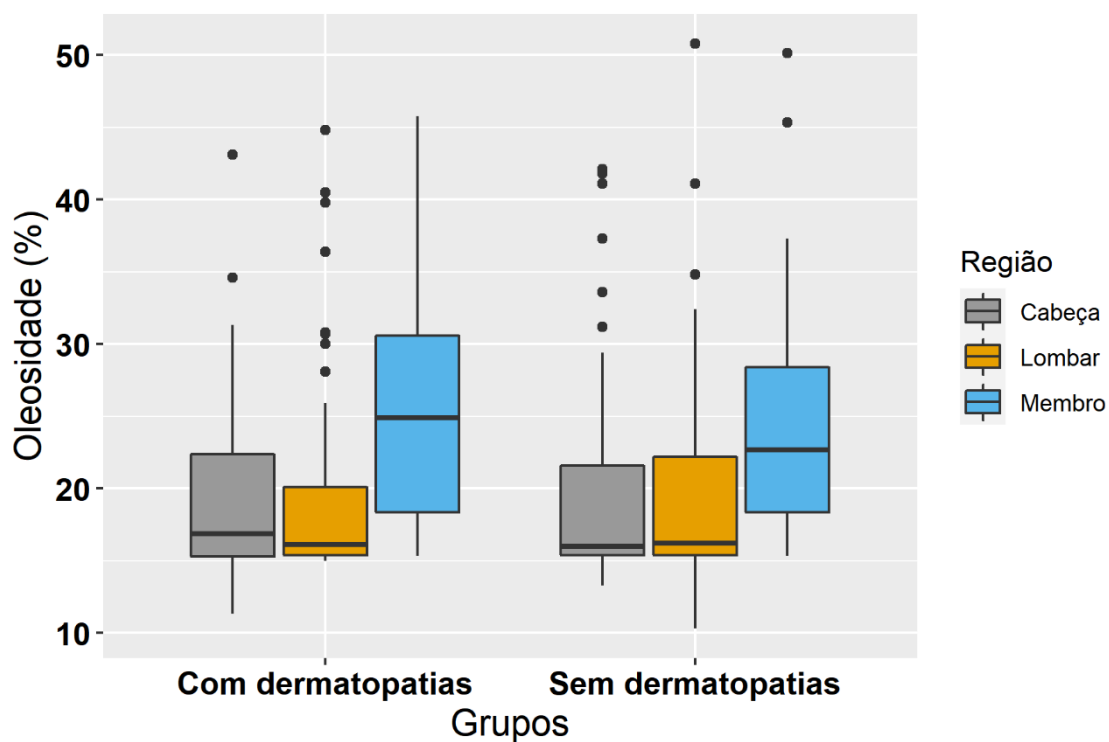


558

559 **Figura 1** – *Boxplot* para temperatura superficial da pele, mensurada com
560 termômetro de infravermelho, segundo área anatômica estudada. As caixas
561 coloridas são limitadas na porção inferior e superior pelos 1º e 3º quartis. As
562 linhas horizontais dentro de cada caixa representam as medianas. As linhas
563 verticais externas indicam os limites máximo e mínimo. Os pontos fora das
564 linhas, são valores excepcionalmente altos (*outliers*).

565

566

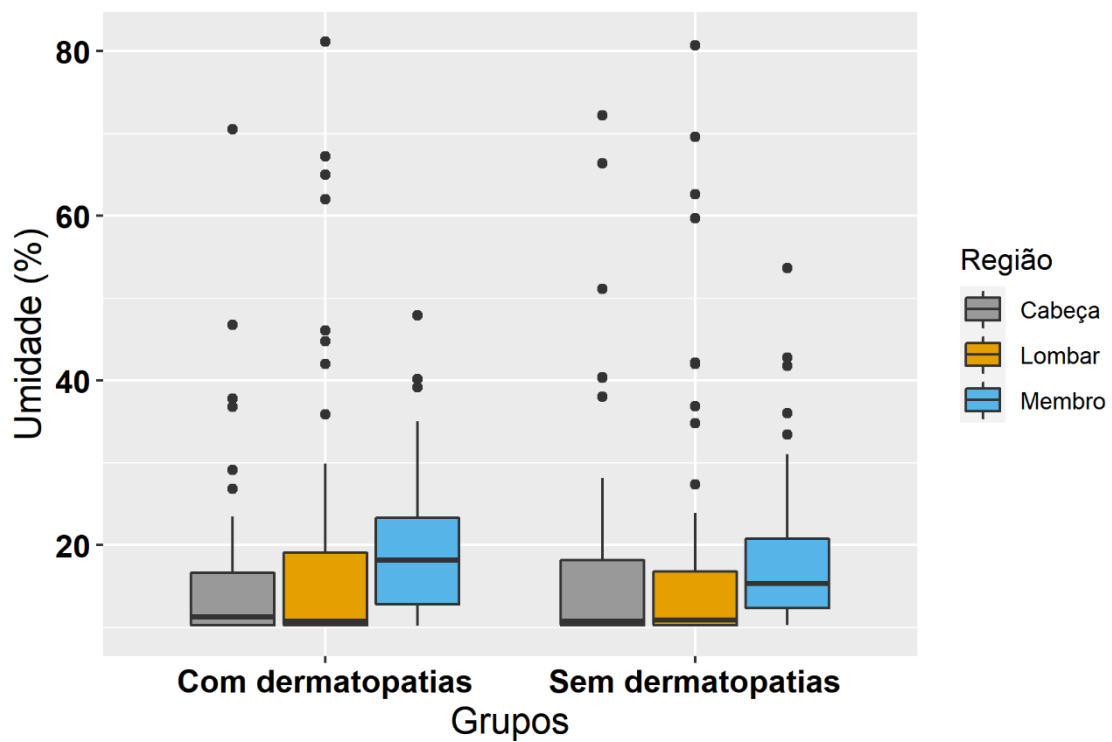


567

568 **Figura 2** – *Boxplot* para percentual de oleosidade da pele, mensurada com
 569 aparelho de bioimpedância, segundo área anatômica estudada. As caixas
 570 coloridas são limitadas na porção inferior e superior pelos 1º e 3º quartis. As
 571 linhas horizontais dentro de cada caixa representam as medianas. As linhas
 572 verticais externas indicam os limites máximo e mínimo. Os pontos fora das
 573 linhas, são valores excepcionalmente altos (*outliers*).

574

575



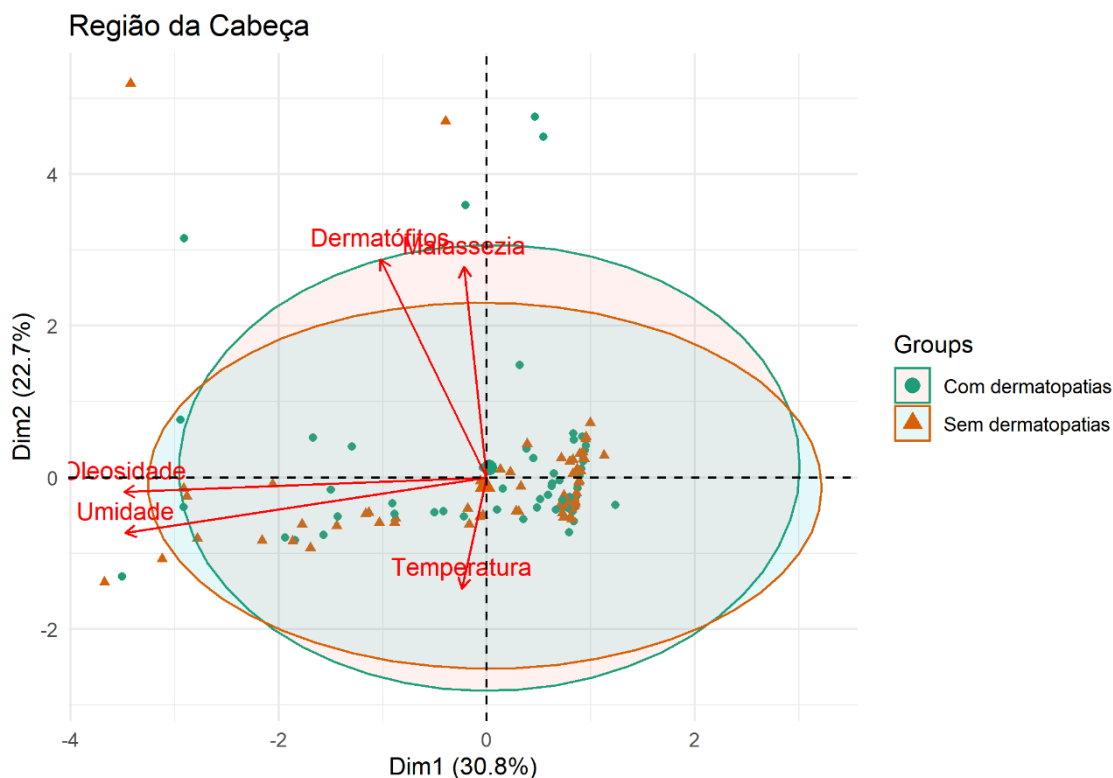
576

577 **Figura 3** – *Boxplot* para percentual de umidade da pele, mensurada com
 578 aparelho de bioimpedância, segundo área anatômica estudada. As caixas
 579 coloridas são limitadas na porção inferior e superior pelos 1º e 3º quartis. As
 580 linhas horizontais dentro de cada caixa representam as medianas. As linhas
 581 verticais externas indicam os limites máximo e mínimo. Os pontos fora das
 582 linhas, são valores excepcionalmente altos (*outliers*).

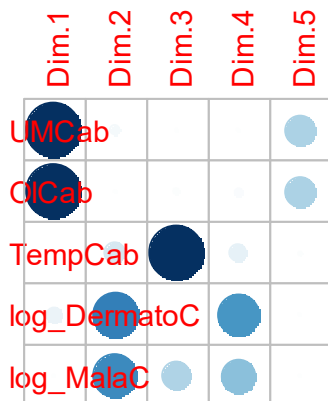
583

584

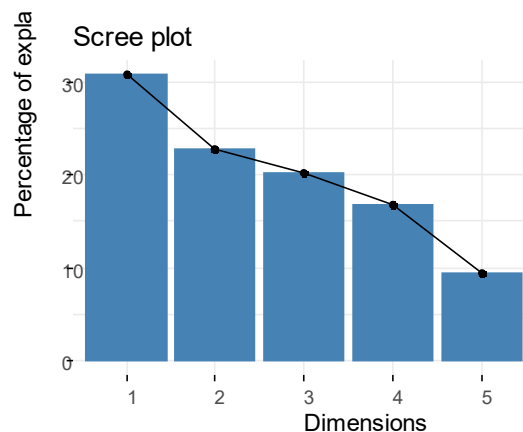
585



B



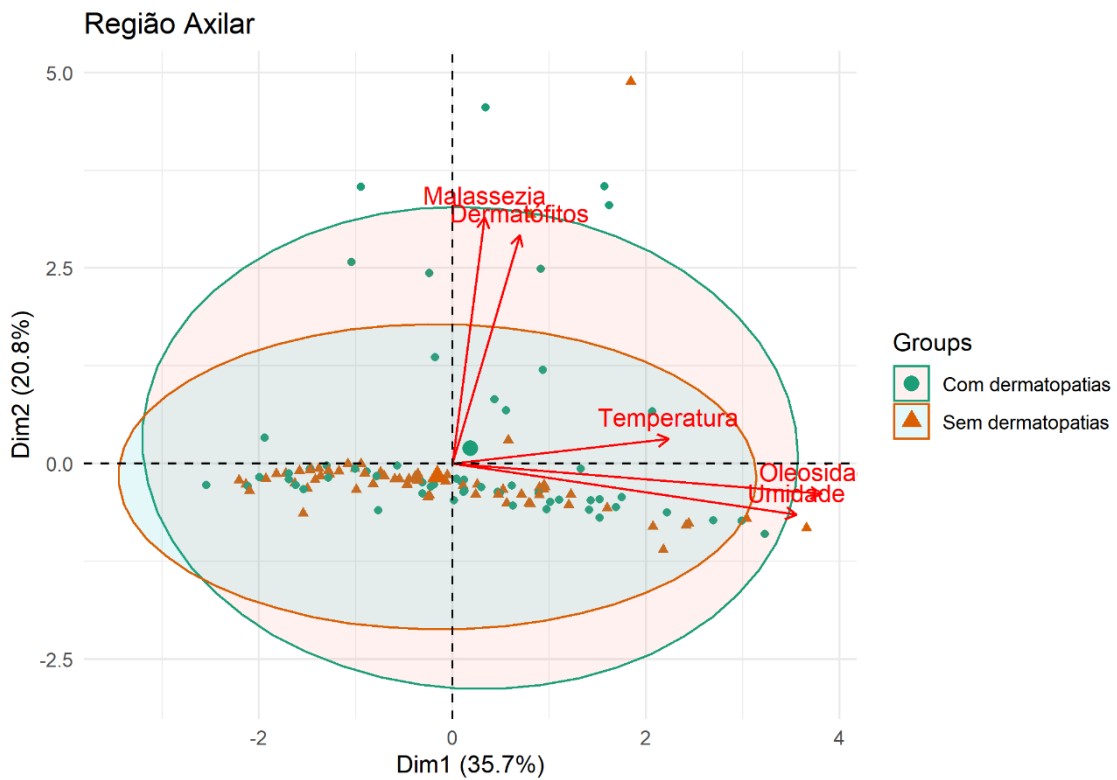
C



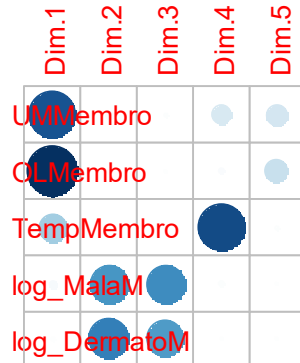
586 **Figura 4** – *Biplot* para a ACP para avaliação da área frontal da cabeça (A) em
 587 cães com e sem dermatopatias. Os pontos indicam a distribuição dos cães no
 588 espaço multidimensional e, as setas representam as variáveis incluídas. Setas
 589 próximas entre si, ou dentro do mesmo quadrante, sugerem interrelação entre
 590 as variáveis. A dimensão do comprimento linear de cada seta indica a
 591 contribuição de cada uma para a variabilidade dos dados. Na matriz de dados
 592 (B), observa-se como cada variável contribui dentro de cada dimensão. Áreas
 593 maiores e tonalidade azul escura contribuem mais intensamente (UMC =

594 umidade da cabeça, OL =Oleosidade da cabeça, TempCab = temperatura da
595 cabeça; log_DermatoC = contagens logaritimizadas de dermatófitos por tira;
596 log_MalaC= contagens logaritimizadas de *M. pachydermatis* por tira; Na
597 terceira figura (C) pode ser observado o *Scree plot* do percentual de cada
598 dimensão na explicação da variação dos dados (C).
599

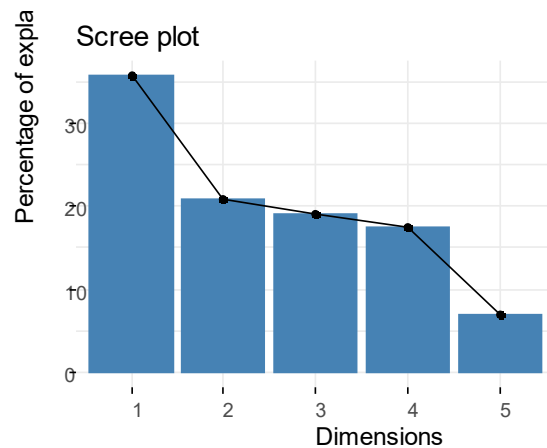
600



B



C

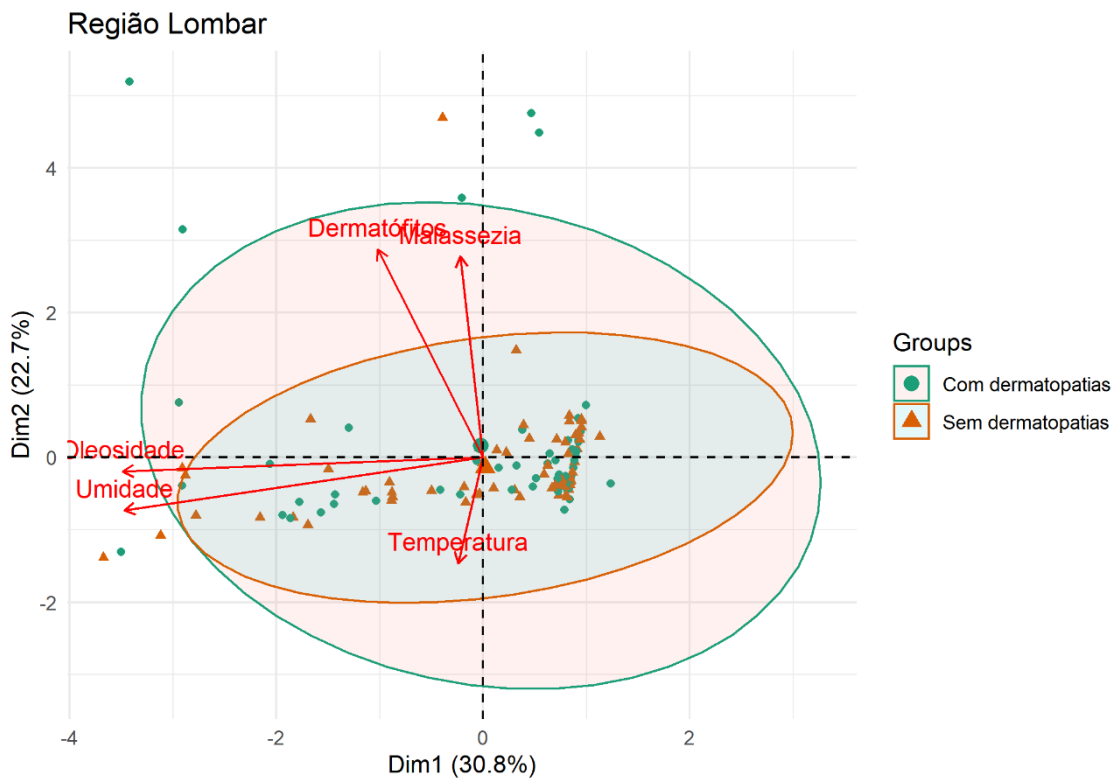


601 **Figura 5** –*Biplot* para a ACP para avaliação da área frontal da cabeça (A) em
 602 cães com e sem dermatopatias. Os pontos indicam a distribuição dos cães no
 603 espaço multidimensional e, as setas representam as variáveis incluídas. Setas
 604 próximas entre si, ou dentro do mesmo quadrante, sugerem interrelação entre
 605 as variáveis. A dimensão do comprimento linear de cada seta indica a
 606 contribuição de cada uma para a variabilidade dos dados. Na matriz de dados
 607 (B), observa-se como cada variável contribui dentro de cada dimensão. Áreas
 608 maiores e tonalidade azul escura contribuem mais intensamente (UMMembro =
 609 umidade média entre axila direita e esquerda, OLMembro =Oleosidade média

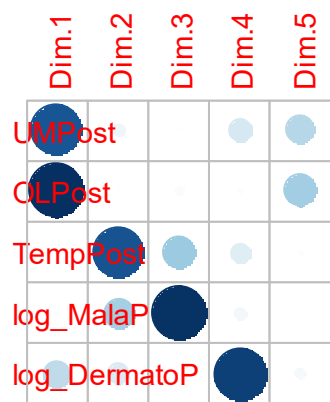
610 entre axila esquerda e direita, TempMembro = temperatura média entre axila
611 esquerda e direita; log_DermatoM = contagens médias logaritimizadas de
612 dermatófitos por tira entre axila esquerda e direita; log_MalaM= contagens
613 médias logaritimizadas de *M. pachydermatis* por tira entre axila esquerda e
614 direita; Na terceira figura (C) pode ser observado o *Scree plot* do percentual de
615 cada dimensão na explicação da variação dos dados (C).

616

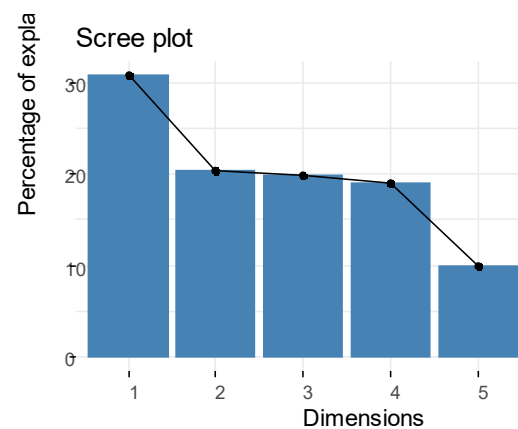
A



B



C

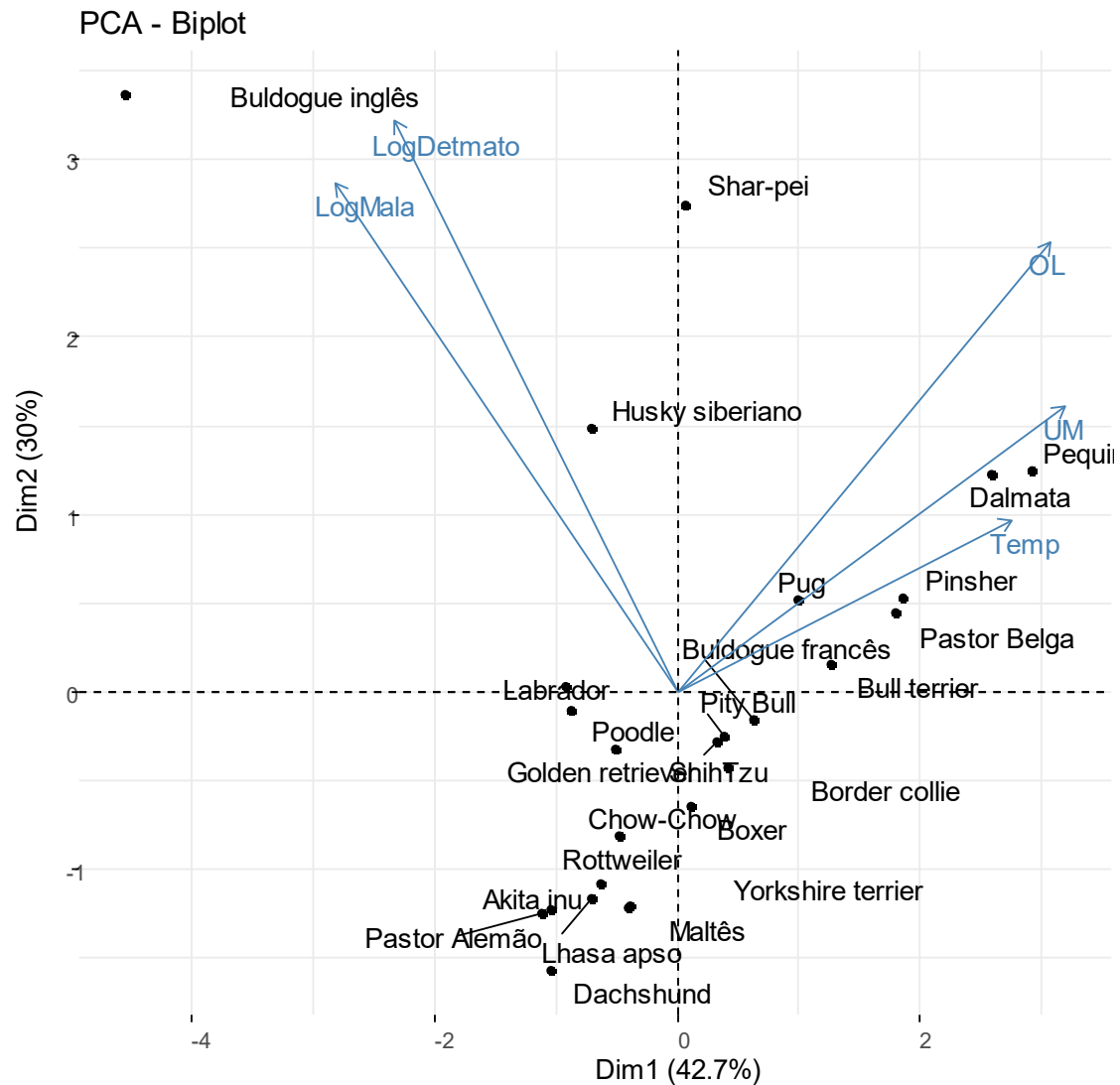


617 **Figura 6** – *Biplot* para a ACP para avaliação da área frontal da cabeça (A) em
 618 cães com e sem dermatopatias. Os pontos indicam a distribuição dos cães no
 619 espaço multidimensional e, as setas representam as variáveis incluídas. Setas
 620 próximas entre si, ou dentro do mesmo quadrante, sugerem interrelação entre
 621 as variáveis. A dimensão do comprimento linear de cada seta indica a
 622 contribuição de cada uma para a variabilidade dos dados. Na matriz de dados
 623 (B), observa-se como cada variável contribui dentro de cada dimensão. Áreas
 624 maiores e tonalidade azul escura contribuem mais intensamente (UMPost =
 625 umidade da região lombo-sacral, OLPost=Oleosidade da região lombo-sacral;

626 TempPost= temperatura da região lombo-sacral; log_DermatoP = contagens
627 médias logaritimizadas de dermatófitos por tira da região lombo-sacral;
628 log_MalaP=contagens logaritimizadas de *M. pachydermatis* por tira da região
629 lombo-sacral; Na terceira figura (C) pode ser observado o *Scree plot* do
630 percentual de cada dimensão na explicação da variação dos dados (C).

631

632



633

634

635 **Figura 7** – Biplot para a ACP, segundo raça de cão. Cada ponto representa a
 636 posição de cada raça em relação a variabilidade multidimensional relativa aos
 637 percentuais de umidade e oleosidade, temperatura e contagens logaritimizadas
 638 de dermatófitos e *M. pachydermatis*.

639

640

ANEXO - NORMAS DA REVISTA VETERINARY DERMATOLOGY

Author Guidelines

Sections

[1. General Comments, Aims and Scope](#)

[2. Manuscript Types](#)

[3. Ethics Requirements for Studies Involving Animals](#)

[4. How to Prepare and Format Your Manuscript for *Veterinary Dermatology*](#)

[5. Editorial Policies](#)

[6. Author Licensing](#)

[7. Publication Process after Acceptance](#)

[8. Post Publication](#)

[9. Editorial Office Contact Details](#)

1. GENERAL COMMENTS, AIMS, SCOPE

Veterinary Dermatology is a bi-monthly, peer-reviewed, international journal which publishes papers on all aspects of the skin of mammals, birds, reptiles, amphibians and fish such as:

- Skin structure (anatomy, histology, ultrastructure)
- Skin function (physiology, biochemistry, pharmacology, immunology, genetics)
- Skin ecosystem, microbiology and parasitology relevant to skin
- Dermatopathology
- Pathogenesis, diagnosis and treatment, including prophylaxis, of skin diseases
- New skin disease entities

The journal is available online and as hardcopy and publishes:

- Scientific research papers
- Brief communications
- Clinical case reports
- Invited reviews
- Special feature articles (e.g. “Clinical Techniques”, “Histopathology Corner”)
- Letters, book reviews and editorials

Submission to *Veterinary Dermatology* implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief (maximum 250 word) abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium. Studies reporting negative results (i.e. null hypothesis cannot be rejected) will also be considered providing the study design is sufficiently robust relevant to the journal.

2. MANUSCRIPT TYPES

The requirements for each manuscript type are described below and summarised in the table with more specific recommendations on manuscript preparation and formatting under [section 4](#)

Scientific research papers are original experimental or observational studies that present novel results and conclusions or advances within the scope of this journal. Articles have a separate structured abstract of up to 250 words, followed by an Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References and in some cases Supporting

information. Articles should be no longer than 3000 words, excluding title page, abstract, figure and table legends, acknowledgement and references, and they can include six display items (figures or tables). Additional information can be published as Supporting Information (online only) but may not undergo the same copyediting processes by the editorial team.

Brief Communications report novel or important findings or clarifications in a concise format. The text (excluding title page, abstract and references) is limited to 1500 words with up to 12 references. For some manuscripts the editors may ask to reduce the word count to 750 and up to six references. Up to four display items (figures or tables) can be included.

Case Reports will only be considered for publication if they add new and useful information for the discipline of veterinary dermatology. The word limit for all case reports is limited to **750 words, excluding title page, abstract, acknowledgement and references**. The main text must focus solely on novel key information provided by the case(s). Relevant additional information may be submitted as Supporting Information (published online, not in print). Such Supporting information may for example include detail of diagnostic procedures or treatment that can generally be considered as widely accepted in veterinary dermatology practice or a chronological description of progress. Up to four display items (figures or tables) can be included. No more than six references are recommended, up to twelve may be acceptable at the editor’s discretion. Consideration will be given to reports:

- of new diseases or conditions, or of variations on recently described diseases
- of diseases that are of zoonotic importance or are highly contagious
- that will make a significant change in how a disease is diagnosed or treated.

Case series should be submitted in the format of Case Reports but submission as a Scientific Paper may be considered **after** discussion with the editors.

Letters to the Editor may cover a variety of topics and these may include but are not restricted to:

1. Briefly highlighting an issue with a previously published paper.
2. Seeking to generate discussion or awareness of a developing area.

Letters will be limited to 750 words, including references, and up to two display items (figure or table).

Review articles are by invitation from the Editor-in-Chief and after approval from the editorial team. The structure will vary depending on content, but manuscripts should not exceed 6000 words unless agreed with the editors before submission. Authors wanting to propose a topic for review or to submit a review article should contact the Editor-in-Chief (via VDEedoffice@wiley.com) with a brief description of the article and outline.

Book reviews will be invited by the editors. Books proposed for review can be discussed with the editors.

Special feature articles are articles such as “Clinical techniques”, “Histopathology corner” or editorials. They are by invitation from the editors and advice on formatting will be provided as appropriate for the topic.

Summary of manuscript structure

	Abstract	Word limit	Display items (figures or tables)	References
Scientific paper	Structured and up to 250 words	3000* (or as discussed with the editors)	Around 6	Typically no more than 50

Brief communication or short case series	Structured and up to 250 words	1500* (750 may be advised by an editor)	Up to 4	Up to 12, six if 750 words
Case report	Narrative and up to 50 words	750*	Up to 4	Up to six (12 at editor's discretion)
Letter to the Editor	None	750 (including title and references)	Up to 2	Up to 6
Review – by invitation	Can be truncated or structured and up to 250	Up to 6000* (or as discussed with the editors)	As appropriate	As appropriate
Book review	Information provided by the editors			
Special feature articles	Information provided by the editors			

*excluding title page, abstract, figure and table legends, acknowledgement and references

For all types of contributions, relevant **Supporting information** containing additional text and figures may be allowed. All Supporting information should be referenced in the text. It will be peer reviewed but only published online. Supporting information, if extensive, may not undergo the journal's full copyediting process, primary responsibility for clear formatting lies with the authors and editors may ask the authors to edit the material prior to publication.

www.wiley.com/go/nihmandate

3. ETHICS REQUIREMENTS FOR STUDIES INVOLVING ANIMALS

All material published in *Veterinary Dermatology* must adhere to **high ethical standards on animal welfare** as set out by the International Association of Veterinary Editors (IAVE), available at <http://www.veteditors.org/consensus-author-guidelines-on-animal-ethics-and-welfare-for-editors/>

Authors are responsible for including information on provision of best practice and animal welfare in the manuscript and – if requested by the editors – provide evidence for compliance with these requirements prior to peer review or publication.

For all studies involving invasive procedures, analgesia, sedation and/or anaesthesia must always be used as appropriate and such use must be clearly described. The Editors retain the right to reject manuscripts when, in their opinion, studies involved unnecessary pain, distress, suffering or lasting harm to animals or where the relevant guidelines were not followed. In addition, the Editors would not normally support publication of experiments resulting in euthanasia. They will collaborate, if

required, with institutions and other organizations that investigate cases of suspected research misconduct following: [COPE guidance](#).

Which animal studies require ethical oversight?

For the purpose of publishing in *Veterinary Dermatology*, ethical considerations and their inclusion in a manuscript are required for:

- Clinical studies involving **client-owned animals** if the study design classifies a study as research (e.g. if animals are randomised into groups). Ethical oversight and approval are required even if the outcome of the study (e.g. the efficacy of a new treatment, or accuracy of a diagnostic tests) is either for the direct benefit of the animals under treatment, or their immediate group. Ethical approval is NOT required if established internationally recognised high standards (“best practice”) of individual veterinary patient care were followed.
- All studies on **experimental animals** where there is no direct benefit to the animals or their immediate group and where the procedures used may cause pain, suffering, distress or lasting harm. Animals used for these scientific purposes are protected by national legislation and/or regulations.
- *In vitro* studies using **tissue** from animals or humans (e.g. skin biopsy samples, serum, faeces) where the origin of samples needs to be confirmed as compliant with requirements for “best practice” or ethics guidelines.
- Studies using non-invasive procedures (e.g. swabbing for microbial skin carriage) if **personal identifiable data from owners** were collected during the study (informed verbal or written consent will be a minimum requirement for publication).
- Research where the results, even if obtained by non-invasive methods (e.g. work done on swab, faecal, serum samples), may have **implications for human health**, e.g. for studies screening for zoonotic pathogens, how was the reporting of results communicated to owners?

Authors are asked to:

1. **At submission,**
 - **confirm** that animal use was conducted in accordance with international, national and institutional guidelines for the humane treatment of animals, and in compliance with relevant legislation
 - Provide the name of any **approving body, institutional reference number** or **approved protocol number** where applicable
 - **confirm** that **written consent** was obtained from animal owners for studies using privately/client-owned animals (or declare that this was not required for their study).
2. **Include in the ‘Materials and Methods’ section of the manuscript,**
 - a statement on whether ethical considerations were required for the study
 - if yes, include as the first paragraph of the ‘Materials and Methods’ section under the subheading “**Ethics**” sufficient detail on the ethics review and approval to allow assessment of the process. The section needs to include that **written informed owner consent** was obtained.

Specific comments on what is required

Client/private-owned animals: all studies to be considered for publication in *Veterinary Dermatology* must have followed internationally recognized “**best clinical practice**” **standards for veterinary patient care** and procedures must be described in the ‘Materials and Methods’ section (first subheading “**Ethics**”). Authors need to describe how the institutional, national and/or international guidelines were met (including name of approving body and **institutional**), and details of how animal welfare standards/best veterinary practice standards were met (names of ethical oversight bodies need to be hidden for confidentiality until acceptance as for other identifiers in the

manuscript). Authors must ensure that owner consent for use of images has been given where animals may be identifiable.

- Where veterinary interventions went **beyond “best clinical practice” for individual patients**, approval by an institutional ethics review/oversight committee will be required and authors must be able to confirm that informed, appropriately worded written consent had been obtained from animal owners prior to study begin.
- The description in the manuscript needs to include how **owners’ confidentiality** was ensured.
- Where an institutional ethics review/oversight board is not directly accessible to authors, a moral obligation of achieving these standards remains and other arrangements must be made for this to take place **before study begin**. **Authors working in private practice** are encouraged to seek suitable external assessment from national professional organisations, e.g.
- by consulting with and involving a colleague with relevant experience at a reputable institution or a university or veterinary school with access to an oversight committee.
- in the UK, clinicians who wish to conduct clinical trials, and do not have access to a university ethical review, may submit study plans to the Royal College of Veterinary Surgeons for review by its ethical review panel <https://www.rcvs.org.uk/who-we-are/committees/ethics-review-panel/> For example, by the ethical review committee at a reputable institution such as a university or veterinary school.
- By recruiting the oversight of an *ad hoc* ethical committee. Detail must be provided in the manuscript on the nature of an *ad hoc* committee used (and which must have included at least some individuals independent of the institute(s)/clinic(s) involved in the work.
- As a minimum requirement, authors will be asked to discuss with the editors (and describe in the Methods) that they have searched for suitable external assessment and that their research was conducted in a manner likely to be approved by ethics committees/boards in most countries.

All research involving **experimental animals** submitted for publication must be approved by an ethics committee with oversight of the facility in which the studies were conducted and be compliant with national regulations. Also, several internationally accepted guidance documents are available and should be followed:

- The international Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (1985) from the Council for International Organizations of Medical Sciences, available at <https://cioms.ch/shop/product/international-guiding-principles-for-biomedical-research-involving-animals-2/> (or from the Executive Secretary CIOMS, c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland)
- For planning of animal experiments the PREPARE guidance and for reporting of animal research the ARRIVE guidance as detailed in the links below:
 - PREPARE (Planning Research and Experimental Procedures on Animals): Recommendations for Excellence) guidelines: <https://norecopa.no/prepare>
 - PREPARE checklist: https://norecopa.no/media/7864/prepare_checklist_english.pdf
 - ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines: <https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines> . These were developed by the NC3Rs to improve standards of reporting and ensure that the data from animal experiments can be fully evaluated and utilised.
 - ARRIVE checklist: [https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Guidelines/NC3Rs%20ARRIVE%20Guidelines%20Checklist%20\(fillable\).pdf](https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Guidelines/NC3Rs%20ARRIVE%20Guidelines%20Checklist%20(fillable).pdf)
- If authors are from within the EU, the ethical and welfare standards of the work must at least reach those required by the Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. Text with EEA relevance: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32010L0063> . Within this Directive (under Article 49), Member States are asked to establish national committees for the protection of animals used

for scientific purposes to exchange information on the operation of animal welfare bodies and project evaluation and share best practice within the Union. Links to already established authorities are included for many

countries: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/nc_en.htm

- For the **UK** in particular, authors need to conform to UK legislation under the Animals (Scientific Procedures) Act 1986 Amendment Regulations (SI 2012/3039): <https://www.legislation.gov.uk/ukpga/1986/14/contents>
- Authors from the **USA** should cite compliance with US Institutional Animal Care and Use Committees (or IACUCs)(See: <https://www.aalas.org/iacuc>) as applicable. Specifically, experiments and clinical trials should be carried out in accordance with the Guidelines by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21595115>) and <https://olaw.nih.gov/guidance/fags>
- For authors from countries where an ethical review/oversight body is not readily available, this should be stated and the nature of alternatives sought, e.g. of an ad hoc committee used for this purpose should be described (which must have included at least some individuals independent of the institute(s)/clinic(s) involved in the work).

4. HOW TO PREPARE AND FORMAT YOUR MANUSCRIPT FOR *VETERINARY DERMATOLOGY*

On submission, authors will be prompted to:

- use an ORCID iD (Open Researcher and Contributor ID, a unique author identifier) to help distinguish their work from that of other researchers. [Click here](#) to find out more.
- Provide contact details and academic affiliations for all authors and identify the corresponding author. Details must match those listed on the title page (see below) which is to be submitted separately to allow blinded peer review.
- Confirm originality and compliance with ethical requirements
- State funding sources
- List three recommended reviewers and can also (optional) list opposed reviewers - these suggestions will not be binding for the editors)

Authors are encouraged to consult Wiley's free online guidance resources on writing for publication or language and style guides. We strongly recommend that authors familiarise themselves with *Veterinary Dermatology's* style and format by reading a recent issue of the journal online or as hard copy. Correct preparation and formatting will improve the review and publication process and help to avoid delays.

All manuscripts

Separate files should be submitted, as appropriate, in the following order:

1. Title page (includes details of authors, funding, conflicts of interest, acknowledgements as detailed below)
2. Main text file (designated Main Document during upload)
3. Tables
4. Figures
5. Supporting Information

Manuscripts (including references, figure and table legends) must be submitted as A4 or 8.5 x 11 inch format with 2.5 cm margins, single-spaced typed, align text left, 12 point font using sans serif typeface such as Helvetica (Swiss), Arial or Verdana style (please do not use Times New Roman). Each **line and page should be numbered** in the manuscript text.

As *Veterinary Dermatology* operates a system of double-blinded review, authors should **avoid including identifiers within the main text file**: the name of the institution at which the work was performed, initials of the authors; and must remove institution names from illustrations in order to maintain anonymity. Please include these details on the title page.

Title Page

A **Title Page** should be submitted **as a separate file** for all types of contributions. It will not be forwarded to the reviewers and should contain:

1. A short informative title. The title should not contain abbreviations or tradenames of drugs (see Wiley's [best practice SEO tips](#));
2. A short running title of less than 50 characters
3. The full names of the authors;
4. The authors' institutional affiliations where the work was conducted. Where authors have moved to different addresses since, please also provide their current address.
5. Authors can stipulate if they share first authorship or senior authorship
6. Acknowledgements.

The **Acknowledgments** section should list contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship, with permission from the contributor. This will include any details of writing assistance companies and who funded this.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data;
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content;
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Additional Authorship Options: Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. 'X and Y should be considered joint first author' or 'X and Y should be considered joint senior author.'

Conflict of Interest Statement

Authors should provide a conflict of interest statement for each contributing author. For details on what to include in this section, see the '[Conflict of Interest](#)' section in [section 5](#) below. The

submitting author must ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Study presentation: Please state if, where and when the study has been formally presented at a conference.

Main text file

The main text file should include in the following order:

1. Title
2. Abstract
3. Keywords
4. Main text
5. Table and Figure legends (Tables and figures should be supplied as separate files).
6. References

As papers are double-blind peer reviewed, the **main text file** should not include any information that might identify the authors. Please **submit with placeholders** so that information can be re-inserted after acceptance (and make sure you pay attention to identifying information in the **display items**).

Title

A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations or tradenames of drugs (see Wiley's [best practice SEO tips](#)). Include geographical origin of study where this is critical for the study results.

Abstract

The abstract should be no more than 250 words and must be structured (for case reports no more than 50 words and not structured) using the subheadings given below. While this format is most appropriate for scientific papers, the authors of reviews and brief communications are encouraged to also provide a structured abstract:

- Background – A brief explanation of why the study was performed.
- Hypothesis/Objectives – A statement of the principal hypothesis tested in the study, a brief statement of the major objectives, or both.
- Animals – A concise description of the number of animals used in the study including the population from which they were drawn (e.g. research colony, hospital population) and any special characteristics of the animals (e.g. disease status).
- Materials and methods – A statement of overall study design (e.g. randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial; retrospective study) and principal interventions or methods.
- Results - Concise statement of important results including numerical description of critical variables and statement of statistical significance.
- Conclusions and clinical relevance – A summary of conclusions based on the study results and, where appropriate, a statement of the clinical importance of the study. The results should not be restated.

Keywords

Please provide seven keywords.

Main text

Scientific papers should normally be no more than 3000 words excluding abstract, figure and table legends, acknowledgement and references and subheadings can be incorporated if they contribute to clarity and structure. A referenced **Introduction** of typically up to 500 words provides the background to the work and finishes with the aim or the hypothesis of the study. The **Materials and methods** section (starting with a paragraph on **Ethics** if required for the study) needs to include data collection methods and detail on statistical analyses under a subheading “**Statistical methods**”.

These will also be scrutinized by referees, editors and, if necessary, a statistician. It is strongly recommended that authors seek advice from a professional statistician prior to submission if complex analyses are presented or to confirm that appropriate tests have been used to substantiate statements and conclusions. The **Results** should be presented concisely and not duplicate the methods. **Discussion.** The text will end with a sentence or two on the main **Conclusion** which should include a statement on the clinical relevance if appropriate. **Table and Figure legends** should be concise but comprehensive – tables and figures and their legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Tables and table/figure legends

The main text file should include all legends/captions for tables and figures. Smaller tables can be included in the main text file (after the captions/legends, before the references) but large tables and figures need to be uploaded as separate files ([see information on image requirements below](#)). All tables and figures should be **self-contained and complement, not duplicate**, information contained in the text and all need to be cited somewhere in the text.

Tables should be limited to those containing data important to understanding and interpreting results or help to reduce and clarify the text. Number tables consecutively in the order of the first citation in the text and supply a brief title for each. Give each column a short or abbreviated heading. Place explanatory material in footnotes, not in the heading. Explain in the footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table. Identify statistical measures of variations such as standard deviation. If you use data from another published or unpublished source, obtain written permission and acknowledge fully.

Large tables should be submitted as separate table files (e.g. in Word or Excel), uploaded after the main text. If uploaded as separate files, table captions need to be included in the main text file, after the main text, before the references. For both versions, tables should be editable, not pasted as images.

References

Please note that EndNote™ and Refman™ software for the *Journal of the American Veterinary Medical Association* can be used for *Veterinary Dermatology*; please adapt to Vancouver style).

Software programmes for creating reference lists may be used but they should be set up so that they generate in-text citations and reference lists according to the instructions and examples given below. Authors bear primary responsibility for the accuracy of all references. References must be limited to those that are necessary and must be cited in the text by superscript numbers in order of citation. Journal titles in the Reference section should be abbreviated in accordance with the National Library of Medicine (NLM website) and *Index Medicus*. For references with more than three authors, only the first three authors should be listed, followed by ‘*et al.*’ The following is the style used for common types of references:

Article in journal

1. Müntener T, Doherr MG, Guscetti F *et al.* The canine hair cycle – a guide for the assessment of morphological and immunohistochemical criteria. *Vet Dermatol* 2011; 22: 383-395.

Book

2. Scott DW. *Large Animal Dermatology*. Philadelphia, PA: Saunders, 1988; 457–458.

Book chapter

3. Muir P, Johnson KA, Manley PA. Fractures of the pelvis. In: Birchard SJ, Sherding RG, eds. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. 2nd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 2000; 1,126–1,132.

Proceedings

4. Kunkle G, Hillier A, Beale K et al. Steroid effects on intradermal skin testing in sensitized dogs. In: *Proceedings of the American Academy of Veterinary Dermatology & American College of Veterinary Dermatology*. Charleston, SC, USA: 1994; 54–55.

Electronic Material

5. 5. Animal and Plant Health Inspection Service website. Bovine spongiform encephalopathy (BSE). Available at: www.aphis.usda.gov/lpa/issues/bse/bse.html. Accessed Feb 18, 2003.

Figures: Clinical photographs & photomicrographs

All figures need to be uploaded as separate files (in a native image format, not embedded into a Word document) and all need to be referenced in the text. Limit figures to those that reduce or clarify the text. Images should be free of extraneous material and, where possible, if portions of the handler such as fingers or hands are to be included, particularly adjacent to lesions, they should be gloved.

Images, grouped into one figure as a plate (montage, composite plate) are allowed and should have no tooling (space bars) to separate the individual images. The edges should be directly opposed. The files should be arranged to create a perfect square or rectangle. Plates should be either 90 or 180 mm wide (one or two column widths). Each part should be labelled in the top left-hand corner in black, (or if appropriate for clarity in white) in Arial, in lower case, with no brackets, starting with a, b, c, etc. The image editor reserves the right to regroup figures as required by typesetting. The editors strongly advise to limit the number of images in each figure to those that are absolutely needed to illustrate the content of the manuscript.

Image file format: All images must be of high quality for reproduction. Poor-quality images may be removed from a manuscript and where critical to the content may lead to rejection of a manuscript. Images should have a minimal resolution of 300 dpi and at 90 or 180 mm wide (one or two column widths). Grey tone and line drawings require 600–1200 dpi. The images should be saved in TIFF (preferably) using IBM PC format or JPEG files (JPEG should be uncompressed). PowerPoint, PDFs and Word graphics are unsuitable.

Graphics created in the CMYK colour palette (print colours) are preferable to those created in RGB (screen colours) to maximize the consistency of print reproduction. Images supplied in RGB will be converted to CMYK for printing; this may lead to some variations in colour representation. Immunofluorescence images may be submitted in RGB.

When symbols, arrows, numbers or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one clearly in the legend.

Figures submitted in colour will be reproduced in colour, free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white.

Photomicrographs

The microscope must be set up for Koehler illumination, so that the light is evenly dispersed in the image. The anatomic orientation of the skin should be maintained. The epidermis should be at the top of the image and horizontal; the background above the epidermis should be bright and white. The images should not contain artifacts from tissue processing/cutting/staining/cover slipping or photography.

Authors are **not** obliged to use length or scale bars, reviewers/editors may recommend their use because it is deemed to be critical to the understanding of photomicrograph; they are required for electron micrograph images. Magnification (scale) bars should be black, approximately 1 cm long and placed in the lower right corner, 5 mm above the lower margin and with the right end 5 mm from the right margin. The overall magnification should be specified according to the microscope objective (i.e 4X, 10X, 40X).

For more information about the preparation of images please see the guidelines as attached [here](#). While these guidelines were written some time ago and technology has moved on the general

principles are still applicable. Please ensure that individual figures files are no larger than 5 MB. If your file is substantially bigger than this, please contact the Editorial Office: VDEedoffice@wiley.com; to discuss file saving and submission options.

For **graphs**, to ensure high-quality reproduction, symbols should be clear and even throughout and of sufficient size, that when reduced for publication, each item will still be legible. Graph axes should be labelled in sans serif (Helvetica or Arial) font. Letters, Numbers and Titles belong in the legends for illustrations, not on the illustrations themselves. Software programmes such as GraphPad can be used to download graphs into a word document for submission as an image/figure file.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, even so, it provides greater depth and background. It is hosted online and appears with limited editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc. [Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points & Examples

Veterinary Dermatology is an international journal and contributions should therefore be written clearly and simply so that they are accessible to readers for whom English is not their first language. Thus, abbreviations, particularly those that are not standard, should be kept to a minimum. The background, rationale and main conclusions of the study should be clearly explained. Titles and abstracts, in particular, should be written in language that will be readily intelligible to any scientist. Essential but specialized terms should be explained concisely at first use. Papers will be rejected for poor language. Non-native English speakers may occasionally receive feedback from editors and reviewers regarding language and grammar usage in their manuscripts.

- **Abbreviations:** use only if the term is used repeatedly. Write word in full at first use with abbreviation in parentheses, thereafter use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** SI or SI-derived units (<https://www.bipm.org/en/about-us/> for more information).
- **Numbers:** numbers under 10 spelt out in full, this includes weeks, months and years; also for lists with other numbers (**11 dogs, nine cats, four gerbils**). But not for: measurements with a unit (**8 mmol/l**)
- **Age** should be given as **2-year-old or 10-year-old; with "Two-year-old"** at the start of a sentence;
- **Drug dosages** are given as: e.g. mg/kg; µg/kg; also use 'once daily', 'twice daily' etc.
- For **animal breed names**, please check recent articles for information about the spelling of animal breeds.
- **Chemical substances and drugs** should be referred to by the generic name only. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name at first use, mentioning the proprietary name and the name and location (city, (state), country) of the manufacturer in parentheses (or as foot notes in case reports and brief communications), g. **fenbendazole (Panacur; Intervet-Schering Plough, Milton Keynes, UK)**. Spellings of drugs should follow the recommended International Non-Proprietary Names (rINN). Common examples include **cefalexin, ciclosporin, meticillin** and rifampicin.
- Detail on products such as equipment, software or methods should be given as: Product name (Company name; town or city, (state) and country); e.g. Datex CD 200-02 (Datex; Hatfield, UK); or SuperScript®III First-Strand Synthesis kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). For case reports and brief communications, these can be given as foot notes.
- **Names of microbes, genes, proteins:** Upon its first use in the title, abstract, and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species) in parentheses. For well-known species, however, full scientific names may be omitted from

article titles (e.g. MRSA). If no common name exists in English, only the scientific name should be used.

- For **gene, protein and other specialized names** authors can use their preferred terminology so long as it is in current use by the community, but they **must give all known names** conforming to internationally agreed nomenclature at first use in the paper.

5. EDITORIAL POLICIES

Peer review process: Double-blinded peer review by at least two referees. Average time to first editorial decision 33 days.

All manuscripts are assessed by the editorial office initially for plagiarism, completeness of statements and screened for appropriate formatting and style. They may be returned to authors at that stage for adjustments before forwarded to an editor. If a manuscript is flagged by the editor as problematic, it would get reviewed by at least two additional members of the editorial team and then either sent for peer review or occasionally be rejected without peer review if major concerns are found (e.g. not within the scope of the journal, major ethical or design flaws). They will collaborate, if required, with institutions and other organizations that investigate cases of suspected research misconduct following [COPE guidance](#).

Editorial Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Except where otherwise stated, manuscripts are double-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on confidentiality of the review process is [available here](#).

Data Storage and Documentation

Veterinary Dermatology encourages data sharing wherever possible, unless this is prevented by ethical, privacy, or confidentiality matters. Authors publishing in the journal are therefore encouraged to make their data, scripts, and other artefacts used to generate the analyses presented in the paper available via a publicly available data repository; however, this is not mandatory. If the study includes original data, at least one author must confirm that he or she had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. Authors are encouraged to adhere to the following research reporting standards.

- [ARRIVE guidelines](#)
- [REFLECT statement](#)

Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL, or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL, and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'. Addresses are as follows:

- DNA Data Bank of Japan (DDBJ) ddbj.nig.ac.jp
- EMBL Nucleotide Archive: ac.uk/ena
- GenBank ncbi.nlm.nih.gov/genbank

Proteins sequence data should be submitted to either of the following repositories.

- Protein Information Resource (PIR): georgetown.edu
- SWISS-PROT: ch/sprot/sprot-top

Conflict of Interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. Even if it was not restricted to the project described in the submission.

The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

Publication Ethics

This journal is a member of the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#).

Note this journal uses iThenticate's CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read the Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley's Publication Ethics Guidelines can be found at authorservices.wiley.com/ethics-guidelines/index.html.

ORCID

As part of the journal's commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. [Find more information here.](#)

6. AUTHOR LICENSING

If a paper is accepted for publication, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [OnlineOpen](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please [click here](#). (Note that certain funders mandate a particular type of CC license be used; to check this please click [here](#).)

Self-Archiving Definitions and Policies: Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please click [here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: Authors who choose to publish using OnlineOpen will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please click [here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted Article Received in Production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with [Wiley Author Services](#). The author will be asked to sign a publication license at this point.

Accepted Articles

The journal offers Wiley's Accepted Articles service for all manuscripts. This service ensures that accepted 'in press' manuscripts are published online shortly after acceptance, prior to copy-editing or typesetting. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance and appear in PDF format only. They are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked and are indexed by PubMed. After the final version article is published (the article of record), the DOI remains valid and can still be used to cite and access the article.

Accepted Articles will be indexed by PubMed; submitting authors should therefore carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript so it is accurate for indexing. Subsequently, the final copyedited and proofed articles will appear in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will update automatically.

Proofs

Authors will receive an e-mail notification with a link and instructions for accessing HTML page proofs online. Page proofs should be carefully proofread for any copyediting or typesetting errors. Online guidelines are provided within the system. No special software is required, all common browsers are supported. Authors should also make sure that any renumbered tables, figures, or references match text citations and that figure legends correspond with text citations and actual figures.

Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made during the editorial process – authors should check proofs carefully. Note that proofs should be returned within 48 hours from receipt of first proof.

Early View

The journal offers rapid publication via Wiley's Early View service. [Early View](#) (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Article Promotion Support

[Wiley Editing Services](#) offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

Access and Sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

Print copies of the article can now be ordered (instructions are sent at proofing stage or use the below contact details).

To find out how to best promote an article, click [here](#).

Measuring the Impact of an Article

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with [Kudos](#) and [Altmetric](#).

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

Jayashree Marimuthi

VDEedoffice@wiley.com