

Aus der Medizinischen Kleintierklinik
Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haustiere und Heimtiere
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Katrin Hartmann

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Ralf S. Müller

**Einfluss eines Chlorhexidin-Phytosphingosin-
Shampoos auf die Anzahl oberflächlicher
Bakterien der Haut und auf die Adhäsion von
Staphylokokken an Korneozyten von
gesunden und atopischen Hunden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Annemarie Christina Stroh
aus Öhringen

München 2009

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Müller
Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Breuer

Tag der Promotion: 17. Juli 2009

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATURÜBERSICHT	5
1.	Pyodermie des Hundes.....	5
1.1	Ätiologie.....	5
1.2	Klassifizierung	5
1.3	Pathogenese.....	6
1.3.1	Kutane Mikroflora.....	7
1.3.2	Staphylokokken und ihre Pathogenitätsfaktoren.....	8
1.3.3	Bakterielle Hypersensitivität.....	9
1.3.4	Zugrunde liegende Erkrankungen	10
1.4	Klinisches Bild	11
1.5	Differentialdiagnosen.....	12
1.6	Diagnose.....	12
1.6.1	Zytologie	12
1.6.2	Bakteriologische Untersuchung	13
1.6.3	Hautbiopsie	13
1.6.4	Zugrunde liegende Krankheiten und Ausschluss von Differentialdiagnosen	13
1.7	Therapie.....	14
1.7.1	Systemische Therapie.....	14
1.7.1.1	Cephalosporine.....	17
1.7.1.2	Penizilline.....	17
1.7.1.3	Fluoroquinolone	18
1.7.1.4	Sulfonamide	19
1.7.1.5	Macrolide und Lincosamide.....	20
1.7.1.6	Chloramphenicol	20
1.7.1.7	Tetrazykline.....	20
1.7.2	Immunstimulation	21
1.7.3	Lokale Therapie	21
1.7.3.1	Shampoos	23
1.7.3.2	Cremes, Salben, Gele, Lotionen, Suspensionen und Lösungen.....	27
2.	Canine atopische Dermatitis	32
2.1	Definition	32

2.2	Ätiologie und Pathogenese.....	32
2.3	Diagnose.....	34
2.4	Klinisches Bild.....	36
2.5	Therapie.....	37
2.5.1	Allergenspezifische Immuntherapie.....	37
2.5.2	Glukokortikoide.....	39
2.5.3	Antihistaminika.....	39
2.5.4	Essentielle Fettsäuren.....	40
2.5.5	Shampoos.....	41
2.5.6	Nichtsteroidale Antiphlogistika.....	42
3.	Sphingosine und Ceramide im Stratum corneum.....	43
3.1	Stratum corneum.....	43
3.2	Vorkommen und Entstehung.....	43
3.3	Wirkungen.....	45
3.3.1	Antimikrobielle Wirkung.....	47
3.4	Präparate / Therapeutischer Einsatz.....	48
III	MATERIAL UND METHODEN.....	51
1.	Material.....	51
1.1	Patienten.....	51
1.2	Shampoos.....	52
1.3	Bakterien.....	53
2.	Methoden.....	55
2.1	Intervention.....	55
2.2	Gewinnung der Hautzellen / Probennahme.....	55
2.3	Laborversuch / Adhäsionsstudie.....	56
2.4	Pilotstudien.....	58
2.4.1	Anzahl der Tesafilmstreifen.....	58
2.4.2	Aufpressen der Plättchen.....	58
2.4.3	Inkubation der Plättchen mit Staphylokokkensuspension.....	59
2.4.4	Abspülen der Plättchen.....	59
2.5	Auswertung am Mikroskop.....	60
2.6	Statistische Auswertung.....	61
2.6.1	Oberflächliche Bakterien.....	61

2.6.2	Nach Inkubation adhärierte Bakterien	62
IV	ERGEBNISSE	63
1.	Bakterien auf der Hautoberfläche.....	63
2.	Bakterielle Adhäsion an Hautzellen nach Inkubation.....	68
V	DISKUSSION	73
1.	Diskussion der Versuchsdurchführung	73
2.	Diskussion der Ergebnisse.....	74
2.1	Bakterien auf der Hautoberfläche	74
2.2	Bakterielle Adhäsion an Hautzellen nach Inkubation.....	75
VI	ZUSAMMENFASSUNG	81
VII	SUMMARY	83
VIII	LITERATURVERZEICHNIS	85
IX	ANHANG	103
1.	Tabellenverzeichnis.....	103
2.	Abbildungsverzeichnis.....	104
3.	Verzeichnis der verwendeten Geräte	105
4.	Verzeichnis der verwendeten Materialien	106
5.	Danksagung	108

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
ACVD	American College of Veterinary Dermatology
AD	atopische Dermatitis
ASIT	Allergenspezifische Immuntherapie
ADH	Arginindihydrolase
bzw.	beziehungsweise
C.	Candida
Cer	Ceramid
Cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr.	Doktor
Dr. habil.	doctor habitatus, lateinisch für Doktor mit Lehrberechtigung
Dr. med. vet.	doctor medicinae veterinariae, lateinisch für Doktor der Tierheilkunde
<i>et al.</i>	et aliae (weiblich), lateinisch für „und andere“
<i>et al.</i>	et alii (männlich), lateinisch für „und andere“
G	Gesund
h	Stunde
IFN	Interferon
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
KBE	koloniebildende Einheit
KBE/ml	koloniebildende Einheiten pro Milliliter
kgKM	Kilogramm Körpermasse
KI	Konfidenzintervall
M	männlich
min	Minute
ml	Milliliter

µl	Mikroliter
ml/kgKM	Milliliter pro Kilogramm Körpermasse
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
OD ₅₇₀	Optische Dichte bei 570 Nanometern
P	Placebo oder Placebo-Shampoo
PBS	phosphate buffered saline, englisch für phosphatgepufferte Kochsalzlösung
Prof.	Professor
s.	siehe
S.	Staphylococcus
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
SA	Standardabweichung
SIG	<i>Staphylococcus intermedius</i> Gruppe
T	Therapie oder Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo
TGF	Transformierender Wachstumsfaktor
Th1-Zellen	Typ1-T-Helferzellen
Th2-Zellen	Typ2-T-Helferzellen
tRNA	Transfer-Ribonukleinsäure
T-Zelle	Thymus-abhängiger Lymphozyt
U/min	Umdrehungen pro Minute
Univ.-Prof.	Universitätsprofessor
W	Weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WK	Weiblich kastriert
z. B.	zum Beispiel

I EINLEITUNG

Die Pyodermie des Hundes ist eine der häufigsten Hauterkrankungen in der Kleintierpraxis (SCOTT & PARADIS, 1990; LUND et al., 1999; HOLM et al., 2002; CRAIG, 2003). Bei keiner anderen Säugetierspezies kommen bakterielle Hautinfektionen so oft vor wie beim Hund (DEBOER, 1990). Meist sind Staphylokokken am Krankheitsgeschehen beteiligt, häufig sekundär auf Grund einer anderen Erkrankung, wie beispielsweise Allergien, Störungen des Hormon-Haushalts oder Ektoparasitosen (IHRKE, 1987; DEBOER, 1990; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996).

Mehrere Studien bei Hunden und Menschen zeigen, dass bei atopischen Patienten Staphylokokken stärker an Korneozyten adhäreren als an Hautzellen von gesunden Individuen (BIBEL et al., 1982; CHO et al., 2001; SIMOU et al., 2005b; MCEWAN et al., 2006). Ein entscheidender Schritt bei der Entwicklung von Infektionen ist die Adhäsion von Bakterien an Zellen. Daher ist die Verhinderung der bakteriellen Haftung ein wichtiger Ansatzpunkt zur Vermeidung einer Erkrankung (OFEK et al., 2003).

Die im Stratum corneum enthaltenen Ceramide haben eine wichtige Funktion beim Aufbau und Erhalt der Hautbarriere (ELIAS, 1988; JACKSON et al., 1993). Ceramide sind Moleküle aus je einer Fettsäure und einer Sphingoidbase als Grundgerüst (NELSON & COX, 2001). Beim enzymatischen Abbau von Ceramiden werden Sphingoidbasen („Sphingosine“) im Stratum corneum freigesetzt (MELNIK, 2006; PRUETT et al., 2008). Darin wurden verschiedene freie langkettige Sphingoidbasen gefunden, darunter Sphingosin, Dihydrosphingosin (Sphinganin) und Phytosphingosin (WERTZ & DOWNING, 1989; 1990; STEWART & DOWNING, 1995). Diese haben eine breite antimikrobielle Wirkung (BIBEL et al., 1989; BIBEL et al., 1992a; BIBEL et al., 1993; BIBEL et al., 1995; ROBERTSON et al., 2005; PAVICIC et al., 2007). Phytosphingosin und Sphingosin zeigen sich sogar gegen methicillinresistente *S. aureus* effektiv (ROBERTSON et al., 2005). Ihre exakte Wirkweise ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Die Adhäsion an Zielzellen und die bakterielle Zellwand scheinen dabei eine wesentliche Rolle zu spielen (BIBEL et al., 1992b; 1992a; BIBEL et al., 1993).

Bei atopischen Menschen und Hunden wurde ein Mangel an Ceramiden im Stratum corneum festgestellt, bei den Humanpatienten zusätzlich auch erniedrigte Sphingosinwerte (DI NARDO et al., 1998; ARIKAWA et al., 2002; SHIMADA et al., 2008). Da Sphingoidbasen beim Abbau von Ceramiden frei werden, kann ein Ceramidmangel einen Sphingosinmangel nach sich ziehen (ARIKAWA et al., 2002; MELNIK, 2006).

Der verminderte Sphingosingehalt bei allergischen Menschen korreliert tatsächlich mit einer erhöhten Gesamtbakterienzahl und einer größeren Anzahl an *Staphylococcus (S.) aureus* auf der Haut (ARIKAWA et al., 2002). Allergiker tragen häufig überdurchschnittlich viele Bakterien auf der Haut und leiden infolgedessen oft an Pyodermien, welche die Allergiesymptomatik verschlimmern können (MASON & LLOYD, 1989; BREUER et al., 2001; DEBOER & MARSELLA, 2001; ARIKAWA et al., 2002). Die niedrigen Ceramid- und Sphingosinwerte spielen hierbei möglicherweise eine Schlüsselrolle.

Es liegt nahe, diese antimikrobielle Wirkung der Sphingosine therapeutisch zu nutzen. Phytosphingosin ist in verschiedenen Präparaten enthalten und wird in unterschiedlichen Formulierungen angeboten, darunter häufig als Inhaltsstoff in Shampoos. Die Shampootherapie wird in der Dermatologie schon seit langem erfolgreich angewendet (MASON, 1993; CURTIS, 1998; LOEFLATH et al., 2007; MUELLER, 2008). Vor allem in Fällen oberflächlicher Pyodermien, aber beispielsweise auch bei der Behandlung von Umweltallergien können Shampoos sinnvoll eingesetzt werden (MASON, 1993; CURTIS, 1998; MUELLER, 2008).

Vor kurzem kam eine neue Shampoo-Kombination aus Chlorhexidin und Phytosphingosin auf den Markt. Chlorhexidin ist ein Biguanid mit einer breiten antibakteriellen und antimykotischen Wirkung (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991; HIOM et al., 1992; KUYAKANOND & QUESNEL, 1992). Phytosphingosin ist ein antimikrobieller Aminoalkohol, der natürlicherweise im Stratum corneum vorkommt (BIBEL et al., 1992a; ROBERTSON et al., 2005). Das neue Shampoo enthält somit eine Kombination zweier sehr unterschiedlicher antibakterieller Substanzen. Ihre kombinierte Wirkung wurde bisher nur im Hinblick auf die Reduktion klinischer Symptome bei der Behandlung allergischer Hunde untersucht, nicht jedoch auf ihre antibakteriellen Eigenschaften (BOURDEAU et al., 2007).

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, den Effekt eines Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoos auf die bakterielle Kolonisierung der Haut und auf die Adhäsion von *S. pseudintermedius* an Korneozyten von gesunden und atopischen Hunden zu evaluieren.

II LITERATURÜBERSICHT

1. Pyodermie des Hundes

1.1 Ätiologie

Die große Mehrheit der caninen Pyodermien wird durch *Staphylococcus (S.) intermedius* beziehungsweise durch den 2005 identifizierten *S. pseudintermedius* hervorgerufen, siehe (s.) hierzu auch unter Ziffer 1.3.2 (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 2003; DEVRIESE et al., 2005). Es können allerdings auch *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi* oder gramnegative Keime wie zum Beispiel *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oder *Proteus mirabilis* beteiligt sein (HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; HILLIER et al., 2006). Bei tiefen Pyodermien kommen unter anderen Actinomyceten oder Mykobakterien als Auslöser in Betracht (LLOYD, 1996).

1.2 Klassifizierung

Pyodermien können je nach betroffener Körperregion, auslösendem Agens, Vorhandensein einer zugrunde liegenden Erkrankung und Tiefe der Infektion unterschiedlich eingeteilt werden. Die Tiefe der Pyodermie hat sich zur Klassifizierung der caninen Pyodermie durchgesetzt, da von ihr zudem die Wahl der Medikamente, die Behandlungsdauer und die Prognose abhängen (IHRKE, 1996; LLOYD, 1996).

Es wird zwischen Oberflächen-, oberflächlichen und tiefen Pyodermien unterschieden (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 2003). Das Präfix Pyo- impliziert eine Beteiligung von Eiter am Krankheitsprozess. Dieser muss jedoch nicht zwingend makroskopisch sichtbar sein (HILL & MORIELLO, 1994).

Die Oberflächenpyodermie betrifft nur den oberen Teil der Epidermis. Beispiele für Oberflächenpyodermien sind Intertrigo (Hautfaltendermatitis) und die pyotraumatische Dermatitis („Hot spot“) (IHRKE, 1987; MASON, 1993; CRAIG, 2003). Obwohl es sich bei der letzteren nicht immer um eine „echte“ Pyodermie handelt, wird sie in die Klassifizierung mit einbezogen (CRAIG, 2003). Selbstinduzierte Traumata werden sekundär bakteriell besiedelt und es entwickelt

sich ein Teufelskreis aus Juckreiz und Kratzen, bei dem der ursprüngliche Juckreiz meist allergisch oder parasitär bedingt ist (IHRKE, 1996; HOLM et al., 2004).

Oberflächliche Pyodermien sind auf die Epidermis begrenzt. Pustelbildung kann sowohl zwischen den Follikeln auftreten (Impetigo) als auch mit Haarbälgen assoziiert sein (oberflächliche Follikulitis) (LLOYD, 1996). Weitere Erscheinungsformen sind die mukokutane Pyodermie sowie sich oberflächlich im Stratum corneum und im oberen Stratum spinosum ausbreitende Pyodermien.

Eine tiefe Pyodermie entsteht, wenn die Infektion bis in die Dermis oder sogar bis in die Subkutis reicht (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 2003). Je nach betroffener Struktur gibt es unterschiedliche Formen, wie zum Beispiel (z. B.) die canine Akne, lokalisierte (nasale, pedale und pyotraumatische Follikulitis und Furunkulose, Druckpunktpyodermie und akrale Leckfurunkulose) oder generalisierte tiefe Pyodermien und bakterielle Granulome (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 2003). Abhängig vom jeweiligen Autor finden sich leichte Abweichungen in der Einteilung oder weitere einzelne Unterformen der tiefen Pyodermie.

Im Folgenden wird vor allem auf die oberflächliche Follikulitis eingegangen. Sie ist die bei weitem häufigste Form der Pyodermie beim Hund (HILL & MORIELLO, 1994).

1.3 Pathogenese

Nur sehr selten sind Bakterien die alleinigen Auslöser einer Pyodermie (DEBOER, 1990). Meist ist eine zugrunde liegende Ursache vorhanden (s. 1.3.4), die entweder den Zustand der Haut derartig verändert, dass sich pathogene Bakterien besser anlagern und/oder vermehren können oder die Immunitätslage des Hundes beeinträchtigt und somit zur Entstehung einer sekundären Pyodermie beiträgt (IHRKE, 1987; LEVER, 1988; DEBOER, 1990; CRAIG, 2003; MUELLER, 2008). Die bakterielle Adhäsion an Wirtszellen ist der erste Schritt bei der Entwicklung einer Infektion (OFEK et al., 1996; OFEK et al., 2003). Sie wird definiert als die messbare Vereinigung zwischen einem Bakterium und einem Substrat, bei der Energie notwendig ist, um sie wieder zu lösen (MIMS et al., 1995). Viele bakterielle Liganden und mögliche Wirtsrezeptoren wurden in

der Literatur bereits beschrieben, die exakten Mechanismen, die zur bakteriellen Kolonisation und Infektion führen, sind jedoch noch nicht vollkommen aufgeklärt (VAN BELKUM et al., 2002). Die Zell-Zell-Interaktionen sind äußerst komplex und können durch verschiedenartigste Faktoren beeinflusst werden (COLE & SILVERBERG, 1986; SAIJONMAA-KOULUMIES & LLOYD, 2002; VAN BELKUM et al., 2002; SIMOU et al., 2005a; SIMOU et al., 2005b; MCEWAN et al., 2006)

Die natürliche Barrierefunktion der Haut schützt vor einer Überhandnahme pathogener Keime (IHRKE, 1987; LLOYD, 1996). Diese Barriere wird physikalisch durch das Haarkleid, das Stratum corneum und durch die kontinuierliche Abschilferung von Hautzellen gebildet. Physikochemisch sind Talg- und apokrine Schweißdrüsen zu nennen, die eine Emulsion aus Proteinen, anorganischen Salzen, Interferon, Komplement und Immunglobulinen sezernieren. Eine wichtige Rolle spielt zusätzlich die physiologische Mikroflora der Haut. Sie verhindert, dass sich eine einzelne Bakterienspezies übermäßig vermehrt. Kommt es zu einer Störung dieser Barriere, so kann sich eine bakterielle Infektion entwickeln (HILL & MORIELLO, 1994) (s. 3.3.1 und 3.1).

Hunde leiden häufiger an Pyodermien als jede andere Säugetierspezies (DEBOER, 1990; IHRKE, 1996). Mögliche Erklärungen hierfür könnten das nur sehr dünn ausgebildete Stratum corneum, seine weniger Lipide enthaltende interzelluläre Matrix und der relativ hohe pH-Wert der Hundehaut sein (DRAIZE, 1942; LLOYD & GARTHWAITE, 1982; IHRKE, 1996).

1.3.1 Kutane Mikroflora

Auf der Haut werden sogenannte residente und transiente Bakterien unterschieden (IHRKE, 1996). Die Einordnung in eine Kategorie kann sich schwierig gestalten. Manche Autoren führen zudem „Nomaden“ auf (SOMERVILLE-MILLAR & NOBLE, 1974; LLOYD, 1996; SAIJONMAA-KOULUMIES & LLOYD, 1996).

Residente Bakterien sind auf der Haut „ansässig“, ihre Population bleibt mehr oder weniger konstant. Sie werden nicht nur als harmlose Kommensalen betrachtet, sondern stellen zusätzlich einen wichtigen Bestandteil der natürlichen Hautbarriere dar (siehe oben (s. o.)). Die Anzahl an residenten Bakterien ist bei normalen Hunden nicht sonderlich groß (IHRKE et al., 1978; IHRKE, 1996). Transiente Bakterien werden wahrscheinlich aus der Umwelt oder von

Schleimhäuten auf die Haut gebracht (SOMERVILLE-MILLAR & NOBLE, 1974). Sie können sich unter normalen Bedingungen dort nicht für längere Zeit etablieren und werden von den residenten Bakterien kompetitiv gehemmt (IHRKE, 1996). Dies betrifft unter anderem *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* und *Pseudomonas spp.*. Sie können gelegentlich an Pyodermien beteiligt sein, jedoch meist nur als Sekundärerreger zu einer schon bestehenden Staphylokokkeninfektion (LLOYD, 1996; MUELLER, 2008).

Welche Bakterien als resident und welche als transient bezeichnet werden sollen, bleibt umstritten, so auch im Fall der Staphylokokken (SOMERVILLE-MILLAR & NOBLE, 1974). In den bisherigen Studien wurden sehr unterschiedliche Methoden verwendet, verschiedene Körperstellen untersucht und kontroverse Ergebnisse erzielt (COX et al., 1988; HARVEY & NOBLE, 1994; IHRKE, 1996). SAIJONMAA-KOULUMIES und LLOYD (1996) kritisieren zudem, dass durch Studien mit kurzer Dauer der dynamischen Situation der kutanen Mikroflora nicht genügend Rechnung getragen werden kann. Sie schlussfolgerten aus publizierten Ergebnissen, dass zumindest Mikrokokken und koagulasenegative Staphylokokken als residente Keime bezeichnet, aber nicht näher identifiziert wurden und daher weitere Studien vonnöten sind. Für *S. intermedius* (bzw. *S. pseudintermedius*, s. 1.3.2) wurde vorgeschlagen, ihn nicht als Resident der äußeren Haut, sondern der Schleimhaut zu bezeichnen (LLOYD, 1996; SAIJONMAA-KOULUMIES & LLOYD, 1996).

1.3.2 Staphylokokken und ihre Pathogenitätsfaktoren

In älteren Studien wurde die Staphylokokken-Spezies, die am häufigsten von caninen Pyodermien isoliert wurde, noch als *S. aureus* bezeichnet, bis 1976 *S. intermedius* identifiziert wurde (HAJEK, 1976). Im Jahr 2005 wurde *S. pseudintermedius* als neue Spezies aus einer Katze, einem Hund, einem Pferd und einem Papageien isoliert. Diese neue Staphylokokken-Spezies war *S. intermedius* äußerst ähnlich (DEVRIESE et al., 2005). Zwei Jahre später wurden in einer Studie 117 ursprünglich als *S. intermedius* identifizierte Stämme, welche als Stämme der *S. intermedius*-Gruppe (SIG) bezeichnet wurden, weiteren genetischen Untersuchungen unterzogen. Dabei stellte sich heraus, dass alle SIG-Stämme von Hunden, Katzen und Menschen *S. pseudintermedius* entsprachen (SASAKI et al., 2007). Daher ist *S. pseudintermedius* und nicht, wie bisher angenommen, *S. intermedius* der häufigste Erreger von caninen Pyodermien

(FITZGERALD, 2008).

Koagulasepositive Staphylokokken können von gesunden Hunden isoliert werden und gleichzeitig auch eine Pyodermie hervorrufen, was nur bei wenigen Keimen der Fall ist. Sie besitzen verschiedene Virulenzfaktoren, wie beispielsweise das Protein A (FEHRER et al., 1988; HILL & MORIELLO, 1994; IHRKE, 1996) und die Fähigkeit, eine Schleimkapsel zu bilden (KEANE & TAYLOR, 1992). Protein A kann die Komplementkaskade aktivieren, zur Anlockung von Neutrophilen führen und Hypersensitivitätsreaktionen auslösen (IHRKE, 1987; HILL & MORIELLO, 1994). FEHRER (1988) und Mitarbeiter fanden heraus, dass bei chronischen Pyodermien eine sehr hohe Konzentration an Protein A vorhanden ist. Daher hielten sie es für möglich, dass die Protein A-Sekretion der Staphylokokken deren Persistenz fördert und so zur Chronizität der Läsion beiträgt. COLE und SILVERBERG (1986) vermuteten, dass die stärkere Adhäsion von *S. aureus* an das Stratum corneum von allergischen Menschen mit dem Protein A zusammenhängt. Auch die Schleimkapsel wird mit der Fähigkeit von Bakterien in Verbindung gebracht, sich an Zellen anzuhaften (HILL & MORIELLO, 1994).

Zusätzlich schaffen Staphylokokkeninfektionen ein förderliches Milieu für eine Invasion gramnegativer Bakterien. In den meisten Fällen, bei denen gramnegative Stäbchen von einer Pyodermie isoliert werden, sind auch Staphylokokken zu isolieren (IHRKE, 1987).

1.3.3 Bakterielle Hypersensitivität

Viele Autoren postulieren eine „bakterielle Hypersensitivität“ (DEBOER & MARSELLA, 2001). Beim Menschen wurde das sogenannte „Hyper-IgE-Syndrom“ beschrieben, dessen genaue Ätiologie jedoch noch unbekannt ist. Hohe IgE (Immunglobulin E)-Spiegel im Serum, chronische Dermatitis und rezidivierende Infektionen sind charakteristisch (VERCELLI et al., 1990). Beim Hund konnte ein derartiges Syndrom bisher nicht nachgewiesen werden (DEBOER & MARSELLA, 2001). Zusätzlich wurden bei einigen Menschen, die sowohl an atopischer Dermatitis, als auch an kutanen Staphylokokkeninfektionen erkrankt waren, Staphylokokken-spezifische IgE-Antikörper gefunden. Verschiedene Autoren nehmen an, dass die meisten Patienten mit atopischer Dermatitis und alle Patienten mit Hyper-IgE-Syndrom

eine IgE-Antwort auf Staphylokokken-Exotoxine entwickeln (LEUNG et al., 1993; HOFER et al., 1999). Durch freigesetzte Entzündungsmediatoren werden die Granulozyten-Chemotaxis, andere Leukozytenfunktionen und lokale Abwehrmechanismen beeinträchtigt, was zur Aufrechterhaltung der Infektion beiträgt (DEBOER & MARSELLA, 2001) und die Allergie verschlimmern kann (LEUNG et al., 1993).

Hunde haben generell einen viel höheren IgE-Spiegel als Menschen (DEBOER, 1990) und scheinen die einzigen Haustiere zu sein, die häufig von rezidivierenden Pyodermien betroffen sind. Bei Hunden mit derartigen Infektionen sind der IgE-Spiegel sowie der IgG (Immunglobulin G)-Spiegel höher als bei ihren gesunden Artgenossen (MORALES et al., 1994). Es ist daher naheliegend, Parallelen zwischen den Syndromen beim Hund und beim Menschen zu ziehen (DEBOER, 1990).

1.3.4 Zugrunde liegende Erkrankungen

In der Mehrzahl der Fälle können sich pathogene Bakterien auf der Haut nur etablieren, weil der betroffene Hund an einer zusätzlichen zugrunde liegenden Erkrankung leidet (MASON & LLOYD, 1989; HILL & MORIELLO, 1994). In diesen Fällen wird von sekundären Pyodermien gesprochen (MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994). Hierbei kommen als zugrunde liegende Ursachen vor allem Allergien (wie Flohspeichel-, Futtermittel- und Umweltallergie), hormonelle Erkrankungen (wie Hyperadrenokortizismus und Hypothyreose), Infestationen mit Ektoparasiten (wie Milben und Flöhe), Keratinisierungsstörungen (z. B. Seborrhoe), Immunschwäche (wie Verabreichung von Glukokortikoiden, innere oder endokrine Erkrankungen, Neoplasien), anatomische bzw. physiologische Besonderheiten (wie Schlappohren, Hautfalten), Umweltfaktoren (wie höhere Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit, Verletzungen, Mazeration - vor allem nach dem Schwimmen - und schlechte Fellpflege) sowie Überempfindlichkeitsreaktionen auf Staphylokokken-Antigene (s. o.) in Betracht (IHRKE, 1987; DEBOER, 1990; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; CRAIG, 2003). In mehreren Studien wurde festgestellt, dass die Bakterienzahl und Adhäsion von Bakterien bei allergischen Hunden und Menschen sowie beim Vorliegen einer Dermatitis höher ist als bei gesunden Individuen (BIBEL et al., 1982; COLE & SILVERBERG, 1986; MASON & LLOYD, 1989; KANZAKI et al., 1996; CHO et al., 2001;

MCEWAN et al., 2005; SIMOU et al., 2005b; MCEWAN et al., 2006).

In einigen Fällen ist es allerdings nicht möglich eine zugrunde liegende Erkrankung ausfindig zu machen (MASON, 1993). Primäre Pyodermien kommen selten vor. Falls diese immer wieder auftreten, werden sie als primäre idiopathische rezidivierende Pyodermie bezeichnet (DEBOER, 1990).

Impetigo, auch Welpenpyodermie genannt, tritt vor allem bei Junghunden auf. Meist sind ein schlechter Pflegezustand und andere zugrunde liegende Erkrankungen an der Pathogenese des Impetigo beteiligt (LLOYD, 1996).

Ein genauer Pathogenitätsmechanismus der sich oberflächlich ausbreitenden Pyodermie ist nicht bekannt, epidermolytische Toxine scheinen jedoch nicht involviert zu sein. Auch hier sind zugrunde liegende Krankheiten ausschlaggebend (LLOYD, 1996).

1.4 Klinisches Bild

Beim Impetigo treten nichtfollikuläre Pusteln vorrangig an wenig behaarten Körperregionen, am Bauch und an den Achseln von Junghunden auf (HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 2003). Sobald diese Pusteln platzen, entwickeln sich gelbbraune Krusten. Zeigen sich bei adulten Hunden große, gelbgrüne, eitergefüllte Bullae, so handelt es sich meist um die bullöse Form des Impetigo, die sekundär zu immunsupprimierenden Krankheiten auftritt (HILL & MORIELLO, 1994).

Die Symptome der oberflächlichen Follikulitis beginnen meist in der Inguinalgegend und den Achseln (IHRKE, 1987) und können abhängig vom Stadium der Erkrankung, der Fellbeschaffenheit und der Vorbehandlung sehr unterschiedlich ausgeprägt sein (IHRKE, 1987; HILL & MORIELLO, 1994; CRAIG, 2003). Als Primärläsionen treten Papeln und Pusteln auf. Letztere können allerdings sehr kurzlebig sein, werden schnell aufgekratzt und bei der klinischen Untersuchung leicht übersehen (IHRKE, 1987; HILL & MORIELLO, 1994; CRAIG, 2003). Daher werden beim Hund am häufigsten verkrustete Papeln gesehen, aber auch Juckreiz, Erytheme, lokale Krusten, Alopezie, epidermale Kollaretten um rupturierte Pusteln, Hyperpigmentation, Schuppenbildung und Lichenifikation sind nicht selten (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; CRAIG, 2003).

Für rezidivierende oberflächliche Pyodermien sind wiederholte papuläre bis pustulöse Eruptionen charakteristisch, die durch antibiotische Therapie vollkommen verschwinden, aber kurze Zeit nach Beendigung der Medikation wieder auftreten (DEBOER, 1990).

1.5 Differentialdiagnosen

Da das klinische Bild der oberflächlichen Pyodermie sehr variabel ist, ist folglich die Liste der in Frage kommenden Differentialdiagnosen lang. Sie umfasst die Demodikose, die Malassezien-Dermatitis, Verbrennungen, Neoplasien, die Dermatophytose, den Pemphigus foliaceus und Arzneimittelreaktionen (HILL & MORIELLO, 1994). Zusätzlich ist die Vielzahl der zugrunde liegenden Ursachen (s. 1.3.4) zu bedenken.

1.6 Diagnose

Oberflächen- und oberflächliche Pyodermien können häufig bereits anhand der klinischen Befunde und durch das Ansprechen auf eine adäquate antibakterielle Therapie diagnostiziert werden. Ein Ausstrich zur zytologischen Untersuchung von Pustelinhalt und ein Hautgeschabsel zum Ausschluss einer Demodikose sollten jedoch angefertigt werden (HILL & MORIELLO, 1994; IHRKE, 1996). Auf das klinische Bild wurde bereits unter Kapitel 1.4 näher eingegangen. Falls die Diagnose unklar ist oder sich die Läsionen auf eine adäquate Therapie nicht bessern, sollten weitere diagnostische Tests durchgeführt werden (HILL & MORIELLO, 1994).

1.6.1 Zytologie

Anhand einer zytologischen Untersuchung von Hautabklatschpräparaten lassen sich grampositive Kokken von gramnegativen Keimen oder eventuell beteiligten Hefen abgrenzen. Dies ist wichtig, da sich die weitere Vorgehensweise (s. u.) und Therapie der verschiedenen Infektionen unterscheiden (HILL & MORIELLO, 1994; WHITE, 1996; MAULDIN et al., 1997; PINCHBECK et al., 2002; HORVATH & NEUBER, 2007). Unter dem Mikroskop sind nur intrazelluläre Bakterien beweisend für eine Pyodermie. Extrazelluläre Bakterien dagegen geben nur einen weiteren Hinweis auf eine bakterielle Infektion, liefern jedoch keine Diagnose. Die Abwesenheit von Bakterien unter dem Mikroskop schließt umgekehrt eine Pyodermie nicht aus (HILL & MORIELLO, 1994).

1.6.2 Bakteriologische Untersuchung

Eine bakteriologische Untersuchung mit Antibiogramm sollte vorgenommen werden, falls stäbchenförmige Bakterien an der Infektion beteiligt sind, es sich um chronische, tiefe oder rezidivierende Fälle handelt, bei ungewisser Diagnose, und vor allem dann, wenn trotz adäquater Therapie keine Besserung eintritt (IHRKE, 1987; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; MORRIS, 2004; 2006). Die bakteriologische Untersuchung sollte immer mit einem Resistenztest kombiniert werden, da sich zunehmend Antibiotikaresistenzen entwickeln. Bei vorhergehendem Fehlschlagen eines Antibiotikums steigt die Wahrscheinlichkeit, dass resistente Bakterien am Geschehen beteiligt sind (MEDLEAU, 1986; RANTALA et al., 2004; GRIFFETH, 2008). Es wurde zudem gezeigt, dass resistente Staphylokokken häufig mehrere Resistenzen gegenüber verschiedenen antimikrobiellen Wirkstoffen besitzen (WERCKENTHIN et al., 2001; MORRIS, 2006; JONES et al., 2007).

1.6.3 Hautbiopsie

Eine Hautbiopsie ist selten zur Diagnose einer oberflächlichen Pyodermie notwendig. Im Falle tiefer Pyodermien, chronischer Veränderungen und bei unklaren Ergebnissen anderer diagnostischer Tests kann sie allerdings sehr hilfreich sein. Bei Entnahme unter sterilen Kautelen kann sie mit einer bakteriologischen Untersuchung des tiefen Gewebes mit Antibiogramm kombiniert werden (CRAIG, 2003). Falls die Infektion auf eine adäquate Therapie nicht anspricht, sollte über eine Hautbiopsie nachgedacht werden (HILL & MORIELLO, 1994).

1.6.4 Zugrunde liegende Krankheiten und Ausschluss von Differentialdiagnosen

Wie oben erwähnt, entwickelt sich eine Pyodermie meist sekundär zu einer anderen Krankheit. Wird die zugrunde liegende Ursache nicht ausfindig gemacht und behandelt, so wird die Infektion immer wieder auftreten (DEBOER, 1990; LLOYD, 1996; HORVATH & NEUBER, 2007). Es ist daher von großer Bedeutung, die diagnostischen Tests im Hinblick auf die mögliche Grunderkrankung zu wählen (IHRKE, 1987).

Bei einem an Juckreiz leidenden Hund sollte zuerst die bakterielle Hautinfektion adäquat behandelt werden und danach eine Kontrolluntersuchung durchgeführt

werden. Ist die Pyodermie verschwunden, der Juckreiz aber noch vorhanden, sollten mögliche Allergien per Eliminationsdiät, Allergietest und/oder Reaktion auf Versuchstherapie sowie Parasitosen durch strenge Ektoparasitenkontrolle weiter abgeklärt werden (HILL & MORIELLO, 1994; CRAIG, 2003). Falls der Juckreiz nach antibakterieller Therapie jedoch verschwunden ist, so spricht dies gegen eine juckende Grunderkrankung und hormonelle Störungen (Cushing, Hypothyreose). Keratinisierungsdefekte und Immunschwächen sollten in Betracht gezogen werden (HILL & MORIELLO, 1994).

1.7 Therapie

Für die erfolgreiche Therapie ist es von großer Bedeutung, die zugrunde liegende Ursache einer sekundären Pyodermie zu identifizieren. Darauf wurde bereits unter 1.3.4 hingewiesen.

1.7.1 Systemische Therapie

Die systemische Behandlung einer Pyodermie ist in den meisten Fällen notwendig. Sie wird oft in Kombination mit einer lokalen Therapie angewendet (IHRKE, 1987; 1996; SCOTT et al., 2001). Da die erste Behandlung einer Hautinfektion meist mit einem auf empirischer Basis ausgewählten antibiotischen Präparat erfolgt, ist es wichtig, einen Wirkstoff mit bekanntem Spektrum gegen *S. pseudintermedius* einzusetzen. Ideal wäre zudem eine bakterizide, günstige, einfach zu verabreichende, gut absorbierbare Substanz mit wenig oder keinen Nebenwirkungen (MASON, 1993; WHITE, 1996; CRAIG, 2003). Allerdings kann kein Präparat alle diese Kriterien gleichermaßen erfüllen.

Nicht alle Antibiotika erreichen den in der Haut erwünschten Wirkspiegel, oder die Resistenzlagen der Substanzen sind ungünstig (AYLIFFE, 1980). Sehr hohe Resistenzraten von bis zu 80% bei *S. intermedius* (bzw. s. o. *S. pseudintermedius*) gegenüber beispielsweise Penicillin wurden durch verschiedene Studien schon vor einigen Jahren gezeigt (WERCKENTHIN et al., 2001; GANIÈRE et al., 2005). Resistenzbildungen gegen verschiedenste Antibiotika nehmen weiter zu (SCHWARZ & NOBLE, 1999; GANIÈRE et al., 2005; JONES et al., 2007; GRIFFETH, 2008). Zudem weisen Bakterien von an Pyodermien erkrankten Hunden, die schon mit Chloramphenicol, Clindamycin oder Erythromycin vorbehandelt wurden, häufiger Resistenzen gegen diese Antibiotika auf als unbehandelte Hunde (MEDLEAU, 1986; RANTALA et al., 2004). Es muss

beachtet werden, ob ein konzentrations- oder zeitabhängiges Antibiotikum eingesetzt wird. Erstere müssen meist einmal täglich in einer hohen Dosis verabreicht werden, damit die nötige Serum-Spitzen-Konzentration erreicht werden kann (zum Beispiel bei Aminoglykosiden und Fluoroquinolonen). Bei den zeitabhängigen Antibiotika hingegen, und diese stellen den Großteil der gängigen Antibiotika dar, muss die Serumkonzentration während eines möglichst langen Zeitraums über der minimalen Hemmkonzentration bleiben (CRAIG, 1998).

Nicht alle Antibiotika sollten zur Behandlung der Pyodermie des Hundes verwendet werden. Die Mehrzahl der Autoren raten aufgrund mangelnder Wirksamkeit und schlechter Resistenzlage davon ab Penicillin, Ampicillin, Tetrazykline, nichtpotenzierte Sulfonamide und Amoxicillin anzuwenden (MEDLEAU, 1986; DEBOER, 1990; MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; IHRKE, 1996; HARVEY & HUNTER, 1999). Über die Wahl des adäquaten Wirkstoffes gehen die Meinungen etwas weiter auseinander. Nähere Erläuterungen zu den einzelnen Gruppen werden weiter unten gegeben.

DEBOER (1990) führt als gute initiale Antibiotika Chloramphenicol, Clindamycin, Erythromycin, Lincomycin und mit Trimethoprim oder Ormetoprim potenzierte Sulfonamide auf. Als Langzeitantibiose hält er diese auf Grund der höheren Wahrscheinlichkeit einer Resistenzbildung nicht für ideal. Antibiotika, die sich als initiale und Langzeittherapie bei rezidivierenden Infektionen eignen, sind seiner Meinung nach Amoxicillin mit Clavulansäure, Cephalexin und Oxacillin. Wegen potentieller Toxizitäten, anderer Kontraindikationen oder der Erhältlichkeit alternativer, weniger risikoreichen Medikamenten rät er vom Gebrauch von Gentamicin, anderen Aminoglykosiden und Enrofloxacin ab (DEBOER, 1990).

HILL und MORIELLO (1994) können Clindamycin dagegen nicht empfehlen, nennen aber zur Erstbehandlung ansonsten dieselben Wirkstoffe wie DeBoer. Für rezidivierende Pyodermien führen sie zusätzlich zu den oben genannten Substanzen Cefadroxil auf. Beim Auftreten von methicillinresistenten Staphylokokken raten sie zur Anwendung von Quinolonen. In Fällen von Mischinfektionen mit gramnegativen Keimen, auf die oben genannten Wirkstoffe resistente Mikroorganismen, und bei schlimmeren, tiefen Infektionen können Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Amikacin oder Gentamicin zum Einsatz kommen. Diese sollten jedoch keinesfalls routinemäßig zur Behandlung von Pyodermien

angewendet werden (HILL & MORIELLO, 1994).

Andere Autoren nennen unter den Wirkstoffen, die häufig zur Langzeittherapie eingesetzt werden, die Fluoroquinolone. Auch Makolide und Lincosamide sind für diese Indikation ihrer Meinung nach sichere Produkte. Allerdings schränken Resistenzbildungen häufig ihre Einsatzmöglichkeiten ein (SCOTT et al., 2001).

Sowohl der individuelle Fall als auch die Besitzer-Compliance müssen immer beachtet werden. Die meisten Wirkstoffe müssen in der Regel mindestens zweimal täglich verabreicht werden. Fluoroquinolone und Ormetoprim-Sulfadimethoxin können einmal täglich verabreicht werden, was die Behandlung für den Hundebesitzer erleichtert. Cefovecin zeigt nach einmaliger subkutaner Injektion sogar eine zweiwöchige Wirksamkeit (STEGEMANN et al., 2006; STEGEMANN et al., 2007).

Eine zu kurze Behandlungsdauer ist ein häufiger Grund für das Fehlschlagen einer Therapie. Als grober Anhaltspunkt sollten Antibiotika bei oberflächlichen Pyodermien eine Woche, bei tiefen Pyodermien mindestens zwei Wochen über die klinische Heilung hinaus gegeben werden (MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996). Normalerweise muss eine oberflächliche Infektion über circa drei bis vier Wochen behandelt werden, bei einer tiefen Infektion kann die Therapiedauer je nach Schweregrad jedoch bis zu mehrere Monate betragen (MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994).

Die auf dem aktuellen Körpergewicht des Hundes basierende Dosierung ist für den Erfolg der Behandlung entscheidend (HILL & MORIELLO, 1994). Eine Unterdosierung mindert die Wirksamkeit des jeweiligen Antibiotikums und fördert Resistenzbildungen (THOMAS et al., 1998). Hohe Wirkstoffkonzentrationen lassen sich in der Haut nur schwer erzielen, da nur 4% des Herzauswurfvolumens an Blut die Haut erreichen. Die Epidermis wird zudem überhaupt nicht durchblutet (AYLIFFE, 1980; HILL & MORIELLO, 1994).

Eine längere Gabe von Glukokortikoiden ist kontraindiziert (HILL & MORIELLO, 1994). Im Folgenden werden einige Wirkstoffe und Wirkstoffgruppen aufgeführt, die zur Behandlung von bakteriellen Hautinfektionen sinnvoll eingesetzt werden können. Hierbei sind in erster Linie die Cephalosporine, β -Laktamase-feste Penizilline, Fluoroquinolone und das Doxycyclin zu nennen. Mit gewissen Einschränkungen können auch die

Macrolide und Lincosamide sowie Chloramphenicol angewendet werden.

1.7.1.1 Cephalosporine

Cephalosporine können auf verschiedene Art und Weisen eingeteilt werden. Die häufigste Einteilung erfolgt nach Generationen, was zugleich das Wirkspektrum der Substanzen widerspiegelt (MASON & KIETZMANN, 1999).

Cephalosporine der ersten Generation, wie zum Beispiel Cephalexin, Cefazolin und Cefadroxil, sind vor allem bei grampositiven Bakterien wirksam. Wie alle β -Laktam-Antibiotika hemmen sie die bakterielle Zellwand-Synthese und wirken damit bakterizid (MASON & KIETZMANN, 1999). Weitere Vorteile sind, dass sie das Gewebe gut penetrieren und sich Resistenzen von Staphylokokken gegen Cephalosporine nur langsam entwickeln (IHRKE, 1996; MASON & KIETZMANN, 1999). Die zweite Generation (beispielsweise Cefactor) zeichnet sich durch eine zusätzliche Effektivität gegen *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* und *Hämophilus influenzae* aus. Ihre Wirksamkeit gegen grampositive Erreger hat im Vergleich zur ersten Generation allerdings etwas abgenommen (MASON & KIETZMANN, 1999). Cefovecin ist ein Cephalosporin der dritten Generation. Es ist ein injizierbares Antibiotikum, dessen Wirkung 14 Tage anhält (Stegemann et al. 2006; Stegemann et al. 2007). Dies ist vor allem bei Hunden von Vorteil, bei denen sich eine orale Tablettengabe schwierig gestaltet. Im Gegensatz zu den Cephalosporinen der ersten Generation haben diejenigen der dritten Generation zusätzlich eine Wirksamkeit gegen gramnegative Bakterien (MASON & KIETZMANN, 1999; STEGEMANN et al., 2007).

In einer Studie von STEGEMANN und Mitarbeitern wurde gezeigt, dass Cefovecin bei der Therapie von caninen Pyodermien genauso effektiv ist wie Amoxicillin-Clavulansäure (Stegemann et al. 2007). Die häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen von Cephalosporinen beziehungsweise (bzw.) β -Laktam-Antibiotika sind allergische Reaktionen. Diese sind jedoch beim Tier seltener als beim Menschen. Erbrechen und Durchfall kommen gelegentlich vor, generell sind Cephalosporine jedoch sehr gut verträgliche Medikamente (MASON & KIETZMANN, 1999).

1.7.1.2 Penizilline

Penizilline besitzen wie die Cephalosporine einen β -Laktam-Ring. Zur Behandlung von Hautinfektionen sollten nur β -Laktamase-feste Penizilline, wie

z. B. Amoxicillin in Kombination mit Clavulansäure eingesetzt werden. Die Clavulansäure inaktiviert β -Laktamasen, die vor allem von Staphylokokken sehr häufig gebildet werden (HARVEY & HUNTER, 1999; WERCKENTHIN et al., 2001; GANIÈRE et al., 2005).

In einer französischen Studie waren 62% der aus Pyodermien isolierten *S. intermedius*-Stämme penicillinresistent, zeigten sich jedoch sensibel auf Amoxicillin mit Clavulansäure (GANIÈRE et al., 2005). Auf diese Weise potenziert, ist Amoxicillin ein sehr gut wirksames Medikament zur Behandlung der Pyodermie des Hundes. Eine Verdopplung der Dosierung von den üblicherweise eingesetzten 12,5 mg/kg auf 25 mg/kg zweimal täglich zeigt keine Vorteile (LLOYD et al., 1997). Das breite Wirkspektrum beinhaltet vor allem grampositive Bakterien, aber auch im gramnegativen Spektrum entfaltet es seine Wirkung, wie zum Beispiel gegen *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* und *Proteus spp.* (HARVEY & HUNTER, 1999). Die Clavulansäure wird etwas schneller abgebaut als das Amoxicillin selbst. Da allerdings ihre einzige Aufgabe ist, die β -Laktamasen zu hemmen, wird sie vor allem in den ersten Stunden nach der Verabreichung benötigt. Es ist daher unwahrscheinlich, dass die volle Wirkung des Amoxicillins durch den schnelleren Abbau der Clavulansäure beeinträchtigt wird (HARVEY & HUNTER, 1999). Nebenwirkungen treten wie bei den Cephalosporinen relativ selten auf (HARVEY & HUNTER, 1999; MASON & KIETZMANN, 1999).

1.7.1.3 Fluoroquinolone

Fluoroquinolone wie Enrofloxacin, Marbofloxacin, Ibafoxacin und Difloxacin haben ein breites Wirkspektrum sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien. Sie hemmen die bakterielle Gyrase und stören dadurch das DNA (Desoxyribonukleinsäure)-Supercoiling (IHRKE et al., 1999; LLOYD et al., 1999). Durch ihre schnelle bakterizide Wirkung und ihre günstigen pharmakokinetischen Eigenschaften eignen sie sich sehr gut für den Einsatz bei caninen Pyodermien. Besonders positiv für Hundebesitzer ist, dass Fluoroquinolone nur einmal täglich gegeben werden müssen. IHRKE und Mitarbeiter (1999) empfehlen diese Gruppe vor allem bei rekurrenden, chronischen und tiefen Pyodermien mit starker Narbenbildung oder wenn ein adäquates initiales Antibiotikum nicht geholfen hatte. Bei jungen, schnell wachsenden Hunden sollten sie allerdings nicht eingesetzt werden, da hier eine

nichtentzündliche erosive Arthropathie hervorgerufen werden kann. Sonstige Nebenwirkungen sind selten (IHRKE et al., 1999). Obwohl die Resistenzlage immer noch sehr gut ist, werden in letzter Zeit von Resistenzbildungen gegen Enrofloxacin bei koagulasepositiven Staphylokokken berichtet (IHRKE et al., 1999; LLOYD et al., 1999; AUTHIER et al., 2006).

1.7.1.4 Sulfonamide

Die Sulfonamide sind die älteste Klasse der antimikrobiellen Substanzen und schon seit über 50 Jahren im Einsatz (CAMPBELL, 1999; TREPANIER, 1999). Ihre Anwendung bei der Pyodermie des Hundes ist nur dann sinnvoll, wenn sie mit Diaminopyrimidinen wie z. B. Trimethoprim oder Ormetoprim potenziert werden (HILL & MORIELLO, 1994). Diese haben einen zum Sulfonamid synergistischen Effekt bei der Hemmung der bakteriellen Folsäuresynthese. Damit wird die antibakterielle Aktivität gesteigert und gleichzeitig das Auftreten von Resistenzen vermindert.

Die Kombination Sulphadiazin-Trimethoprim ist die Therapie der Wahl bei Nokardiose (TREPANIER, 1999). Ormetoprim hat eine längere Halbwertszeit als Trimethoprim. Daher ist für mit Ormetoprim potenzierte Sulfonamide eine einmal tägliche Gabe ausreichend. CAMPBELL (1999) empfiehlt für bakterielle Hautinfektionen Sulphadimethoxin/Ormetoprim. Allerdings sollte diese Kombination nicht länger als 21 Tage verabreicht werden, was für tiefe Pyodermien meist nicht ausreichend ist. Bei einem längeren Gebrauch steigt das Risiko für Nebenwirkungen wie z. B. der Keratokonjunktivitis sicca oder der Hypothyreose (BERGER et al., 1995). Vom Einsatz dieser Wirkstoffgruppe sollte bei Hunden mit Leberschäden, Blutbildveränderungen oder bekannter Sulfonamid-Hypersensitivität abgesehen werden. Die Unbedenklichkeit bei trächtigen Hündinnen ist noch nicht gesichert. Generell sollte vor jeder Anwendung von Sulfonamiden ein Schirmer-Tränen-Test durchgeführt werden (CAMPBELL, 1999). Ergibt dieser niedere Werte, sollte ein anderes Medikament eingesetzt werden. Dobermann-Pinscher scheinen häufiger als andere Hunde Hypersensibilitäten auf Sulfonamide zu entwickeln (GIGER et al., 1985). BERGER und Mitarbeiter haben 1995 herausgefunden, dass das Risiko zur Entwicklung einer Keratokonjunktivitis sicca, die häufig als idiosynkratisch betrachtet wird, mit dem Körpergewicht umgekehrt korreliert ist.

1.7.1.5 Macrolide und Lincosamide

Macrolide und Lincosamide sind aufgrund ihrer Wirkung gegen grampositive Bakterien, ihrer guten Gewebepenetration und ihrer hohen intrazellulären Konzentration gut zur Behandlung von Pyodermien geeignet. Leider haben in den letzten Jahren vermehrte Resistenzbildungen ihren Einsatz eingeschränkt (HOLM et al., 2002). Bei immunsupprimierten Patienten sind Macrolide/Lincosamide aufgrund ihrer bakteriostatischen Wirkung nicht die Präparate der Wahl. Die in der Kleintiermedizin gängigen Wirkstoffe dieser Gruppe sind die Makrolide Erythromycin und Tylosin und die Lincosamide Lincomycin und Clindamycin (NOLI & BOOTHE, 1999). Tylosin ist in Deutschland für Hunde nur als kurzwirkende Injektionslösung auf dem Markt und daher zur Verwendung bei Hautinfektionen nicht zu empfehlen. Erythromycin und Clindamycin haben zusätzlich eine Wirkung gegen Anaerobier, letzteres auch gegen Mycoplasmen (NOLI & BOOTHE, 1999).

Wegen ähnlicher Wirkmechanismen sollten Lincosamide, Erythromycin und Chloramphenicol nicht kombiniert werden. Zudem kann die Wirkung anderer, über die Leber eliminierter Medikamente, wie bestimmter Antikonvulsiva, Herzmedikamente oder Theophyllin, verstärkt werden. Erythromycin muss dreimal täglich verabreicht werden und Nebenwirkungen wie Erbrechen können auftreten (NOLI & BOOTHE, 1999).

1.7.1.6 Chloramphenicol

Chloramphenicol hat ein ähnliches Spektrum wie die Makrolide und Lincosamide. Aufgrund seiner möglichen Knochenmarkstoxizität und der Verfügbarkeit alternativer Wirkstoffe kann es allerdings nicht ohne Vorbehalte empfohlen werden, s. hierzu 1.7.3.2 (DOONA & WALSH, 1995; WHITE, 1996).

1.7.1.7 Tetracykline

Da Staphylokokken häufig Resistenzen gegen Tetracykline entwickeln, können diese nicht mehr generell zur Behandlung von Pyodermien empfohlen werden (MEDLEAU, 1986; HILL & MORIELLO, 1994; GANIÈRE et al., 2005). Doxycyclin hat zwar wie alle Tetracykline eine bakteriostatische Wirkung, weist aber häufig eine niedrigere minimale Hemmkonzentration als die restlichen Substanzen seiner Gruppe auf (GANIÈRE et al., 2005). In einer dreiwöchigen Studie wurde gezeigt, dass über die Hälfte caniner und feliner Pyodermien durch

den Einsatz von Doxycyclin gebessert oder gar geheilt wurden (BETTENAY et al., 1994; WHITE, 1996).

1.7.2 Immunstimulation

Die Immunstimulation oder immunmodulatorische Therapie zur Behandlung der Pyodermie wird kontrovers diskutiert. Sie dient laut IHRKE (1996) eher dazu, Rückfälle von oberflächlichen Pyodermien zu vermeiden als eine aktive Pyodermie zu bekämpfen. Die Frequenz oder der Schweregrad einer Infektion können vermindert werden, vollständige Remissionen werden jedoch selten erreicht (IHRKE, 1996).

Auch HILL und MORIELLO (1994) und DEBOER (1990) nennen die immunmodulatorische Therapie im Zusammenhang mit idiopathischen rezidivierenden Pyodermien. Eine objektive Bewertung der Wirksamkeit ist schwierig, da die immunmodulatorische Therapie normalerweise in Kombination mit systemischen oder lokalen Medikamenten angewendet wird (IHRKE, 1996).

Es existieren bakterielle und nichtbakterielle Immunstimulantien. In Deutschland ist momentan kein Präparat zur Immunstimulation speziell gegen bakterielle Infektionen zugelassen. Nicht-bakterielle Wirkstoffe wurden nicht primär als Immunstimulantien entwickelt und verwendet, sondern haben andere Hauptindikationen (DEBOER, 1990). Hier sind Levamisol und Cimetidin zu nennen, deren Wirksamkeit bei der Behandlung von caninen Pyodermien in wissenschaftlichen Studien bisher noch nicht hinreichend nachgewiesen ist (DEBOER, 1990; HILL & MORIELLO, 1994).

1.7.3 Lokale Therapie

Eine topische Medikation kann in milden Fällen als alleinige Therapie von caninen Pyodermien verwendet werden, ist aber auch unterstützend zur systemischen Therapie sehr sinnvoll (MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; IHRKE, 1996; LLOYD, 1996; CURTIS, 1998; HORVATH & NEUBER, 2007; MUELLER, 2008). Richtig angewendet, können durch lokale Behandlung systemisch verabreichte Medikamente reduziert und die Heilung beschleunigt werden (LLOYD, 1996). Bei rezidivierenden Pyodermien kann durch die Reduktion der oberflächlichen Staphylokokken auf der Haut ein Rückfall verhindert, oder zumindest das Intervall zwischen den Infektionsschüben verlängert werden (DEBOER, 1990; IHRKE, 1996; LLOYD, 1996). Die Vorteile

topischer Therapeutika gegenüber einer systemischen Antibiose sind eine hohe Wirkstoffkonzentration am Ort der Infektion und ein meist vollkommenes Ausbleiben systemischer Nebenwirkungen. Die Haut erhält nur 4 % des gesamten Herzauswurfvolumens an Blut, und die Epidermis hat überhaupt keine Blutversorgung (HILL & MORIELLO, 1994). Daher erreichen systemische Antibiotika hier häufig nicht die notwendige Konzentration. Lokal anzuwendende Präparate zeichnen sich dagegen durch eine hohe lokale Verfügbarkeit des Wirkstoffs in der Haut aus. So kann es sogar vorkommen, dass ein Antibiotikum, gegen das sich ein Bakterium im Resistenztest als nicht effektiv herausgestellt hatte, trotzdem wirksam ist (THAÇI & SCHÖFER, 2005).

Lokal anzuwendende Medikamente werden in den verschiedensten Formulierungen angeboten (s. u.) (HARVEY, 1991; CURTIS, 1998; 1999; CARLOTTI, 2003).

Die Wahl des Produktes und die Wirksamkeit der lokalen Behandlung hängen von verschiedenen Faktoren ab. Die Form und Lokalisation der bakteriellen Infektion spielen eine große Rolle (GUAGUÈRE, 1996; HORVATH & NEUBER, 2007). Eine generalisierte tiefe Pyodermie wird beispielsweise durch ausschließlich lokale Therapie selten zur Heilung kommen und eine nässende Erosion muss anders behandelt werden als eine trockene Seborrhoe, obwohl beide Symptome einer Pyodermie sein können (LLOYD, 1996; CURTIS, 1998; MUELLER, 2008).

Auch der Patient selbst ist ausschlaggebend bei der Wahl der Therapie. Manche Hunde sind wasserscheu und lassen sich nur sehr ungern shampooen, während andere Patienten ein Bad gut tolerieren. Bei großen, langhaarigen Hunden können sich Zeitaufwand und die Kosten als nicht zu bewältigende Probleme herausstellen. Eine gute Kommunikation mit dem Tierbesitzer ist daher von großer Bedeutung, um bei einer Langzeittherapie frühzeitig festzustellen, ob und wo Fehler oder Probleme auftreten können (MUELLER, 2008).

Letztlich sind zudem die Jahreszeit und die Witterung zu beachten. Im Sommer ist es wesentlich einfacher einen Hund im Freien zu baden und dort sein Fell auch trocknen zu lassen, während das Shampooen und Trocknen eines großen, langhaarigen Hundes im Winter eine Schwierigkeit darstellt (MUELLER, 2008).

1.7.3.1 Shampoos

Antibakterielle Shampoos sind die am häufigsten verwendeten lokalen Produkte (GUAGUÈRE, 1996; IHRKE, 1996). Im Gegensatz zu anderen Formulierungen ist hier das Fell weniger störend, und es können auch große Flächen behandelt werden (MUELLER, 2008). Zusätzlich zu ihrer antibakteriellen Wirkung haben Shampoos in Kombination mit dem verwendeten Wasser weitere positive Eigenschaften wie die Entfernung von Schmutz, Entzündungsprodukten und Oberflächendebris von der Haut, Linderung von Juckreiz, Verbesserung der Fellqualität, Beseitigung von unangenehmem Geruch und Rehydrierung der Haut beim Baden (MASON, 1993; GUAGUÈRE, 1996; IHRKE, 1996; MUELLER, 2008). Mögliche Nachteile der Shampootherapie sind Unannehmlichkeiten für die Besitzer (s. o.) (MASON, 1993; MUELLER, 2008). Um die Kosten zu senken und die Effektivität des therapeutischen Shampoos zu steigern, ist es möglich, ein herkömmliches Hundeshampoo vor dem eigentlichen Shampooniervorgang einzusetzen (HILL & MORIELLO, 1994; MUELLER, 2008). Unerwünschte Nebenwirkungen treten bei der Shampootherapie selten auf. Bei Tieren mit sehr entzündeter oder sensibler Haut sollte vor der Behandlung ein sogenannter Patch-Test empfohlen werden. Hierfür wird das Shampoo auf eine kleine haarlose Stelle am Bauch aufgetragen, zehn Minuten auf der Haut belassen und danach gut ausgespült. Während der nächsten 24 h wird die Stelle regelmäßig auf Entzündungssymptome untersucht (CURTIS, 1998; MUELLER, 2008). Auch während der Shampootherapie sollte der Hund gut beobachtet werden. Sobald Hautentzündungen oder starker Juckreiz auftreten, sollte die Therapie beendet oder zu einem anderen Produkt gewechselt werden (MUELLER, 2008). Die Frequenz der Behandlung hängt von der Tiefe und dem Schweregrad der Infektion ab. In manchen Fällen ist ein Bad jeden zweiten Tag oder sogar täglich notwendig, meist sind allerdings eine oder zwei Anwendungen pro Woche ausreichend. Sobald eine Besserung eintritt, kann das Behandlungsintervall graduell verlängert werden. Ziel bei rezidivierenden Pyodermien ist es, die Intervall-Länge herauszufinden, bei der die Infektion noch unter Kontrolle gehalten werden kann (MASON, 1993). Der Hinweis über die Einwirkzeit von zehn bis 15 min bevor die meisten Shampoos wieder ausgespült werden können, ist für die Besitzer sehr wichtig (HILL & MORIELLO, 1994; MUELLER, 2008).

Moderne antibakterielle Shampoos basieren auf Tensiden/Detergentien

(oberflächenaktiven Substanzen) (CURTIS, 1998; MUELLER, 2008). Als antimikrobielle Komponenten können unter anderem die Wirkstoffe Benzoylperoxid, Chlorhexidin, Ethyllaktat, Triclosan, Phytosphingosin oder Jod enthalten sein. Sie unterscheiden sich in ihrer Wirkweise, ihrer Effizienz und ihrer Restaktivität auf der Haut. Die ideale Substanz würde große Mengen von Mikroorganismen auf dem Fell schnell töten, eine lange Restaktivität besitzen und keine Reizungen der Haut hervorrufen (DEBOER, 1990).

Benzoylperoxid

Benzoylperoxid hat eine sehr potente und breite antibakterielle Wirkung (KLIGMAN, 1977). In der Haut reagiert es zu Benzoesäure und zu freien Sauerstoffradikalen, welche den pH-Wert der Haut senken und die mikrobielle Zellmembran zerstören. Ein großer Vorteil dieses Wirkmechanismus' ist, dass auch gegen Antibiotika resistente Bakterien angegriffen werden und keine neuen Resistenzen entstehen (BURKHART et al., 2000; WORRET & FLUHR, 2006). Vor allem in höheren Konzentrationen können jedoch Hautreizungen und Kontaktallergien auftreten (CURTIS, 1998; BURKHART et al., 2000; WORRET & FLUHR, 2006). Hierbei sind Erytheme, Schmerzen, Juckreiz und Reizungen der Augen mögliche Symptome. Meist wird daher eine niedrige Benzoylperoxid-Konzentration von zwei bis drei Prozent verwendet (MUELLER, 2008). Doch selbst in diesen Konzentrationen wirkt Benzoylperoxid noch stark entfettend und bleichend (KLIGMAN, 1977; DEBOER, 1990; WORRET & FLUHR, 2006). Nach dem Shampooieren sollte daher immer eine rückfettende Spülung oder ein rückfettendes Spray angewendet werden (LLOYD, 1996; HORVATH & NEUBER, 2007; MUELLER, 2008). Bei Patienten mit sehr entzündeter oder trockener Haut ist Benzoylperoxid nicht zu empfehlen (HARVEY, 1991; CURTIS, 1998). Auch bei Welpen sollte es nur sehr vorsichtig eingesetzt werden (SCOTT et al., 2001).

Weitere Wirkungen des Benzoylperoxids sind das mögliche Ausspülen der Haarfollikel und die Keratolyse (HORVATH & NEUBER, 2007; MUELLER, 2008). Die Haarschäfte werden freigespült und eine übermäßige Keratinisierung wird verhindert, was vor allem bei Follikulitiden und Furunkulosen hilfreich ist. Benzoylperoxid wird daher in der Humanmedizin seit langem als Standard-Therapie bei Akne eingesetzt (KLIGMAN, 1977; WORRET & FLUHR, 2006).

Doch auch beim Vorliegen von Komedonen, Sebadenitis und unterstützend bei der Behandlung einer Demodikose, können gute Resultate erzielt werden (IHRKE, 1996; MUELLER, 2004). In Fällen einer oberflächlichen Pyodermie mit fettiger Seborrhoe ist die stark entfettende Wirkung von Benzoylperoxid ein Vorteil, wodurch es für diese Indikation besonders nützlich erscheint (HARVEY, 1991; CURTIS, 1998; MUELLER, 2008).

In einer vergleichenden Studie von KWOCHKA und KOWALSKI (1991) mit Benzoylperoxid-, Chlorhexidin-, Jod- und Triclosan/Sulfur/Salizylsäure-Shampoos zeigte Benzoylperoxid die beste prophylaktische Wirkung gegen *S. intermedius* (bzw. *S. pseudintermedius*, s. 1.3.2). Seine antimikrobielle Aktivität hält auf der Haut bis zu 48 Stunden an (KLIGMAN, 1977; KWOCHKA & KOWALSKI, 1991).

Chlorhexidin

Chlorhexidin ist ein synthetisches Biguanid mit einer breiten antiseptischen Wirkung gegen zahlreiche grampositive und gramnegative Keime (CURTIS, 1998; HORVATH & NEUBER, 2007; MUELLER, 2008). Besonders *S. intermedius* (bzw. *S. pseudintermedius*, s. 1.3.2) hat sich als sehr sensibel erwiesen (LLOYD & LAMPORT, 1999). Die bakterizide Wirkung kommt vermutlich durch Zerstörung der Zellmembran zustande (KUYAKANOND & QUESNEL, 1992). In der oben genannten Studie war Chlorhexidin der zweiteffektivste Wirkstoff nach Benzoylperoxid (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991). Oft wird es in Konzentrationen zwischen 0,5 und 3% verwendet (MUELLER, 2008). Aufgrund der schnelleren Abtötung von Bakterien sind jedoch Konzentrationen von drei oder mehr Prozent wünschenswert (LLOYD & LAMPORT, 1999). Die großen Vorteile von Chlorhexidin sind, dass es trotz guter antibakterieller Eigenschaften weniger austrocknend/entfettend und reizend wirkt als Benzoylperoxid und dennoch eine Restaktivität auf der Haut von mehreren Stunden zeigt (HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; HORVATH & NEUBER, 2007; MUELLER, 2008).

Ethyllaktat

Ethyllaktat wird von bakteriellen Lipasen in Haarfollikeln und Talgdrüsen zu

Ethanol und Milchsäure umgesetzt. Ethanol verflüssigt Fette, und Laktat senkt den Haut-pH-Wert, was eine bakterizide Wirkung zur Folge hat (PROTTEY et al., 1984; HALLIWELL, 1991; DE JAHAM, 2003). Meist wird es in zehnprozentiger Konzentration verwendet (GUAGUÈRE, 1996). Die Wirksamkeit von Ethyllaktat ist umstritten. Eine Studie von ASCHER und Mitarbeitern (1990) zeigte, dass es bei der Behandlung von Oberflächen- und oberflächlichen Pyodermien genauso wirksam war wie Benzoylperoxid, während CAMPBELL und Mitarbeiter (1995) dagegen keine bessere Wirksamkeit als reines Wasser nachweisen konnten.

Eine neuere Studie zeigt, dass durch ein zweimal wöchentliches Shampooieren mit zehnprozentigem Ethyllaktat die Behandlungsdauer mit systemischen Antibiotika verkürzt werden kann (DE JAHAM, 2003).

Der Einsatz von Ethyllaktat ist vor allem in Fällen von milden Oberflächen- und oberflächlichen Pyodermien bei Hunden mit normaler bis trockener Haut indiziert, da es viel weniger reizend und austrocknend wirkt als Benzoylperoxid (ASCHER et al., 1990; LLOYD, 1996; CURTIS, 1998; MUELLER, 2008). Unerwünschte Nebenwirkungen treten auch bei der Anwendung von Ethyllaktat nur selten auf (GUAGUÈRE, 1996).

Jod

Jod wird meist als Povidon-Jod verwendet. Aus diesem Jodophor wird das Jod langsam ins Gewebe abgegeben (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991; GUAGUÈRE, 1996). Seine bakterizide Aktivität ist schwächer als die von Benzoylperoxid (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991). Jod-Shampoos werden nicht standardmäßig eingesetzt, da Fellverfärbungen und Hautreizungen auftreten können (HILL & MORIELLO, 1994; IHRKE, 1996; LLOYD, 1996; MUELLER, 2008).

Triclosan

Triclosan ist eine bakterizide Substanz (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991). Sie wird meist in Kombination mit Sulfur und Salizylsäure eingesetzt. Daher ist Triclosan vor allem bei seborrhoeischen Imbalanzen zu empfehlen (MASON, 1993; HILL & MORIELLO, 1994; GUAGUÈRE, 1996). Die prophylaktische

Wirksamkeit von 0,5%igem Triclosan mit je 2,0 % Sulfur und Salizylsäure gegen *S. intermedius* (bzw. *S. pseudintermedius*, s. 1.3.2) war in der Studie von KWOCHKA und KOWALSKI (1991) geringer als die der anderen untersuchten Substanzen (3,0%iges Benzolyperoxid, 0,5%iges Chlorhexidin und 1,0%iges Jod). Sie war dennoch statistisch signifikant.

Sphingosine: s. hierzu auch Kapitel 3

Sphingosine sind Aminoalkohole. Sie entstehen beim Abbau von Ceramiden in der Haut. Besonders hoch ist ihre Konzentration in der Epidermis, vor allem im Stratum corneum (WERTZ & DOWNING, 1989; MASON, 1993). Es können vier Hauptklassen in der menschlichen Haut unterschieden werden: Phytosphingosin, Sphingosin, Sphingalin und 6-Hydroxysphingosin (MELNIK, 2006). Ersteres wurde am häufigsten nachgewiesen und es ist, meist in Kombination mit anderen Wirkstoffen, als Shampoo, Spray, Gel und als Spot on auf dem Markt erhältlich. Im Jahre 1988 wurde erstmals die antimikrobielle Wirkung der Sphingolipide erkannt (MILLER et al., 1988; BIBEL et al., 1989). Sphingosine haben ein Wirkspektrum gegen grampositive (vor allem gegen *S. aureus*) und gramnegative Bakterien, *Candida albicans* und sogar eine leichte Wirkung gegen Dermatophyten (BIBEL et al., 1992a; BIBEL et al., 1993; BIBEL et al., 1995). Der exakte Wirkmechanismus ist noch unbekannt. Als Angriffspunkt wird jedoch die bakterielle Zellwand genannt. Sie wird beschädigt, woraufhin eine Bakteriolyse eintritt (BIBEL et al., 1993). Weiterhin wird die Adhäsion von Bakterien an Zellen beeinflusst (BIBEL et al., 1992b), und die Hemmung einer bakteriellen Proteinkinase wird vermutet (BIBEL et al., 1992a; 1995). Eine Studie von BOURDEAU und Mitarbeitern (2007) untersuchte ein Phytosphingosin-enthaltendes Shampoo und Spray. Die allergisch bedingten Hautsymptome und der Juckreiz von Hunden konnten durch Shampooieren und Spray-Behandlung reduziert werden. Die antibakterielle Wirkung wurde nicht untersucht.

1.7.3.2 Cremes, Salben, Gele, Lotionen, Suspensionen und Lösungen

Cremes, Salben, Gele, Lotionen, Suspensionen und Lösungen sind für die Behandlung sehr lokaler Pyodermien geeignet. Der Übergang zwischen den verschiedenen Formulierungen ist fließend. Da ihre Klassifizierung nicht nach wissenschaftlichen Maßstäben durchgeführt wurde, unterscheiden sich ihre

Definitionen abhängig vom Autor.

In der Tiermedizin werden sie viel seltener angewendet als in der Humanmedizin. Dies liegt vor allem am dichten Fell der Patienten, welches das Auftragen der Produkte direkt auf die Haut und eine Penetration der Wirkstoffe in die Haut erschwert (MASON, 1993; MUELLER, 2008). Die Präparate bleiben im Fell hängen, woraufhin der Hund sich zum Leidwesen der Besitzer an Gegenständen wie z. B. Möbeln und Teppichen reibt oder das Produkt ableckt.

Der Gebrauch dieser topischen Produkte (mit Ausnahme der Lotion und der Lösung) ist vor allem in Fällen indiziert, bei denen nur kleinere Areale betroffen sind beziehungsweise lokalisierte Läsionen an wenig behaarten Körperstellen vorliegen (MASON, 1993). Bei der Wahl der entsprechenden Formulierung sollten folgende Eigenschaften auch in Erwägung gezogen werden: Ein Gel hat einen zusätzlichen kühlenden Effekt, eine Lotion und eine Creme werden von der Haut relativ schnell absorbiert, während eine fettige Salbe eher länger auf der Haut verbleibt (BUHSE et al., 2005). Lösungen sind beispielsweise als Pfotenbäder gut anzuwenden. Eine antibiotische Salbe kann bei Intertrigo, caniner Akne, Kallus-Pyodermie und lokal begrenzter Follikulitis oder mukokutaner Pyodermie sehr hilfreich sein (IHRKE, 1996; LLOYD, 1996).

Das Tier sollte am sofortigen Ablecken des Medikaments gehindert werden. Dies kann durch Ablenkung des Tiers direkt nach dem Auftragen, zum Beispiel durch intensives Spielen, Füttern, Spazierengehen oder Streicheln erreicht werden. Auch Halskrausen, T-Shirts oder Verbände können nützlich sein. Neben der Entfernung des Medikaments können durch orale Aufnahme eines lokal anzuwendenden Therapeutikums vermehrt systemische Nebenwirkungen hervorgerufen werden. Daher sollte das Produkt nur dünn aufgetragen werden. Eine dickere Schicht erhöht die Wirksamkeit nicht (MUELLER, 2008).

Die Anwendungsfrequenz und -dauer sind abhängig vom jeweiligen Fall. Meist wird ein täglich zweimaliges Auftragen empfohlen (LLOYD, 1996).

Viele Antibiotika werden als lokal anzuwendende Produkte häufig in Kombination mit anderen Medikamenten wie Antimykotika oder Steroiden angeboten. Einige für die Veterinärdermatologie relevanten Inhaltsstoffe sind unter anderen Mupirocin, Fusidinsäure, Silbersulfadiazin, Polymyxin B und Neomycin. Diese werden im Folgenden näher beschrieben.

Mupirocin

Mupirocin ist ein nur lokal anwendbares Antibiotikum, das von dem Bakterium *Pseudomonas fluorescens* gebildet wird (SUTHERLAND et al., 1985; WERNER & RUSSELL, 1999). Daher ist es auch unter dem Namen Pseudomonilsäure bekannt. Es ist vor allem gegen Staphylokokken und Streptokokken gut wirksam. Oft hilft es zusätzlich gegen multiresistente Staphylokokken. Beim Menschen wird es zur Eradikation nasaler Methicillin-resistenter *S. aureus* verwendet (SUTHERLAND et al., 1985; LEVER, 1988; THAÇI & SCHÖFER, 2005). In der Anwesenheit von Serum oder Exsudat verringert sich allerdings seine Wirksamkeit, da es zu 95% proteingebunden vorliegt (SUTHERLAND et al., 1985). Mupirocin greift in die Proteinsynthese der Bakterien ein, indem es die Isoleucyl-tRNA (transfer-Ribonukleinsäure)-Synthetase hemmt und so den Einbau von Isoleucin in Proteine verhindert (HUGHES & MELLOWS, 1980; GEOFFRAY et al., 1990; NICHOLAS et al., 1999). Primär resistente Staphylokokken treten mit wechselnder Häufigkeit auf, Kreuzresistenzen sind jedoch keine bekannt. Als unerwünschte Nebenwirkung wurde beim Menschen eine Hemmung der Wundkontraktion als Folge der verminderten Proteinsynthese festgestellt (THAÇI & SCHÖFER, 2005).

Fusidinsäure

Fusidinsäure ist ein Antibiotikum, das lokal und systemisch anwendbar und vor allem gegen Staphylokokken und grampositive Anaerobier einzusetzen ist (VERBIST, 1990). Seine Wirksamkeit ist ähnlich der des Mupirocins (SPELMAN, 1999). Es hemmt die bakterielle Proteinsynthese durch Beeinflussung des Elongationsfaktors G (Translokase) und vermutlich zusätzlich durch andere Mechanismen und wirkt daher bakteriostatisch (TANAKA et al., 1968) Die Resistenzrate ist niedrig und Nebenwirkungen sind selten (SHANSON, 1990; WERNER & RUSSELL, 1999; THAÇI & SCHÖFER, 2005). Sie betreffen vor allem den Gastrointestinaltrakt, während eine Kontaktdermatitis dagegen kaum auftritt (CHRISTIANSEN, 1999).

Silbersulfadiazin

Silbersulfadiazin ist ein Sulfonamid, das vor allem zur Behandlung von Brandwunden eingesetzt wird und das ein breites Wirkspektrum aufweist (CAMPBELL, 1999). Besonders gut wirkt es gegen Pseudomonaden, aber auch gegen Staphylokokken zeigt es sich effektiv (CARR et al., 1973). Das Silber wird langsam in für Mikroorganismen toxischen Konzentrationen aus dem Präparat freigesetzt (CAMPBELL, 1999). Systemische Nebenwirkungen sind bei Hunden bisher nicht bekannt (MORRIS, 2004).

Polymyxin B

Polymyxin B ist vor allem gegen gramnegative Bakterien wie Pseudomonaden und Klebsiellen einzusetzen. Zusätzlich ist es häufig bei auf andere antimikrobiellen Wirkstoffe resistenten Keimen hilfreich (ZAVASCKI et al., 2007). Nebenwirkungen wie Hautreizungen treten gelegentlich auf (THAÇI & SCHÖFER, 2005).

Chloramphenicol

Chloramphenicol zeigt gegen die meisten grampositiven und gramnegativen Bakterien, sowie auch gegen Rickettsien, Chlamydien und Mykoplasmen eine gute bakteriostatische Wirksamkeit. Weniger effektiv ist es gegen *Pseudomonas aeruginosa* und gegen Mykobakterien (THAÇI & SCHÖFER, 2005).

Die aplastische Anämie als seltene, aber oft tödlich verlaufende Nebenwirkung des systemisch angewandten Chloramphenicols, ist allgemein bekannt (WALLERSTEIN et al., 1969). Außerdem wurde beim Hund von einzelnen Knochenmarkstoxizitäten nach lokaler Anwendung von Chloramphenicol-Augentropfen und einer -Augensalbe berichtet (DOONA & WALSH, 1995).

Neomycin

Neomycin hat den Nachteil, dass es bei Hautkontakt zu Sensibilisierungsreaktionen kommen kann. Kreuzsensibilisierungen zu anderen Aminoglykosiden sind möglich (DOWLING, 1996). Zudem sind die meisten Streptokokken, Pseudomonaden und auch einige Staphylokokkenstämme resistent

gegen Neomycin (THAÇI & SCHÖFER, 2005).

Auf die in Gels enthaltenen Substanzen Benzoylperoxid und Phytosphingosin wurde weiter oben näher eingegangen, s. hierzu Unterpunkt 1.7.3.1.

2. Canine atopische Dermatitis

2.1 Definition

Die atopische Dermatitis ist eine entzündliche, juckende, allergische Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Symptomen. Es besteht vermutlich eine genetische Prädisposition. In der Regel sind IgE-Antikörper gegen Umweltallergene Teil der Immunantwort (OLIVRY et al., 2001a).

2.2 Ätiologie und Pathogenese

Zwar wurden die Haut-Symptome erst 1971 genau dokumentiert (HALLIWELL, 1971), der erste Bericht über einen umweltallergischen Hund stammt jedoch schon aus dem Jahre 1941. Per Scratchtest (passivem intrakutanem Anaphylaxietest) und durch Provokationsproben stellte der Allergologe WITTICH (1941) bei einer Fox Terrier-Hündin in den USA eine Pollenallergie auf Ambrosia fest. Die Hündin litt zur Blütezeit der Ambrosia an "Heuschnupfen".

Auf welchem Wege die Allergene zur Dermatitis führen, bleibt bis heute umstritten. Früher wurde angenommen, dass sie ausschließlich durch die Nase/Schnauze inhaliert würden, per Blutkreislauf in die Haut gelangten und dort Mastzellen stimulierten. Daher war auch der Name "allergic inhalant dermatitis" gebräuchlich (ANDERSON & GARVEY, 1982). Studien, die in den letzten Jahren durchgeführt wurden, stützen jedoch eher die Hypothese einer epidermalen Penetration. Die ACVD (American College of Veterinary Dermatology) Task Force hat Argumente pro und contra beider Eintrittspforten gesammelt (OLIVRY & HILL, 2001) und kam zu der Schlussfolgerung, dass derzeit ein epidermaler Weg im Kontext der vorhandenen Literatur plausibler erscheint, ein Beitrag von inhalierten oder oral aufgenommenen Allergenen zur Pathogenese der caninen atopischen Dermatitis jedoch nicht ausgeschlossen werden kann (OLIVRY & HILL, 2001). Fünf Jahre später wurde nachgewiesen, dass eine Penetration der Epidermis von relevanten Allergenen eine ausgeprägtere und länger andauernde Symptomatik beim Hund hervorruft als eine Inhalation der Allergene (MARSELLA et al., 2006).

Sehr viele verschiedene Umweltallergene wurden im Zusammenhang mit der caninen atopischen Dermatitis in der Literatur angesprochen, unter anderem

Hausstaubmilben-, Futtermilben- und Insektenantigene, verschiedene Gras-, Baum- und Sträucherpollen, Schimmelpilzsporen, Antigene der Epidermis und sonstige Antigene. Problematisch hierbei ist, dass bei Allergietests sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Ergebnisse auftreten und dass in der Vergangenheit sehr wenig Standardisierung in den verschiedenen Studien betrieben wurde. So gibt es unterschiedliche Testmethoden und die Testantigene sind in der Tiermedizin derzeit nicht standardisiert (HILL & DEBOER, 2001).

Eine genetische Prädisposition wird beim Menschen und beim Hund vermutet (DE WECK et al., 1997; MORAR et al., 2006). Die erhöhte Inzidenz der atopischen Dermatitis bei bestimmten Rassen lassen eine Vererbbarkeit als sehr wahrscheinlich erscheinen (DEBOER & HILL, 1999). Diese Inzidenz ist in verschiedenen geographischen Regionen unterschiedlich. Handfeste Beweise für eine genetische Prädisposition stehen allerdings noch aus, und auch der genaue Erbgang bleibt unklar.

Die Prävalenz der atopischen Erkrankungen (Asthma, allergische Rhinitis und atopische Dermatitis) hat bei Menschen in industrialisierten Ländern während der letzten drei Jahrzehnte stetig zugenommen (WÜTHRICH, 1989; HEINRICH et al., 2002; LEUNG et al., 2004). In ländlichen Gebieten bleibt die Prävalenz der atopischen Dermatitis geringer (NILSSON et al., 1999). Da in Ländern mit Einwohnern von ähnlichem genetischen Hintergrund sehr große Unterschiede in der Prävalenz festgestellt wurden, ist es wahrscheinlich, dass Umweltfaktoren eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der atopischen Dermatitis spielen (LEUNG et al., 2004). Bei Hunden wurde weder die Prävalenz noch die Inzidenz der caninen atopischen Dermatitis genau dokumentiert. Die Umwelteinflüsse haben sich jedoch im Umfeld des Hundes ähnlich geändert wie im Umfeld des Menschen. Es ist daher anzunehmen, dass es auch zunehmend mehr allergische Hunde gibt (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

Eine gestörte Hautbarriere scheint an der Pathogenese der atopischen Dermatitis beteiligt zu sein. Umweltallergene können leichter durch eine angegriffene Haut penetrieren (JENSEN et al., 2004). Nachfolgend können sich bakterielle Infektionen etablieren und die Symptome der Allergie verschlimmern (BREUER et al., 2001; DEBOER & MARSELLA, 2001). Sowohl bei Hunden als auch beim Menschen wurden in mehreren Studien erniedrigte Ceramidwerte und erhöhte transepidermale Wasserverluste der Haut von Allergikern im Vergleich zu

gesunden Individuen festgestellt (GRUBAUER et al., 1989; JACKSON et al., 1993; DI NARDO et al., 1998; OHNISHI et al., 1999; SEGIGUCHI et al., 2003; JENSEN et al., 2004; SHIMADA et al., 2008). CHESNEY (1995) konnte dagegen keinen Unterschied in der Haut-Wasserdynamik zwischen allergischen und gesunden Probanden nachweisen. Beim allergischen Menschen waren zudem die Sphingosinwerte im Stratum corneum erniedrigt, und gleichzeitig war eine höhere Anzahl an *S. aureus* auf der Haut zu finden (ARIKAWA et al., 2002). S. hierzu Kapitel 3.

Bisherige Studien haben häufig die Vererbung des Gens, das für die IgE-Produktion verantwortlich ist, untersucht (SOUSA & MARSELLA, 2001). Die Rolle des Antikörpers IgE bei der atopischen Dermatitis ist allerdings noch nicht vollkommen geklärt. Obwohl sehr viele Hinweise für seine Wichtigkeit in der Pathogenese vorliegen, existieren kontroverse Daten. Nicht alle Genträger entwickeln tatsächlich eine atopische Dermatitis, und nicht jeder Allergiker weist hohe allergenspezifische IgE-Werte auf (DEBOER & HILL, 1999).

Negative Hauttestreaktionen sind bei positiven Patchtests beschrieben und umgekehrt besitzen teilweise auch gesunde Hunde allergen-spezifische IgE-Antikörper (SCHWARTZMAN et al., 1983; DEBOER & HILL, 1999; HALLIWELL & DEBOER, 2001). Zunehmend wird die Bedeutung von Thymus-abhängigen Lymphozyten (T-Zellen) in der Pathogenese der atopischen Dermatitis erkannt. Beim Menschen und beim Hund sind frühe Läsionen durch Typ2-T-Helferzellen (Th2-Zellen) und die von ihnen produzierten Zytokine Interleukin 4 (IL-4), IL-5 und IL-13 charakterisiert. Bei chronischen Läsionen wird auch eine erhöhte Th1-Antwort mit vermehrter Ausschüttung von Interferon γ (IFN- γ) und IL-12 gesehen (OLIVRY et al., 1997; OLIVRY et al., 1999; HILL & OLIVRY, 2001; NUTTALL et al., 2002; LEUNG et al., 2004).

2.3 Diagnose

Die Diagnosestellung der caninen atopischen Dermatitis gestaltet sich nicht nur aufgrund des variablen klinischen Bildes schwierig (GRIFFIN & BIBEL, 2001). Es gibt kein pathognomonisches Symptom und klinisch kann der Verdacht nur durch ein Zusammenspiel verschiedener typischer Anzeichen und einer genauen Anamnese geäußert werden. Leider kann auch kein diagnostischer Test allein zu einer sicheren Diagnose führen. Es muss daher eine Kombination diagnostischer Kriterien angewandt werden und letztendlich eine Diagnose per Ausschluss von in

Frage kommenden Differentialdiagnosen gestellt werden (WILLEMSE, 1986; PRÉLAUD et al., 1998; DEBOER & HILLIER, 2001a; FAVROT et al., 2008). Die Liste der Differentialdiagnosen ist lang, da viele Erkrankungen das Hauptsymptom Juckreiz hervorrufen können und meist zusätzlich zur Allergie Sekundärinfektionen vorhanden sind (WILLEMSE, 1986; DEBOER & MARSELLA, 2001). Der Ausschluss von Flohspeichel- und Futtermittelallergie, bakteriellen Follikulitiden, der Malasseziendermatitis, von Milbenbefall und seltener Verhornungsstörungen und Kontaktdermatitiden (DEBOER & HILLIER, 2001a) ist in der Regel am vordringlichsten.

In den 1980er Jahren definierten WILLEMSE (1986) sowie etwas später PRELAUD und Mitarbeiter (1998) bestimmte klinische Kriterien, die die Diagnosestellung erleichtern sollten. Auch die Anwendung dieser Listen führt leider nicht in allen Fällen zum richtigen Ergebnis. Kürzlich wurde eine neue Liste von klinischen Kriterien zusammengestellt, die höhere negative und positive Voraussagewerte hat als die bisher vorgeschlagenen Kriterien (FAVROT et al., 2008).

Serumtests weisen allergenspezifische IgE-Antikörper im peripheren Blut nach. Bei intrakutanen Hauttests (auch Intrakutantests oder Intradermaltests genannt) werden die Allergienlösungen in die Dermis injiziert und nach einer bestimmten Zeit die Erythem- und Quaddelbildung beurteilt. Wie oben allerdings schon angedeutet, können bei beiden Methoden allergische Hunde ein negatives Testergebnis, gesunde ein positives Ergebnis zeigen (HILLIER & DEBOER, 2001). Sowohl bei den Blut- als auch bei den Hauttests gibt es unterschiedliche Vorgehensweisen und Messmethoden. Es hat, was die verwendeten Allergienlösungen, die Auswertungsmethoden und -kriterien betrifft, bisher noch keine ausreichende Standardisierung stattgefunden (DEBOER & HILLIER, 2001b; HILLIER & DEBOER, 2001). Leider besteht zwischen den Ergebnissen von Serum- und Intrakutantests nur eine bedingte Korrelation. Deshalb sollten diese Tests nie als Screeningtests verwendet werden, sondern erst nach Ausschluss anderer möglicher Erkrankungen der klinischen Diagnose eingesetzt werden, um beteiligte Allergene zu identifizieren (DEBOER & HILLIER, 2001b; 2001a; HILLIER & DEBOER, 2001). Zu beachten ist außerdem, dass bestimmte Medikamente (wie beispielsweise Glukokortikoide und Antihistaminika), die Jahreszeit (bzw. Blütezeit) und das Alter der Hunde die Testergebnisse

beeinflussen können (HILLIER & DEBOER, 2001).

2.4 Klinisches Bild

Das klinische Bild der atopischen Dermatitis kann von sehr unterschiedlichen Erscheinungsformen geprägt sein. Da die Diagnostik in älteren Studien noch sehr von der heutigen abwich oder keine Ausschlussdiagnostik durchgeführt wurde, ist es möglich, dass bei früheren Berichten über atopische Hunde zusätzlich zur Atopie andere Krankheiten beteiligt waren. Auch heute noch ist die Diagnosestellung nicht perfekt, weshalb gewisse Lücken oder Fehler in der Beschreibung der Gesamtheit der Symptome wahrscheinlich sind (DEBOER & HILLIER, 2001a; GRIFFIN & BIBEL, 2001).

Häufig in Studien, Büchern und Berichten genannte Symptome sind

- ein typisches Erscheinungsalter von sechs Monaten bis zu drei Jahren (wobei ebenfalls ältere und jüngere Hunde betroffen sein können),
- das Betroffensein bestimmter Rassen (Prädilektionen können regional beeinflusst sein und sich im Laufe der Zeit ändern),
- eventuelle Saisonalität der Symptome je nach Allergen,
- Juckreiz, typischerweise im Gesicht, an den Ohren, den Pfoten und Beinen oder dem Bauch (allerdings sind jegliche Kombinationen und das alleinige Auftreten an einer Stelle oder generalisierter Juckreiz möglich)
- Ein gutes Ansprechen auf niedrig dosierte Glukokortikoidtherapie (WITTICH, 1941; PATTERSON, 1960; WILLEMSE, 1986; PRÉLAUD et al., 1998; GRIFFIN & BIBEL, 2001; OLIVRY & SOUSA, 2001b).

Über die auftretenden Primärläsionen herrscht Unstimmigkeit. Oft werden Erytheme beobachtet, manchmal stellen sich allerdings selbst juckende Regionen ohne sichtbare Primärläsion dar. Bei älteren Berichten über Primärläsionen wie Papeln, Pusteln und Krusten könnte es sich auch um Symptome einer bestehenden Sekundärinfektion gehandelt haben (HILL & MORIELLO, 1994; GRIFFIN & BIBEL, 2001; CRAIG, 2003). Sekundärläsionen, die bei chronischem Juckreiz oder Trauma, chronischer Entzündung und Sekundärinfektionen vorkommen, umfassen Leckverfärbungen, Exkorationen, Alopezie durch Lecken oder Kratzen, trockenes und stumpfes Fell, Hyperpigmentation, Schuppenbildung und Lichenifikation. Über eine sekundäre Otitis externa, Pyodermien und Konjunktividen wird häufig berichtet (MASON & LLOYD, 1989; HILL &

MORIELLO, 1994; DEBOER & MARSELLA, 2001; GRIFFIN & BIBEL, 2001; MORRIS, 2004).

Die Vielfalt der weiteren möglichen Symptome soll hier nicht näher ausgeführt werden.

2.5 Therapie

Wie sich schon aus der komplexen Diagnostik und dem vielfältigen klinischen Bild ableiten lässt, gibt es keine generell wirksame Therapie, sondern es muss der individuelle Fall behandelt werden. Nicht selten kommen verschiedene Therapeutika als Kombinationen zur Anwendung (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Es sollten nicht nur Erfolgsraten bestimmter Medikamente, sondern auch entstehende Kosten berücksichtigt werden (OLIVRY & MUELLER, 2003).

Zwei verschiedene Behandlungsansätze lassen sich unterscheiden, die ursächliche spezifische Therapie der Allergie sowie die symptomatische Behandlung der atopischen Dermatitis. Zur Bekämpfung der Ursache, das heißt der Überempfindlichkeit auf bestimmte Allergene, sind vor allem die Vermeidung dieser Allergene und die allergenspezifische Immuntherapie in Betracht zu ziehen. Symptomatisch können beispielsweise Glukokortikoide, Zyklosporin, essentielle Fettsäuren, Antihistaminika und juckreizlindernde Shampoos zum Einsatz kommen. Zusätzlich existiert eine Vielzahl weiterer topisch oder systemisch zu verabreichender Wirkstoffe (MUELLER & BETTENAY, 1996; OLIVRY & SOUSA, 2001a; OLIVRY & MUELLER, 2003; MUELLER, 2008). Da bakterielle Sekundärinfektionen häufig vorkommen, zeigen oft auch antimikrobielle Präparate Erfolg bei der Linderung der Symptome (LEVER, 1988; BREUER et al., 2001; DEBOER & MARSELLA, 2001).

Die Vermeidung oder Eliminierung der Allergene ist in den meisten Fällen praktisch nicht oder kaum durchführbar. In den entsprechenden Hauptzeiten des Pollenflugs sollten die Hunde nicht allzu lange nach draußen gelassen und bestimmte Wiesen gemieden werden. Nach dem Spazierengehen können Pollen durch Shampoonieren abgewaschen werden (OLIVRY & SOUSA, 2001a).

2.5.1 Allergenspezifische Immuntherapie

Als Therapie der Wahl wird die allergenspezifische Immuntherapie (ASIT) angesehen (MUELLER & BETTENAY, 1996). Sie wird auch Desensibilisierung

oder Hyposensibilisierung genannt und moduliert die Immunantwort auf Allergenexposition. Wie genau die immunologischen Änderungen vonstatten gehen, ist bisher nicht im Detail bekannt, und im Gegensatz zur Humanmedizin gibt es keine allgemein anerkannten Leitfäden zur Anwendung der Immuntherapie. Allerdings wurde ein mit dem Behandlungserfolg korrelierender Anstieg von IL-10 beim Hund nachgewiesen (KEPPEL et al., 2008). Das entspricht den Forschungsergebnissen beim Menschen, die die Bedeutung der regulatorischen T-Zellen sowie ihrer Zytokine Transformierender Wachstumsfaktor β (TGF- β) und IL-10 nachgewiesen haben (AKDIS et al., 2005). ASIT ist bisher die einzige Therapie, die eine längerfristige Remission des Patienten ohne weitere zusätzliche Medikamentengabe ermöglicht und beim Menschen die Entwicklung weiterer Allergien verhindern kann (GRIFFIN & HILLIER, 2001; OLIVRY & SOUSA, 2001a). Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert die allergenspezifische Immuntherapie für die Humanmedizin als Praxis, einem allergischen Individuum in aufsteigender Dosis Allergenextrakte zu verabreichen, um die mit der darauffolgenden Allergenexposition verbundenen Symptome zu lindern (BOUSQUET et al., 1998). Meist werden die Allergenextrakte subkutan injiziert (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Verschiedene tiermedizinische Studien und klinische Berichte lieferten kontroverse Ergebnisse zum Erfolg der Immuntherapie, weshalb weitere randomisierte Studien zu diesem Thema durchgeführt werden sollten (MUELLER & BETTENAY, 1996; NUTTALL et al., 1998; GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Mueller und Bettenay berichten in einer retrospektiven Studie mit 146 atopischen Hunden bei 84 % der Fälle von einem guten oder sehr guten Ansprechen auf Desensibilisierung. Hunde mit starken Intrakutantest-Reaktionen auf Pollen und Hausstaubmilben zeigten bessere Ergebnisse als jene, die auf Insekten- oder Schimmelpilzallergene stark reagiert hatten. Bei schwachen Hauttestreaktionen war der Erfolg der Therapie geringer. Es konnte sechs bis zwölf Monate dauern, bis eine Besserung sichtbar wurde (MUELLER & BETTENAY, 1996).

In seltenen Fällen können anaphylaktische Nebenwirkungen auftreten, Langzeitnebenwirkungen wurden bisher nicht dokumentiert. Große Vorteile sind das relativ lange Behandlungsintervall, die Möglichkeit der Heilung und die auf lange Zeit gerechneten geringeren Kosten im Vergleich mit der antibiotischen Behandlung (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

2.5.2 Glukokortikoide

Glukokortikoidhaltige Präparate sind sowohl zur oralen als auch zur lokalen Verabreichung auf dem Markt. Obwohl sie sehr häufig angewendet werden, gibt es nur relativ wenige Studien zu ihrer klinischen Wirkung. Die vorhandenen Studien berichten von einer großen Effektivität von Glukokortikoiden in niedriger oraler Dosierung bei der Behandlung von Hautläsionen oder Juckreiz (PARADIS et al., 1991b; MUELLER & BETTENAY, 1996; OLIVRY & SOUSA, 2001b). So gingen 58 von 88 atopischen Hunden (65,9 %) während einer alleinigen Glukokortikoidtherapie in Remission und 27 weitere (30,7 %) zeigten klinische Besserung (MUELLER & BETTENAY, 1996). Topische Produkte erzielten weniger gute Erfolge (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Beim Vergleich einer viermonatigen Anwendung von Cyclosporin A und Methylprednisolon wurde durch beide Präparate gleichermaßen eine Verminderung der Läsionen und des Juckreizes beobachtet (STEFFAN et al., 2003).

Glukokortikoide hemmen die Expression vieler Gene durch Regulation von Gentranskriptionen und reduzieren die Bildung von Zytokinen, proinflammatorischen Enzymen, chemotaktischen Proteinen, Adhäsionsmolekülen und die Aktivierung von Immunzellen. Doch nicht nur die Genrepression, auch die Genaktivierung ist Teil ihres Wirkmechanismus, so zum Beispiel die Aktivierung antiinflammatorischer Gene. Zusätzlich wird vermutet, dass Glukokortikoide die Chromatinstruktur ändern (BARNES, 1998).

Leider wird die Glukokortikoidtherapie, vor allem bei längerer Gabe hoher Dosen, oft von Nebenwirkungen begleitet. Diese ähneln den Symptomen des idiopathischen Hyperadrenokortizismus. Es können Polyurie, Polydypsie, Alopezie, Polyphagie, Adipositas und sogar Pankreatitiden, Ulzera im Magendarmtrakt und Sekundärinfektionen entstehen (BEHREND & KEMPPAINEN, 1997; OLIVRY & SOUSA, 2001b).

2.5.3 Antihistaminika

Antihistaminika binden vor allem an die Histaminrezeptoren H₁ und H₂ und blockieren diese. H₁-Rezeptorantagonisten werden sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin häufig zur Behandlung von Allergien eingesetzt. Sie können zudem anticholinerg, lokal anästhetisch, serotonin-antagonisierend und stabilisierend auf Entzündungszellen wirken, so dass diese weniger proinflammatorische Mediatoren freisetzen (SCOTT & MILLER, 1999). Es

existieren sehr kontroverse Angaben und Versuchsergebnisse zur Wirkung der Antihistaminika. Die in Studien belegte Wirksamkeit kann laut der ACVD Task Force for Canine Atopic Dermatitis für den gleichen Wirkstoff von 0 bis 75 % variieren (DEBOER & GRIFFIN, 2001). Allerdings waren viele dieser Studien offene, nicht placebokontrollierte Versuche, an denen teilweise nicht nur atopische Hunde teilnahmen. In einer kontrollierten Studie zeigte das Antihistaminikum AHR-13268 eine Wirksamkeit von 38 %, das eingesetzte Placebopräparat zeigte jedoch auch in 14 % der Fälle Erfolg (DEBOER et al., 1992). Es wird vermutet, dass die klinische Wirksamkeit dieser Präparate durch Kombination mit essentiellen Fettsäuren gesteigert werden kann (PARADIS et al., 1991a). Für viele Antihistaminika fehlen die für den Hund spezifischen pharmakokinetischen Daten. Aus diesem Grund kann auch eine ungenügende Bioverfügbarkeit oder verringerte Rezeptoraffinität für die geringe Wirksamkeit verantwortlich sein. Der Einsatz von Antihistaminika erfolgt vor allem auf empirischer Basis.

Antihistaminika können unter anderem nach ihrer zusätzlich sedierenden Wirkung aufgeteilt werden

- in Stoffe der ersten Generation mit Sedationseffekt (beispielsweise Chlorpheniramin und Hydroxyzin),
- Antihistaminika der zweiten Generation weitgehend ohne genannte Nebenwirkung (wie Cetirizin und Loratidin)
- in heterozyklische (trizyklische) Antidepressiva (wie Doxepin und Amitriptylin) (SCOTT & MILLER, 1999).

Andere Nebenwirkungen können vorkommen, sie sind jedoch generell nur schwach ausgeprägt (DEBOER & GRIFFIN, 2001). Die Kombination mit essentiellen Fettsäuren ist sinnvoll (PATERSON, 1995).

2.5.4 Essentielle Fettsäuren

Essentielle Fettsäuren zeigen komplexe Wirkmechanismen, die noch nicht vollständig aufgeklärt sind. Auch hier sind aussagekräftige, placebokontrollierte und standardisierte Studien selten (LLOYD & THOMSETT, 1990; OLIVRY et al., 2001b). Wie bereits im Paragraph 2.2 erwähnt, ist bei atopischen Individuen häufig die Lipidzusammensetzung in der Epidermis gestört, was höchstwahrscheinlich eine gestörte Barrierefunktion mit erhöhtem

transepidermalen Wasserverlust nach sich zieht. Vor allem die Sphingolipide des Stratum corneum sind für die Hautbarriere von großer Wichtigkeit, darunter das Ceramid 1, das Linolsäure enthält. Durch Verabreichung eines mit Linolsäure und Zink angereicherten Futters konnten in einer Studie erniedrigte transepidermale Wasserverluste gemessen werden (MARSH et al., 2000). Zahlreiche Versuche zeigten Verbesserungen klinischer Symptome der caninen atopischen Dermatitis in Zusammenhang mit der Gabe essentieller Fettsäuren (LLOYD & THOMSETT, 1990; MUELLER et al., 2004; BENSIGNOR et al., 2008). Die Studien waren allerdings sehr unterschiedlich konzipiert, hatten teilweise Probleme in der Auswertung der Ergebnisse aufgrund multipler Einflussfaktoren und erzielten kontroverse Resultate (OLIVRY et al., 2001b; NESBITT et al., 2004).

Da Eicosapentaensäure und Dihomogammalinolensäure wie auch die Arachidonsäure von der Cyclooxygenase und der 5-Lipoxygenase zu Prostaglandinen und Leukotrienen umgesetzt werden, wird bei hohen Gehalten dieser beiden Fettsäuren weniger Arachidonsäure abgebaut (WRIGHT, 1991; MUELLER et al., 2004). Die Eicosanoide, die aus der Arachidonsäure hervorgehen, haben eine starke proinflammatorische Wirkung, während die von der Eicosapentaensäure und der Dihomogammalinolensäure stammenden Prostaglandine und Leukotriene weniger inflammatorisch oder sogar entzündungshemmend wirken. Dies könnte, zumindest teilweise, die Verbesserung klinischer Symptome chronischer Dermatosen durch Fettsäuresupplementierung erklären (MILLER et al., 1991; WRIGHT, 1991; GALLAI et al., 1995; MUELLER et al., 2004).

Fragen zur adäquaten Dosierung, Behandlungsdauer und dem idealen Verhältnis der Omega-3 zu Omega-6 Fettsäuren bleiben weiterhin offen (OLIVRY et al., 2001b; MUELLER et al., 2004).

Eine weitere, unter anderem für die Behandlung von Allergien interessante Wirkung der essentiellen Fettsäuren ist die Beeinflussung der zellulären und humoralen Immunantwort (HWANG, 1989; OLIVRY et al., 2001a).

2.5.5 Shampoos

Je nach vorherrschenden Symptomen der Allergie können verschiedene Shampoos von Nutzen sein. Bei Juckreiz kann ein Shampoo mit Hafermehl oder Weichmachern in Kombination mit feuchtigkeitsspendenden Spülungen oder Sprays verwendet werden. Oft sind auch Fettsäuren, Vitamine, Harnsäure, Laktat, Glycerin und Mono- und Oligosacchariden enthalten (MUELLER, 2008). Bei

schuppiger Haut oder Hyperkeratose und epidermaler Hyperplasie leisten Sulfur, Salicylsäure und Teer gute Dienste. Sie wirken keratolytisch und keratoplastisch und reduzieren damit die Seborrhoe (MUELLER, 2008). Beim Vorliegen von Sekundärinfektionen sollte ein antimikrobielles Shampoo verwendet werden (s. 1.7.3.1). Zusätzlich sind Shampoos bei der Therapie von Umweltallergien sinnvoll, um Allergene von der Haut und aus dem Fell zu waschen.

2.5.6 Nichtsteroidale Antiphlogistika

Da keiner der oben genannten Wirkstoffe und Präparate ideal zur Behandlung der atopischen Dermatitis erscheint, werden laufend neue oder andere Medikamente auf ihre antiallergische Wirkung untersucht. Unter ihnen zeigten sich Misoprostol, Zyklosporin und Pentoxifyllin erfolgreich. Zur Abschätzung der Wirksamkeit von Tacrolimus, Leukotrien-Inhibitoren, Serotonin-Inhibitoren und Capsaicin sind weitere Studien notwendig (MARSELLA & OLIVRY, 2001).

3. Sphingosine und Ceramide im Stratum corneum

3.1 Stratum corneum

Das Stratum corneum ist die äußere Schicht der Epidermis. Es hat eine wichtige Barrierefunktion und schützt vor Wasserverlust, äußeren schädlichen chemischen, mechanischen und mikrobiellen Einflüssen und teilweise auch vor ultravioletter Strahlung (ELIAS, 2007; WOLFF et al., 2008). Die Kolonisierung durch Pathogene wird durch seinen geringen Wassergehalt, den sauren pH-Wert, die physiologische Mikroflora der Haut und antimikrobielle Lipide eingedämmt (ELIAS, 2007). Die Entstehung der Hornschicht wird Keratinisierung genannt. Kornifizierung wäre ein treffenderer Ausdruck, da beim epidermalen Differenzierungsprozess aus kernhaltigen basalen Keratinozyten kernlose, das heißt leblose, Korneozyten hervorgehen (ELIAS, 1988; WOLFF et al., 2008). ELIAS etablierte 1983 das Zwei-Komponenten-System als vereinfachtes Modell des Stratum corneums. Er verglich das Stratum corneum mit einer Backsteinmauer, wobei die proteinhaltigen Korneozyten die Backsteine darstellten und die Zwischenzellsubstanz den Mörtel (ELIAS, 1983). Keratinfilamente und Proteine der kornifizierten Zellhülle erhalten die mechanische Stabilität der Korneozyten. An eines dieser Proteine, dem Involucrin, binden kovalent Ceramide, die wiederum die Anhaftung von weiteren freien Lipiden ermöglichen. Die extrazelluläre hydrophobe Matrix besteht hauptsächlich aus Lipiden, die aus den Lamellenkörperchen freigesetzt werden (ODLAND & HOLBROOK, 1981). Hiernach werden aus den polaren Lipiden enzymatisch unpolare Produkte gebildet (WOLFF et al., 2008). Vor allem Ceramide, freie Sterole und freie Fettsäuren, in geringeren Mengen auch andere unpolare Lipide und Cholesterolsulfat, aber praktisch keine Phospholipide wurden nachgewiesen (YARDLEY & SUMMERLY, 1981; ELIAS, 1988). Durch die Anordnung der Fette als Doppelmembran wird das Gewebe weitgehend wasserundurchlässig (JACKSON et al., 1993).

3.2 Vorkommen und Entstehung

Sphingolipide besitzen statt des dreiwertigen Alkohols Glycerol der Neutralfette (Triglyceride) oder der Glycerophospholipide einen langkettigen Aminoalkohol, das Sphingosin (4-Sphingenin) oder einen seiner Derivate. Neben einer Fettsäure können sie einen Phosphorsäurerest und eine stickstoffhaltige Base oder Mono-

bzw. Oligosaccharide als Bestandteile enthalten (Sphingophosphatide oder Sphingoglykolipide). Ceramide bestehen lediglich aus der Sphingoidbase und einer mit ihr an der Aminogruppe des C-2 durch eine N-Acyl-Bindung verknüpften Fettsäure unterschiedlicher Länge. Das Ceramid ist die Grundstruktur aller Sphingolipide (LEHNINGER, 2001).

Stratum-corneum-Ceramide werden hauptsächlich auf drei Wegen bereitgestellt: Durch die epidermale de-novo-Synthese aus Serin und Palmitoyl-CoA, durch die Hydrolyse von Sphingomyelin und durch die Hydrolyse von Glucosyl-Ceramid (MELNIK, 2006). Beim Hund werden durch Banden in der Dünnschichtchromatographie sieben verschiedene Ceramide unterschieden: cer1, 2, 3, 4, 5/6 und 7, wobei cer7 nochmals in zwei Banden unterteilt ist (SEGIGUCHI et al., 2003).

Freie Sphingosine entstehen in der Epidermis beim Abbau von Ceramiden. Nach der enzymatischen Abspaltung einer Fettsäure vom Stratum-corneum-Ceramid durch die saure Ceramidase bleibt seine Sphingoidbase zurück (s. Abb. II.1).

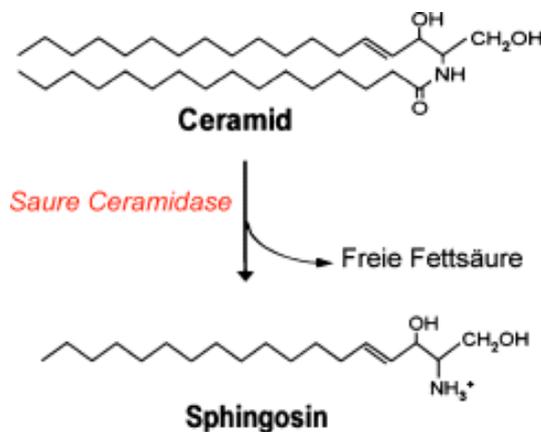


Abb. II.1 Abbau von Ceramid zu Sphingosin (modifiziert nach MELNIK, 2006)

Je nach Kettenlänge, Vorkommen und Lage von Doppelbindungen und Hydroxylgruppen werden verschiedene Hauptklassen unterschieden (MELNIK, 2006). Schon in den 1970er Jahren wurden ungefähr 60 natürliche langkettige Sphingoidbasen („Sphingosine“) beschrieben (KARLSSON, 1970; PRUETT et al., 2008). Im menschlichen Stratum corneum wurden Phytosphingosin (4-Hydroxy-Sphinganin bzw. 4-Hydroxy-Dihydrosphingosin), Sphingosin (4-

Sphingenin), Dihydroxysphingosin (Sphinganin) und 6-Hydroxy-Sphingosin (6-Hydroxy-4-Sphingenin) identifiziert. Letzteres kommt in der Schweineepidermis nicht vor (WERTZ & DOWNING, 1989; 1990; STEWART & DOWNING, 1995). Phytosphingosin liegt in der menschlichen Haut hauptsächlich in Amidbindung mit Fettsäuren in Form der Ceramide 3 und 6 vor (YILMAZ, 2005). Früher wurde angenommen, dass es nur in Pflanzen vorkommt, daher auch das Präfix Phyto-. Bisher wurde keine Studie zur quantitativen Messung der Stratum-corneum-Sphingosine bei Hunden durchgeführt.

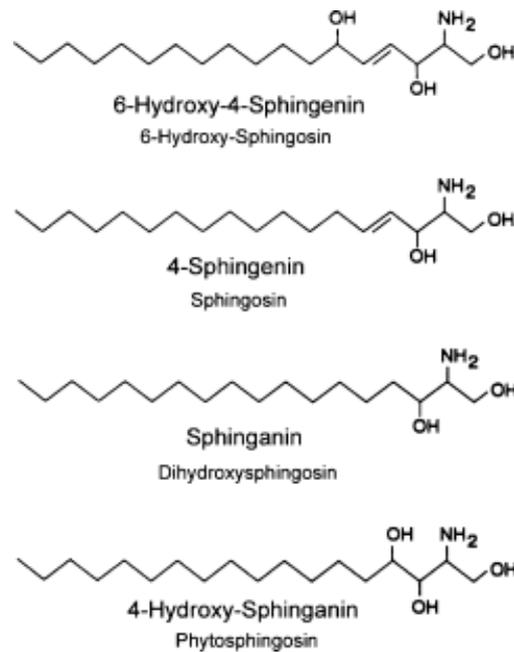


Abb. II.2 Strukturformeln verschiedener Sphingoidbasen (modifiziert nach MELNIK, 2006)

3.3 Wirkungen

Sphingosine sind unter anderem Mediatoren in Second-Messenger-Kaskaden und an einer Vielfalt von Funktionen eukaryotischer Zellen beteiligt. Ein antiproliferativer und antiinflammatorischer Effekt wurde nachgewiesen (KIM et al., 2006). Es wird sogar von einer Hemmung der Darmkrebsentwicklung und der Cholesterinabsorption berichtet (AHN & SCHROEDER, 2002; GARMY et al., 2005). Salicyloyl-Phytosphingosin wird als Anti-Ageing-Produkt getestet und bewirkte in Versuchen eine Reduktion von Gesichtsfalten (FARWICK et al., 2007). Zudem zeigen Sphingosine einen potenten antimikrobiellen Effekt und verändern die Adhärenz von Bakterien an Zellen (BIBEL et al., 1992b; 1992a; BIBEL et al., 1993; BIBEL et al., 1995; NENOFF & HAUSTEIN, 2002;

POSSEMIERS et al., 2005; FARWICK et al., 2007; PAVICIC et al., 2007).

Die Hauptfunktion der Lipide im Stratum corneum ist die Bildung der Hautbarriere. Eine Zerstörung dieser Barriere führt unter anderem zu einem gesteigerten transepidermalen Wasserverlust (JACKSON et al., 1993; SHIMADA et al., 2008). Vor allem bei einem Mangel an polarerer Lipiden, wie Ceramiden und Cholesterol, wird die Barriere massiv geschädigt (GRUBAUER et al., 1989). Auch die Wiederherstellung nach akuter Zerstörung dauert deutlich länger, wenn die Sphingolipidsynthese gehemmt wird (HOLLERAN et al., 1991).

Menschen, die an atopischer Dermatitis leiden, haben häufig gereizte und trockene Haut. Es wurde gezeigt, dass bei ihnen der Gehalt an Ceramid 1 und Ceramid 3 signifikant niedriger und der Cholesterolgehalt signifikant höher ist als bei gesunden Personen. Die Menge an Ceramid 3 korreliert mit einer Erhöhung des transepidermalen Wasserverlustes. Der Ceramidmangel spielt daher bei der Schädigung der Hautbarriere bei allergischen Patienten vermutlich eine entscheidende Rolle (DI NARDO et al., 1998). ARIKAWA und Mitarbeiter (2002) zeigten, dass zusätzlich zum verminderten Ceramidspiegel auch der Sphingosin Gehalt im Stratum corneum der Allergiker erniedrigt ist. Dies war bei gereizter und bei unbeschädigter Haut der Fall. Gleichzeitig geht der Sphingosinmangel mit einer erhöhten Anzahl von auf der Haut vorhandenen Bakterien, inklusive *S. aureus*, einher, was mit der antimikrobiellen Wirkung von Sphingosin zusammenhängen könnte (s. u.). Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Gehalten an Ceramiden, der Aktivität ihres katabolisierenden Enzyms, der sauren Ceramidase, und der Menge an Sphingosin im Stratum corneum allergischer Menschen. (ARIKAWA et al., 2002).

Bei Hunden gibt es bisher noch sehr wenige Studien zur Rolle der Stratum corneum-Lipide. Segiguchi et al. verglichen die Ceramidwerte von 20 gesunden Hunden und 13 Hunden mit atopischer Dermatitis. Sie konnten keinen signifikanten Unterschied der Gesamtgehalte feststellen. Allergische Hunde mit trockener Haut zeigten jedoch am Abdomen und am Schwanzansatz im Vergleich zu gesunden Hunden erniedrigte Werte (SEGIGUCHI et al., 2003). SHIMADA und Mitarbeiter (2008) maßen bei zehn atopischen und 30 gesunden Hunden die Ceramid-, freie Fettsäuren- und Cholesterolgehalte der Haut. Sowohl in unbeschädeter Haut als auch in Haut mit Läsionen waren die Ceramidwerte der allergischen Hunde niedriger als die der gesunden Hunde, während die Werte der

anderen Lipide nicht signifikant differierten.

Eine erhöhte Bakterienzahl auf der Haut konnte, wie beim Menschen, ebenfalls bei allergischen Hunden im Vergleich zu gesunden Hunden festgestellt werden. Die bakterielle Adhäsion an Korneozyten war bei Tieren mit atopischer Dermatitis höher als bei gesunden (SIMOU et al., 2005b; MCEWAN et al., 2006). Leider wurden in diesen Versuchen die Ceramid- und Sphingosinspiegel des Stratum corneums nicht bestimmt.

3.3.1 Antimikrobielle Wirkung

BIBEL und Mitarbeiter (1992a) verglichen verschiedene Stratum-corneum-Lipide in ihrer antimikrobiellen Aktivität *in vitro*. Unter den getesteten Lipiden zeigten sich vor allem die Sphingosine (Sphingosin, Sphinganin und Phytosphingosin) und in geringerem Maße Stearylamin als eindeutig wirksam gegen *Staphylococcus aureus*. Diese Wirkung trat gleichermaßen gegen *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus luteus*, *Propionibacterium acnes*, *Brevibacterium epidermidis* und *Canida (C.) albicans* ein. Gegen *Pseudomonas aeruginosa* konnte nur eine mäßige und gegen *Escherichia coli* und *Serratia marcescens* gar keine Aktivität festgestellt werden. In einer neueren Studie erwiesen sich neben *Escherichia coli*, *S. aureus* und *C. albicans* sogar methicillinresistente *S. aureus* als empfindlich gegenüber Phytosphingosin und Sphingosin (ROBERTSON et al., 2005).

Es wird sogar vermutet, dass Sphingosin und Sphinganin eine stärkere Hemmung des Zellwand-Turnovers aufweisen als Penicillin und Chloramphenicol (BIBEL et al., 1995).

In einem *in-vivo*-Versuch konnte durch Applikation von Sphinganin auf die Haut von Versuchspersonen ein prophylaktischer Effekt gegen *S. aureus* und *C. albicans* erzielt werden. Die später aufgetragenen Bakterien konnten in ihrer Anzahl bis zu drei Logarithmen reduziert werden. Gleichermäßen konnte eine übermäßig vermehrte Hautmikroflora durch Sphinganin wieder auf ein normales Niveau zurückgebracht werden. Behandlungsversuche mit Sphingosinsalbe und Sphinganinlösung an mit Dermatophyten oder Hefepilzen infizierten Meerschweinchen erzielten jedoch keine zufriedenstellenden Resultate (BIBEL et al., 1995).

Ein *in-vitro*-Versuch mit unterschiedlichen Phytosphingosin-Präparaten (Phytosphingosin-Base und verschiedene Phytosphingosin-Salze) zeigte, dass eine Hemmung des Wachstums von *Malassezia furfur* nur mit extrem hohen Phytosphingosin-Konzentrationen (0,63 %) zu erreichen war und dass dabei die Phytosphingosin-Base am effektivsten wirkte (NENOFF & HAUSTEIN, 2002).

Die starke antientzündliche und antimikrobielle Wirkung von Phytosphingosin wurde sowohl *in vivo* als auch *in vitro* bei Studien zur Hautpflege bei *Akne vulgaris* des Menschen gezeigt (PAVICIC et al., 2007).

Die genaue Wirkweise von Sphingosinen bleibt unklar. Da Streptokokken nach Behandlung mit Sphinganolinlösung gramnegativ werden und sich Staphylokokken in der Gramfärbung zwar noch grampositiv, aber unförmig und granuliert darstellen und nunmehr einzeln statt paarig vorliegen, scheint die Zellwand der Angriffspunkt zu sein (BIBEL et al., 1992a). Hierfür spricht ebenfalls das antimikrobielle Spektrum von Sphinganolin. Im Elektronenmikroskop zeigen mit Sphinganolin behandelte *S. aureus* multiple Läsionen der Zellwand, Membraninvaginationen und Verlust von Ribosomen. L-Formen zeigen sich sensibel auf Sphinganolin, sind jedoch etwas widerstandsfähiger. Es wird daher angenommen, dass die Schäden in der Zellwand wahrscheinlich Folgen einer bisher unbekanntenen Membranreaktion sind (BIBEL et al., 1993).

Auch die Adhäsion von Kokken an Zellen wird von Sphinganolin beeinflusst. Werden *S. aureus* und *Streptococcus mitis* mit Sphinganolin vorbehandelt, so adhären sie in geringerem Maße an Zellen der Nasenschleimhaut und an Backenepithelien. Interessanterweise ist das Gegenteil der Fall, wenn die Backenepithelzellen vorher mit einer Sphinganolinlösung bestimmter Konzentration inkubiert werden: die Streptokokken adhären hiernach vermehrt (BIBEL et al., 1992b). Die Hemmung einer bakteriellen Proteinkinase wird vermutet (BIBEL et al., 1992a; 1995). Ähnliche Versuche mit Phytosphingosinen stehen noch aus.

3.4 Präparate / Therapeutischer Einsatz

Verschiedene Phytosphingosin-enthaltende Präparate kamen kürzlich auf den Markt. So sind beispielsweise Shampoos zur Anwendung bei Seborrhoe oder mit antimikrobieller Wirkung erhältlich.

In einer vor kurzem durchgeführten Studie zeigten sich ein Phytosphingosin-

enthaltendes Shampoo und Spray wirksam in der Linderung allergisch bedingter Symptome von Hunden (BOURDEAU et al., 2007).

III MATERIAL UND METHODEN

1. Material

1.1 Patienten

In die Studie wurden zehn Hunde aufgenommen: fünf gesunde Hunde, die sowohl beim Vorbericht als auch bei der klinischen Untersuchung ohne dermatologische Auffälligkeiten blieben und fünf Hunde, die durch Anamnese, klinische Untersuchung und Ausschluss von Differentialdiagnosen als umweltallergisch diagnostiziert worden waren. Die Hunde durften mindestens sechs Wochen vor Beginn der Studie keine Antibiotika mehr erhalten haben und im gleichen Zeitraum auch nicht mit Phytosphingosin-Präparaten oder antimikrobiellen Shampoos behandelt worden sein. Shampoos ohne antimikrobielle Wirkung waren bis zu drei Tage vor Studienbeginn erlaubt. Bei der Auswahl der Hunde wurden Geschlecht, Alter, Rasse, Gewicht oder Fellbeschaffenheit nicht berücksichtigt.

Tabelle III.1 Hunde der Studie

Nummer	Rasse	Geschlecht	Alter [Jahre]	Felllänge	Allergisch/ Gesund
1	Golden Retriever	WK	11	lang	AD
2	Mischling	W	10	kurz	AD
3	Mischling	WK	9	kurz	AD
4	Mischling	WK	7	kurz	AD
5	Weißer Schäferhund	WK	2	lang	AD
6	Berner Sennenhund	M	3	lang	G
7	Mischling	M	1	lang	G
8	Chihuahua	WK	9	lang	G
9	Groenendael	WK	2	lang	G
10	Australian Cattle Dog	W	1	kurz	G

W = weiblich, M = männlich, WK = weiblich kastriert, AD = allergisch, G = gesund

1.2 Shampoos

Die Hunde wurden mit zwei unterschiedlichen Shampoos gebadet (s. Abb. III.1):

- Ein Shampoo enthielt keinen antimikrobiellen Wirkstoff (Dermazyme[®] Losham[™], CEVA Tiergesundheit, Düsseldorf, Deutschland). Die Inhaltsstoffe waren die Losham Base, Parafinum Liquidum, PGE-7-Glycerylcocoat, Oleum lini, Phenonip, und alpha-Tocopherol. Dieses Shampoo wird fortan Placebo genannt werden.

- Das andere Shampoo mit zwei antimikrobiellen Wirkstoffen war das in dieser Studie evaluierte Chlorhexidin-Phytosphingosin Shampoo (Douxo® Chlorhexidine PS, Sogeval, Laval, France). Es enthält 0,05% Phytosphingosin-Salicyloyl, 3% Chlorhexidin, oberflächenaktive Substanzen, 2,5% Lipacid®, C8G und einen Duftstoff nach grünem Tee.



Abb. III.1 Die beiden in der Studie verwendeten Shampoos

1.3 Bakterien

In der vorliegenden Studie wurde ein *S. pseudintermedius*-Stamm verwendet. Früher wurde *S. intermedius* als Haupterreger caniner Pyodermien betrachtet (IHRKE, 1987; HILL & MORIELLO, 1994; LLOYD, 1996; CRAIG, 1998). Neuere Studien zeigen jedoch, dass es sich dabei meist um *S. pseudintermedius* handelt (FITZGERALD, 2008). Die Spezies wurde im Jahr 2005 entdeckt, ist mit *S. intermedius* phylogenetisch nah verwandt und wird mit diesem in der Routinediagnostik häufig verwechselt (DEVRIESE et al., 2005). 2007 wurde in einer auf genetischen Untersuchungen basierten Studie gezeigt, dass alle aus Hunden isolierten Stämme der *S. intermedius*-Gruppe (SIG) tatsächlich *S. pseudintermedius* darstellten, was eine Reklassifizierung zur Folge hatte (SASAKI et al., 2007). Der Stamm wurde nach Verfügbarkeit im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München gewählt. Es handelte sich um ein Isolat aus einer Analbeutelentzündung eines achtjährigen, weiblichen Tibet-Terriers. Die Bakterien wurden durch die charakteristischen

kulturellen Eigenschaften der Kolonien, durch biochemische Untersuchungen sowie durch einen zusätzlichen Test auf das Vorhandensein einer Arginindihydrolase (ADH) identifiziert. Die Staphylokokken zeigten sich im Resistenztest sensibel gegenüber allen getesteten Antibiotika (Doxycyclin, Sulfonamid mit Trimethoprim, Amoxicillin mit Clavulansäure, Cephalothin, Cefovecin, Nitrofurantoin, Enrofloxacin, Gentamicin). Sie wurden auf Nähragar und in einem Flüssigmedium subkultiviert (s. Abb. III.2). Die Asservierung für einen längeren Zeitraum erfolgte mittels Glycerin bei -70 Grad Celsius (°C) in einem Verhältnis von 870 Mikroliter (µl) Bakteriensuspension zu 130 µl Glycerin.



Abb. III.2 Kolonien von *S. pseudintermedius*

2. Methoden

2.1 Intervention

Alle Hunde wurden viermal in Folge einmal wöchentlich gebadet. In der Badewanne wurde ihr Fell mit lauwarmem Leitungswasser gut durchnässt, auf einer Körperseite mit dem Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo und auf der anderen Seite mit dem Placebo-Shampoo eingeschäumt. Die jeweilige Körperseite blieb bei den darauffolgenden Shampoovorgängen für jeden Hund dieselbe, wurde jedoch bei den verschiedenen Hunden alternierend gewählt. Beim ersten Hund wurde das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo links und das Placebo-Shampoo rechts aufgetragen, beim nächsten Hund umgekehrt und so weiter. Es wurde soviel Shampoo in das Fell einmassiert, bis Schaumbildung eintrat. Dies entsprach bei kurzhaarigen Hunden circa einem Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht (ml/kg KM) bei langhaarigen Hunden für das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo circa 2 ml/kg KM. Vom Placebo-Shampoo wurde jeweils nur etwa die Hälfte der Menge benötigt. Sobald der Hund vollständig eingeschäumt war, wurde eine Stoppuhr auf zehn Minuten (min) gestellt. Diese Zeitspanne entsprach der Einwirkzeit der Shampoos. Nach Ablauf dieser 10 min wurden die Shampoos wieder komplett ausgespült, was weitere circa 10 min in Anspruch nahm. Daraufhin wurden die Hunde zuerst mit Handtüchern und danach mit einem Föhn getrocknet.

2.2 Gewinnung der Hautzellen / Probennahme

Von jedem Hund wurden Korneozyten direkt vor Beginn der ersten Behandlung sowie einen Tag und fünf Tage nach dem letzten Shampoo-Durchgang gewonnen.

Somit ergab sich folgender Zeitplan:

- 1. Woche, Tag 0: 1. Probennahme und anschließend 1. Behandlung
- 2. Woche, Tag 7: 2. Behandlung
- 3. Woche, Tag 14: 3. Behandlung
- 4. Woche, Tag 21: 4. Behandlung
- 4. Woche, Tag 22: 2. Probennahme
- 4. Woche, Tag 26: 3. Probennahme

Eine jeweils circa zwei mal zwei Quadratcentimeter (cm²) große Stelle wurde an den Innenseiten beider Pinnae und beidseits inguinal rasiert. Nur Hautstellen ohne Läsionen wurden ausgewählt. Inguinal wurde eine Hautfalte an der zu beprobenden Stelle gebildet, um besseren Gegendruck ausüben und so vergleichbar viele Korneozyten gewinnen zu können wie an den Pinnae (s. 2.4). Die Hautzellen wurden mit speziellen Klebeplättchen aufgenommen. Diese im Durchmesser 14 mm großen Plättchen wurden für das Gewinnen von menschlichen Korneozyten entwickelt. Sie wurden in einer vor kurzem veröffentlichten Studie für den Erhalt von caninen und felinen Hautzellen verwendet (LU & MCEWAN, 2007). Zur einfacheren Bearbeitung der Proben wurden die Klebeplättchen mit der klebenden Seite nach oben auf einen Objektträger geklebt. Hierfür wurde ein nicht-zytotoxischer Gewebekleber verwendet. Ein Objektträger mit Klebeplättchen wurde auf die entsprechende Hautstelle gelegt, für fünf Sekunden (s) leicht angepresst und anschließend zusammen mit den adhärenierenden Korneozyten vorsichtig wieder abgezogen. Das erste Plättchen diente zur Evaluierung, wieviele Bakterien der Hund selbst auf der Haut trug. Es wird nachfolgend oberflächliches Plättchen genannt. Auf dieses Plättchen folgend wurde der Oberflächen-Detritus durch drei nacheinander auf dieselbe Stelle aufgedrückte Tesafilmstreifen entfernt. Die optimale Anzahl der Tesafilmstreifen und D-squames[®] wurden in einer Pilotstudie bestimmt. Nach diesen Tesafilmstreifen wurden drei weitere D-squames[®] auf dieselbe Weise wie das erste Plättchen aufgedrückt und wieder entnommen. Diese Plättchen werden in der Arbeit als erstes, zweites und drittes Plättchen bezeichnet. Von jeder Körperstelle wurden folglich vier D-squame[®]-Plättchen mit Korneozyten gewonnen.

2.3 Laborversuch / Adhäsionsstudie

Bei Bedarf, das heißt immer am Tag vor der Gewinnung der Hautzellen, wurden die Bakterien auf frischen Nähragar überimpft und bei 37 °C über 24 Stunden (h) inkubiert. Nach Ablauf der 24 h wurden Staphylokokkenkolonien in ein Zentrifugenröhrchen mit steriler phosphatgepufferter Kochsalzlösung („phosphate-buffered saline“, PBS) ohne Ca/Mg überführt und 30 s gevortext. Ein McFarland-Standard von circa 1,5 wurde eingestellt. Danach wurde das Röhrchen bei 4 °C und 4000 Umdrehungen pro Minute (U/min) für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen, auf das Pellet erneut PBS gegeben und 30 s

gevortext. Die Suspension wurde auf eine optische Dichte von 0,15 bei einer Wellenlänge von 570 Nanometern (nm) (OD_{570}) eingestellt. Hierbei wurde eine Abweichung von +/- 0,04 akzeptiert. Die Anzahl der Bakterien in einer Suspension mit einer optische Dichte von 0,15 bei einer Wellenlänge von 570 nm entsprach in den durchgeführten Vorversuchen circa $9,8 \times 10^7$ koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KBE/ml).

Die Objektträger mit den am selben Tag gewonnenen Hautzellen wurden mit der D-squame[®]-Seite nach oben flach auf Ständer in Plastikdosen gelegt. Die Klebeplättchen wurden mit einem wasserabweisenden Stift umrandet. Je 300 µl der Bakteriensuspension wurden auf die Korneozytenschicht der drei aufeinanderfolgend genommenen Plättchen pipettiert, wobei sich ein großer Flüssigkeitstropfen auf den Plättchen bildete. Bei 37 °C wurden die so beladenen Plättchen für 45 min in der verschlossenen Plastikdose inkubiert (s. Abb. III.3). Nach der Inkubation wurden sie mit destilliertem Wasser abgespritzt. Mit einer Spritzwasserflasche wurde aus circa fünf Zentimeter (cm) Abstand dreimal mäanderförmig über das Plättchen gespritzt. Danach wurden die Objektträger für 3 min in Methylenblau gefärbt und anschließend noch einmal in derselben Weise abgespritzt, um die restliche Färbelösung zu entfernen. Nach dem Abspülen wurden die Plättchen luftgetrocknet.

Unbenutzte Plättchen, die vor dem ersten und nach dem letzten Färbevorgang 3 min in Methylenblau getaucht und danach abgespült wurden, wurden auf adhärierende Bakterien untersucht und dienten als Kontrolle. Zur Untersuchung der Reinheit der Bakteriensuspension wurde bei jedem Versuch ein Dreiösenausstrich der Suspension auf Blutagar angefertigt und am darauffolgenden Tag nach Inkubation begutachtet.

Aus der Bakteriensuspension wurde zusätzlich eine Verdünnungsreihe in den Stufen 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-5} und 10^{-6} hergestellt. Von jeder Verdünnungsstufe wurde ein Tropfen (10 ml) auf eine Nähragarplatte aufgebracht. Nach einer Inkubation bei 37 °C über 18 h wurde die Anzahl der gewachsenen Kolonien bestimmt und die Konzentration der verwendeten Staphylokokkensuspension errechnet. Der Mittelwert der Suspensionskonzentration aller Versuche lag bei $5,0 \times 10^7$ KBE/ml ($1,8 \times 10^7$ - $1,1 \times 10^8$). Dieser Wert ist etwas niedriger als der bei den Vorversuchen ermittelte Wert. In den endgültigen Versuchen waren jedoch die Schwankungen in den optischen Dichten der Bakteriensuspension geringer, und es lagen mehr

Messergebnisse vor. Es ist daher anzunehmen, dass der hier genannte Mittelwert korrekter ist.

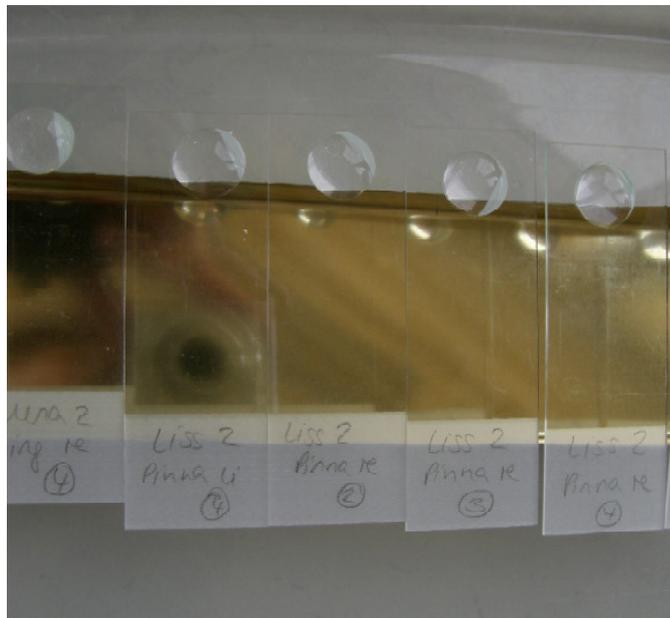


Abb. III.3 Mit Bakteriensuspension bedeckte D-squames[®]

2.4 Pilotstudien

2.4.1 Anzahl der Tesafilmstreifen

Die erste Pilotstudie diente zur Bestimmung der Anzahl der zu verwendenden Tesafilmstreifen. Klebeplättchen wurden bei vier Hunden von den Pfoten, den Ohrmuscheln und der Inguinalregion genommen. Zunächst wurde ein Klebeplättchen gefolgt von einem Tesastreifen und darauffolgend drei Klebeplättchen aufgedrückt, danach wurde der gleiche Versuch mit zwei, drei, vier, fünf sowie ohne Tesastreifen durchgeführt. Die Plättchen wurden mit Methylenblau gefärbt und die Prozentzahl der mit Korneozyten bedeckten Oberfläche in fünf zufällig ausgewählten Gesichtsfeldern am Mikroskop gezählt. Beruhend auf dieser Pilotstudie und der Menge des störenden Oberflächen-Detritus wurde die Anzahl der anzuwendenden Tesafilmstreifen auf drei bestimmt.

2.4.2 Aufpressen der Plättchen

Daraufhin wurde untersucht, ob der Korneozytengewinn dadurch verbessert werden kann, dass jedes der drei nacheinander aufgedrückten D-squame[®]-

Plättchen jeweils nochmals dreimal aufgedrückt wird. Dies erwies sich jedoch als ungünstig, da daraus mehr Unterschiede in der Korneozytendichte zwischen der Inguinalgegend (54 % der Oberfläche mit Korneozyten bedeckt) und den Pinnac (72 % der Oberfläche mit Korneozyten bedeckt) entstanden. Wenn in der Inguinalgegend eine Hautfalte gebildet wurde, um besseren Gegendruck ausüben zu können, war beim einmaligen Aufpressen die Bedeckung der Plättchenoberfläche mit jeweils 62 % in der Inguinalgegend und an den Ohrmuscheln genau gleich.

2.4.3 Inkubation der Plättchen mit Staphylokokkensuspension

Zu Beginn scheiterte der Versuch daran, dass die auf den Plättchen gebildeten Tropfen aus 300 µl Bakteriensuspension während der 45-minütigen Inkubation in einer feuchten Kammer immer wieder zerliefen. Eine Inkubation der Objektträger mit Klebeplättchen in einer mit Staphylokokkensuspension gefüllten Wanne war nicht zufriedenstellend, da die Bakterien sehr ungleich an den Klebeplättchen anhafteten. Daraufhin wurden die Plättchen auf den Objektträgern vor dem Beladen mit Bakteriensuspension mit einem wasserabweisenden Stift umrandet. Einige Tropfen zerliefen allerdings auch mit dieser Methode. Wenn die mit dem Stift umrandeten und beladenen Klebeplättchen auf ihrem Ständer zwar in einer Plastikdose mit Deckel, allerdings ohne feuchtes Tuch auf dem Dosenboden, in den Brutschrank gestellt wurden, waren nach 45 min alle Tropfen noch intakt.

2.4.4 Abspülen der Plättchen

Verschiedene Methoden zum Abspülen der Bakteriensuspension und der Färbelösung von den Plättchen wurden evaluiert. Der Versuch, die Plättchen in einem Behälter mit destilliertem Wasser zu schwenken, resultierte in sehr ungleich verteilten Bakterien und teilweiser Ablösung der Korneozyten. Die Anwendung einer Spritzwasserflasche aus circa 5 cm Entfernung verbesserte die Ergebnisse. Die Plättchen wurden mäanderförmig unterschiedlich oft abgespült und alle Variationen vom ein- bis dreimaligen Abspülen sowohl der Bakteriensuspension als auch der Färbelösung durchgespielt.

Die Vorgehensweise mit dreimaligem Abspritzen der Bakteriensuspension und einmaligem Abspülen der Färbelösung lieferte die regelmäßigste Verteilung der Staphylokokken und der Färbelösung auf den Plättchen.

2.5 Auswertung am Mikroskop

Alle gesammelten D-squames[®] mit Korneozyten und adhärierenden Bakterien wurden unter dem Mikroskop ausgewertet. Pro Hund und Probennahme waren dies 16 Plättchen, nämlich von jeweils vier Körperstellen je vier Plättchen. Das erste Plättchen diente zur Ermittlung von an der Haut haftenden oberflächlichen Bakterien. Nachdem die Haut mit Tesafilmstreifen vom Detritus gereinigt war, wurden für den Adhäsionsnachweis drei weitere Plättchenproben genommen. Da zehn Hunde an der Studie teilnahmen und pro Hund drei Probennahmen durchgeführt wurden, wurden insgesamt 480 D-squames[®] bearbeitet. Die Korneozyten und Bakterien wurden in einer tausendfachen Vergrößerung betrachtet. Auf das Okular war ein spezielles Mikrometer-Raster aufgebracht. Die Staphylokokken, die innerhalb der Fläche des Rasters an die Korneozyten adhärirt hatten, wurden gezählt. Bakterien, die auf der linken und oberen Begrenzungslinie lagen, wurden mitgezählt, Kokken auf der rechten und unteren Linie nicht berücksichtigt. Von jedem D-squame[®] wurden fünf Flächen mit konfluierenden Korneozyten gezählt, insgesamt also 2400 Flächen. Begonnen wurde im Zentrum des Plättchens. Danach wurden von dort ausgehend sternförmig nach oben, nach links, nach unten und nach rechts die anderen Felder gezählt. Das erste Gesichtsfeld in der betreffenden Richtung wurde jeweils ausgelassen, um sicher zu gehen, dass kein Bakterium doppelt gezählt wurde. War das zweite Gesichtsfeld nicht vollständig mit konfluierenden Korneozyten bedeckt, wurde in der jeweiligen Richtung weitergefahren, bis ein vollkommen von Hautzellen bedecktes Feld erschien und dann dieses ausgezählt. Vor Auszählung eines Feldes in einer anderen Richtung wurde immer der Ausgangspunkt im Zentrum wieder aufgesucht.

Als Kokken wurden runde, gleichmäßig blaue und ca. 1 µm große Organismen definiert (s. Abb. III.4). Die endgültige Anzahl der adhärirten Bakterien pro Plättchen wurde durch den Durchschnittswert der fünf ausgewerteten Flächen bestimmt.

Während des Auszählungsprozesses war der auswertenden Person nicht bekannt, von welchem Hund und von welcher Probennahme die D-squames[®] stammten.

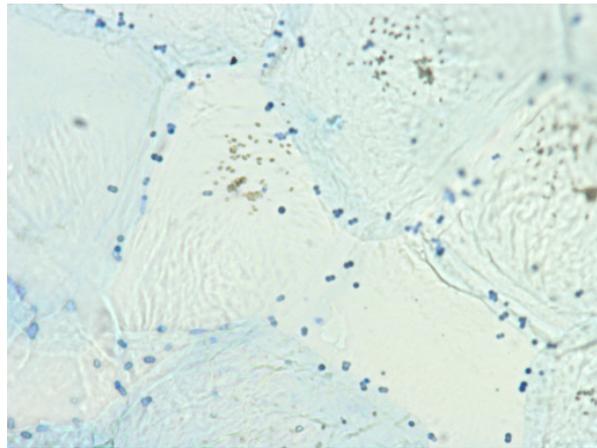


Abb. III.4 Kokken auf Korneozyten

2.6 Statistische Auswertung

2.6.1 Oberflächliche Bakterien

Um die auf dem Hund schon vorhandenen Bakterien der oberflächlichen D-squames[®] in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu vergleichen, wurde bei Atopikern und gesunden Hunden ein gepaarter T-Test ausgeführt. Für nichtparametrische Daten wurde ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test gewählt. Hierbei wurde klar, dass die Probenergebnisse der beiden Körperstellen nicht gruppiert werden konnten.

Deshalb wurde die Zahl der oberflächlichen Bakterien zwischen den Stellen, die mit antimikrobiellem und mit Placebo-Shampoo behandelt worden waren, jeweils für die Inguinalgegend und für die Pinnae bei beiden Hundegruppen nach der oben genannten Methode gesondert verglichen. Dies erfolgte daraufhin für alle Probenahmezeitpunkte. Dabei wurde für parametrische Daten eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen, für nichtparametrische Daten ein Friedman-Test durchgeführt. Multiple paarweise Vergleiche nach nichtparametrischen Tests wurden mit der Dunn-Methode durchgeführt.

Der Vergleich der Bakterienzahlen zwischen allergischen und gesunden Hunden erfolgte per Varianzanalyse bzw. per Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Dunn-Post-Test.

Danach wurden die Unterschiede der oberflächlichen Bakterienzahlen zwischen den verschiedenen Probenahmeterminen untersucht. Hierbei wurden nicht die

Unterschiede zwischen dem Placebo- und dem Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo untersucht, sondern für das jeweilige Präparat die Bakterienzahlen vor der Behandlung und einen bzw. fünf Tage nach der letzten Behandlung verglichen. Für parametrische Daten wurde eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen, für nichtparametrische Daten ein Friedman-Test mit Dunn-Post-Test verwendet.

2.6.2 Nach Inkubation adhärierte Bakterien

Die Staphylokokken-Adhäsion an die drei nacheinander genommenen D-squames[®] je einer Körperstelle wurden per Varianzanalyse mit Messwiederholungen oder für nichtparametrische Daten per Friedmann-Test untereinander verglichen.

Der Vergleich der Anzahl adhärierter Bakterien zwischen den Pinnae und der Inguinalgegend wurde wie bereits bei den Bakterien der Hautoberfläche per Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt.

Die Bakterienzahlen zwischen den Körperstellen, die mit antimikrobiellem und mit Placebo-Shampoo behandelt worden waren, wurden auch hier per Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Post-Test ermittelt. Die Staphylokokkenzahlen bei gesunden und allergischen Hunden wurden mit einem Kruskal-Wallis-Test und Dunn-Post-Test verglichen.

Zum Vergleich der Bakterienzahlen an den drei Probenahmezeitpunkten (d.h. vor Behandlung und einen bzw. fünf Tage nach Behandlung mit Chlorhexidin-Phytosphingosin- bzw. Placebo-Shampoo) bei den beiden Gruppen und Körperstellen, wurde für parametrische Daten eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen und für nichtparametrische Daten ein Friedman-Test in Kombination mit einem Dunn-Post-Test angefertigt (s. o.).

Zusätzlich wurden sowohl für die oberflächlichen als auch für die drei inkubierten D-squames[®] die Differenz der Bakterienzahlen zwischen den verschiedenen Probenahmeterminen jeweils einzeln für das Placebo- und das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo errechnet. Diese Differenzen wurden daraufhin miteinander (Placebo- mit Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo) mittels eines Mann-Whitney-U-Tests verglichen.

Ein Wert von $P < 0,05$ wurde bei allen Tests als signifikant festgelegt.

IV ERGEBNISSE

1. Bakterien auf der Hautoberfläche

Vor der Behandlung wurde die Zahl der auf der Hautoberfläche bereits vorhandenen kokkenförmigen Bakterien von sich entsprechenden Körperseiten und -stellen verglichen. Dabei war kein signifikanter Unterschied zwischen den später mit Placebo- bzw. mit antimikrobiellem Shampoo behandelten Stellen der Inguinalgegend und der Pinnae festzustellen (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $P = 0,402$). Eine Signifikanz war jedoch beim Vergleich der Bakterienzahlen in der Leistengegend und auf den inneren Ohrmuscheln zu erkennen. Inguinal war die Bakterienzahl vor der Shampoobehandlung deutlich geringer als an den Pinnae. Dies war sowohl in der Gruppe der allergischen als auch in der Gruppe der gesunden Hunde der Fall (s. Tabelle IV.1 sowie Abb. IV.1 und Abb. IV.2) (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $P = 0,046$ und $P = 0,0006$). Die Daten der Inguinalgegend und der Pinnae konnten folglich nicht zusammengefasst ausgewertet werden.

Beim Vergleich der oberflächlichen Bakterienzahlen zwischen atopischen und gesunden Hunden konnte kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Tabelle IV.1 Anzahl der auf der Hautoberfläche bereits vorhandenen kokkenförmigen Bakterien vor der Behandlung

Gruppe	Körperregion	Mittelwert \pm Standardabweichung	95% Konfidenzintervall
Gesunde Hunde	Inguinal	1.7 \pm 1.36	1.31 – 2.09
	Pinnae	3.0 \pm 2.12	2.4 – 3.6
Allergische Hunde	Inguinal	2.04 \pm 1.64	1.57 – 2.51
	Pinnae	2.68 \pm 1.62	2.22 – 3.14

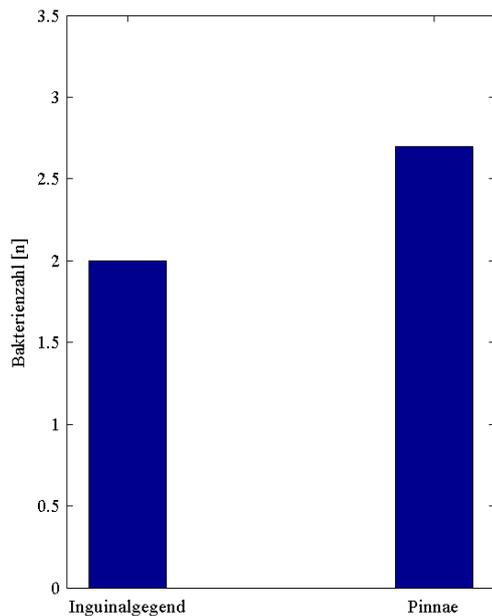


Abb. IV.1 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche in der Inguinalgegend und an den Pinnae bei allergischen Hunden vor der Behandlung

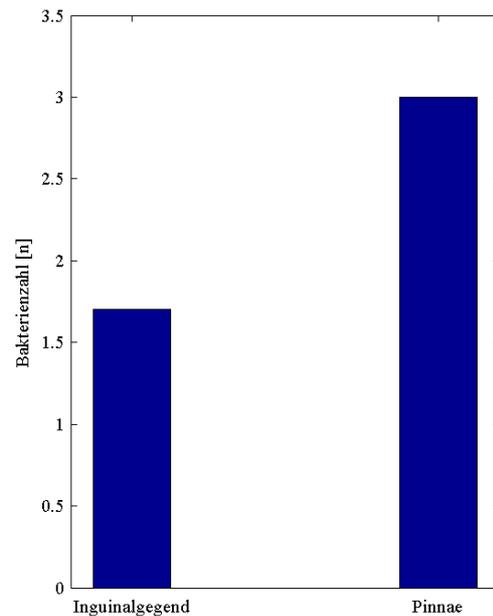


Abb. IV.2 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche in der Inguinalgegend und an den Pinnae bei gesunden Hunden vor der Behandlung

Auch für die beiden folgenden Probenahmezeitpunkte, am Tag 22 und Tag 26, wurden die sich entsprechenden Körperstellen, die mit therapeutischem bzw. mit Placebo-Shampoo behandelt worden waren, miteinander verglichen. Für alle Zeitpunkte, Gruppen und Körperareale ergab sich kein signifikanter Unterschied der Bakterienzahlen (Friedman-Test mit Dunn-Post-Test, s. Tabelle IV.2).

Verglichen wurde ebenfalls die Entwicklung der Bakterienzahlen für jede untersuchte Körperstelle der allergischen und gesunden Hunde (Tag 0 und Tag 22, Tag 0 und Tag 26, Tag 22 und Tag 26). Dabei fiel auf, dass das wöchentliche Shampooieren die oberflächliche Bakterienanzahl bei beiden Gruppen inguinal sowie an den Ohrmuscheln verminderte. Diese Reduktion trat sowohl bei der Behandlung mit Placebo als auch mit Chlorhexidin-Phytosphingosin auf und hielt über mindestens fünf Tage nach Ende der Therapie an (s. Abb. IV.3 und Abb. IV.4). Eine statistisch relevante Reduktion zeigte sich dabei bei den allergischen Hunden an beiden mit Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo behandelten Stellen sowohl für den Vergleich zwischen Tag 0 und Tag 22 als auch zwischen Tag 0 und Tag 26 (inguinal $P < 0,05$ und $P < 0,01$; Pinnae $P < 0,05$ für beide

Zeitpunkte) sowie an den mit Placebo shamponierten Pinnae nur für den Vergleich zwischen Studienbeginn und Tag 22 ($P < 0,001$). Bei gesunden Hunden war die Verminderung statistisch signifikant für das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo an den Ohrmuscheln zwischen Tag 0 und Tag 26 ($P < 0,05$), für das Placebo-Shampoo inguinal nur zwischen Tag 0 und Tag 22 ($P < 0,05$) sowie an den Pinnae zwischen Tag 0 und Tag 22 ($P < 0,05$) bzw. Tag 26 (Friedman-Test mit Dunn-Post-Test, $P < 0,01$).

Beim Vergleich der Differenzen der Werte vor und nach der Behandlung zusätzlich zum Vergleich der einzelnen Werte wurden die Änderungen der Bakterienzahlen zwischen den Besuchen betrachtet. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Placebo- und Shampootherapie festgestellt werden (Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle IV.2 Bakterienanzahl auf der Hautoberfläche von gesunden und allergischen Hunden im Verlauf der Studie

Gruppe	Körperregion	Shampoo	Tag 0	Tag 22	Tag 26
			MW ± SA (95% KI)	MW ± SA (95% KI)	MW ± SA (95% KI)
Gesunde Hunde	Inguinal	T	1.6 ± 1.2 (1.1 – 2.1)	1.5 ± 1.4 (1.0 – 2.1)	1.3 ± 1.2 (0.8 – 1.8)
		P	1.8 ± 1.5 (1.2 – 2.4)	0.8 ± 1.2 (0.4 – 1.3)	1.0 ± 1.0 (0.6 – 1.4)
	Pinnae	T	2.8 ± 1.9 (2.0 – 3.6)	1.8 ± 1.2 (1.3 – 2.3)	1.6 ± 1.3 (1.1 – 2.1)
		P	3.2 ± 2.3 (2.2 – 4.2)	1.6 ± 1.0 (1.2 – 2.0)	1.4 ± 1.1 (0.9 – 1.8)
Allergische Hunde	Inguinal	T	2.3 ± 1.8 (1.6 – 3.0)	1.1 ± 0.9 (0.7 – 1.4)	1.0 ± 1.2 (0.5 – 1.5)
		P	1.8 ± 1.5 (1.2 – 2.4)	1.2 ± 1.1 (0.9 – 1.9)	1.0 ± 0.8 (0.6 – 1.3)
	Pinnae	T	2.5 ± 1.5 (1.9 – 3.1)	1.4 ± 1.3 (0.9 – 1.9)	1.3 ± 1.2 (0.7 ± 1.8)
		P	2.8 ± 1.7 (2.1 – 3.6)	0.8 ± 0.8 (0.5 – 1.1)	1.8 ± 1.5 (1.1 – 2.4)

MW = Mittelwert, SA = Standardabweichung, KI = Konfidenzintervall,
T = Therapie (Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo), P = Placebo (Placebo-Shampoo)

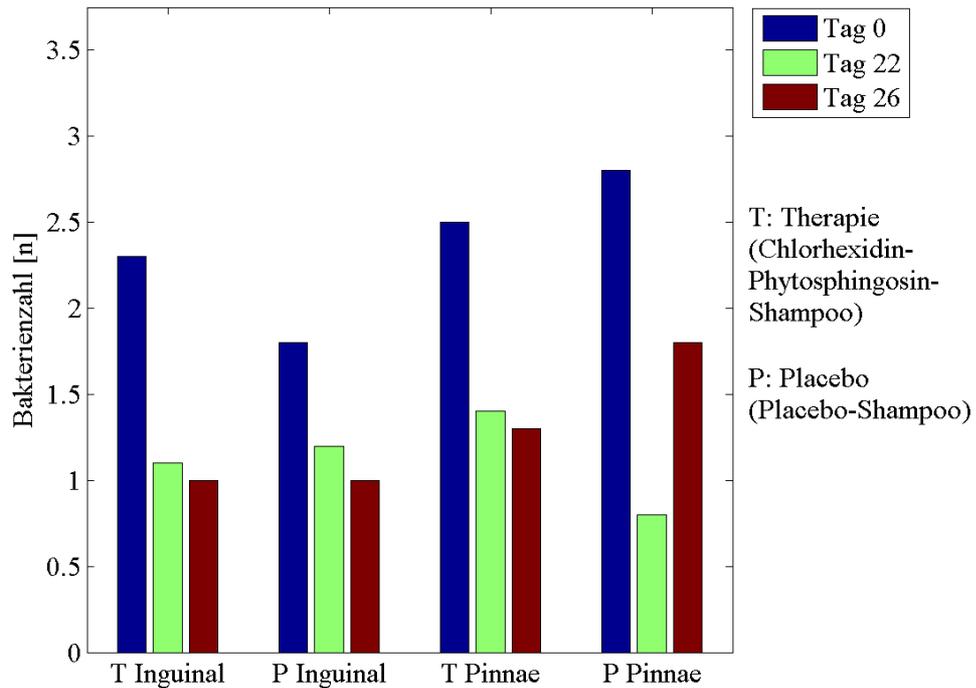


Abb. IV.3 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche von allergischen Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten

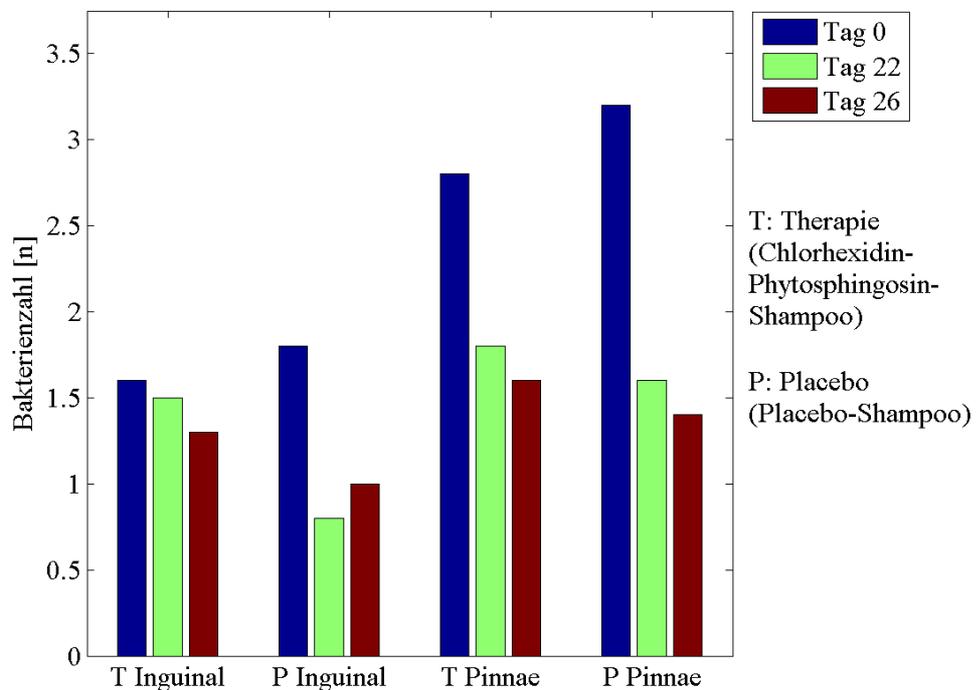


Abb. IV.4 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche von gesunden Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten

2. Bakterielle Adhäsion an Hautzellen nach Inkubation

Die drei an jeweils derselben Körperstelle aufeinanderfolgend genommenen Klebeplättchen wurden mittels Friedman-Test untereinander verglichen. Mit Ausnahme der Pinnae von atopischen Hunden bestand kein statistisch relevanter Unterschied der Bakterienzahlen zwischen den drei Proben. An den Ohrmuscheln der allergischen Hunde adhärten an den letzten D-squame[®] signifikant weniger Bakterien als am ersten oder am zweiten Plättchen (Friedman-Test, $P = 0,0002$).

Beim Vergleich der Anzahl von adhärten Bakterien vor der Behandlung mit der Anzahl einen und fünf Tage nach der Behandlung fiel auf, dass die Bakterienzahl vom Tag 0 auf den Tag 22 bzw. auf den Tag 26 in allen Vergleichen zunahm. Von Tag 22 auf Tag 26 sank die bakterielle Adhäsion wieder ab, sie blieb jedoch noch über derjenigen des Ausgangsniveaus. (s. Tabelle IV.3 sowie Abb. IV.5 und Abb. IV.6). Statistisch signifikant war die Zunahme der Kokken bei den gesunden Hunden für beide Shampoos und beide Körperstellen zwischen Tag 0 und Tag 22 bzw. Tag 26 (jeweils $P < 0,001$). Bei den Allergikern war die Relevanz uneinheitlich. Sie war nur gegeben für die inguinale Placebobehandlung zwischen Tag 0 und Tag 22 bzw. 26 ($P < 0,001$), für die inguinale antimikrobielle Behandlung zwischen Tag 0 und 22 ($P < 0,001$) sowie für die antimikrobielle Behandlung der Pinnae zwischen Tag 0 und 22 (Friedman-Test mit Dunn-Post-Test, $P < 0,001$).

Die einzige signifikante Reduktion der Staphylokokkenzahlen zwischen zweitem und drittem Probenahmetermin (Tag 22 und Tag 26) war in der mit Chlorhexidin-Phytosphingosin shampooierten Leistengegend allergischer Hunde (Friedman-Test mit Dunn-Post-Test, $P < 0,001$).

Die Unterschiede in der Anzahl adhärter Bakterien waren beim Vergleich zwischen den Ohrmuscheln und der Leistengegend nicht statistisch signifikant. Zwischen den Bakterienzahlen der mit medizinischem bzw. Placebo-Shampoo behandelten Stellen bestand bei nahezu allen Probenahmeterminen und bei beiden Hundegruppen kein signifikanter Unterschied. Nur in der Leistengegend allergischer Hunde adhärten am Tag 26 signifikant weniger Bakterien an den mit antimikrobiellen Shampoo behandelten Korneozyten (Friedman-Test mit Dunn-Post-Test, $P < 0,01$). Entsprechendes gilt für den Tag 0 an den Ohrmuscheln der Allergiker ($P < 0,05$).

Auch beim Vergleich der Staphylokokkenzahlen zwischen atopischen und gesunden Hunden ließ sich mit einer Ausnahme keine Signifikanz feststellen. An den Ohrmuscheln war vor Beginn der Studie die bakterielle Adhäsion bei den allergischen Hunden signifikant höher als bei den gesunden Hunden (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn-Post-Test, $P < 0,01$).

Im Mann-Whitney-U-Test war beim Vergleich der Differenzen der Bakterienzahlen zwischen den verschiedenen Zeitpunkten für mit Placebo- und Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo behandelte Stellen meist kein statistisch relevanter Unterschied zu erkennen (Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle IV.3 Anzahl adhärierter Bakterien nach der Inkubation mit Staphylokokkensuspension von Korneozyten gesunder und allergischer Hunde im Verlauf der Studie

Gruppe	Körperregion	Shampoo	Tag 0	Tag 22	Tag 26
			MW ± SA (95% KI)	MW ± SA (95% KI)	MW ± SA (95% KI)
Gesunde Hunde	Inguinal	T	105 ± 57 (92 – 118)	224 ± 92 (203 – 246)	213 ± 133 (183 – 244)
		P	99 ± 62 (85 – 114)	215 ± 95 (193 – 237)	157 ± 57 (144 – 170)
	Pinnae	T	151 ± 67 (127 – 154)	301 ± 198 (256 – 347)	231 ± 98 (208 – 253)
		P	141 ± 98 (125 – 156)	291 ± 143 (248 – 323)	225 ± 82 (206 – 244)
Allergische Hunde	Inguinal	T	123 ± 61 (109 – 137)	272 ± 124 (243 – 300)	159 ± 83 (140 – 178)
		P	130 ± 60 (117 – 144)	288 ± 149 (254 – 323)	234 ± 137 (202 – 265)
	Pinnae	T	140 ± 60 (127 – 154)	216 ± 126 (187 – 245)	186 ± 83 (167 – 205)
		P	189 ± 84 (170 – 209)	247 ± 101 (224 – 270)	203 ± 66 (188 – 218)

MW = Mittelwert, SA = Standardabweichung, KI = Konfidenzintervall, T = Therapie (Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo), P = Placebo (Placebo-Shampoo)

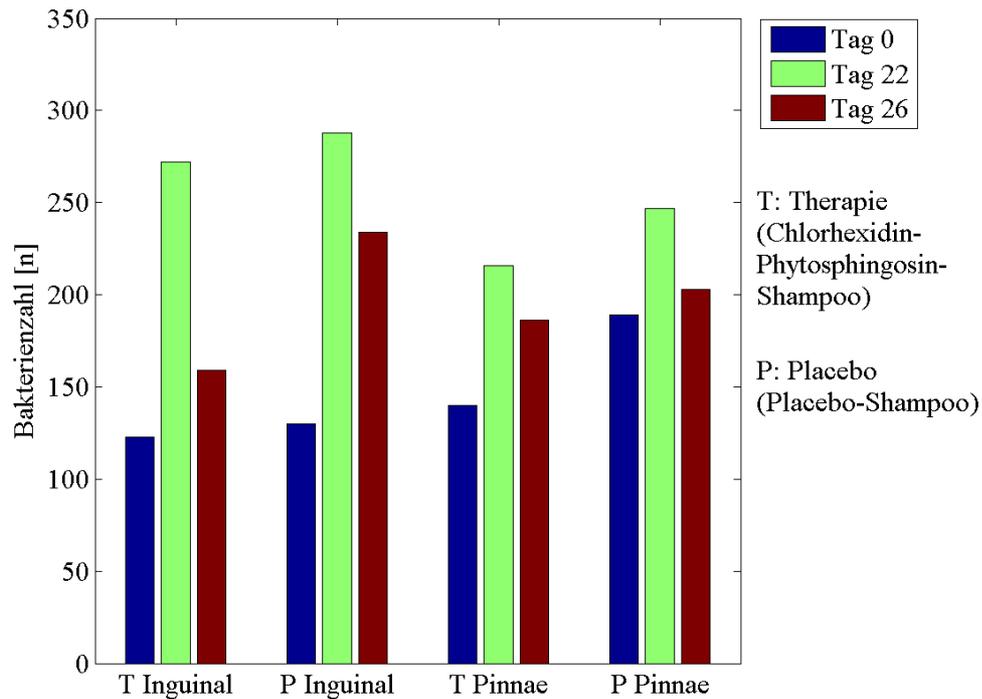


Abb. IV.5 Zahl der adhärennten Kokken (Bakterienzahl [n]) bei allergischen Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten

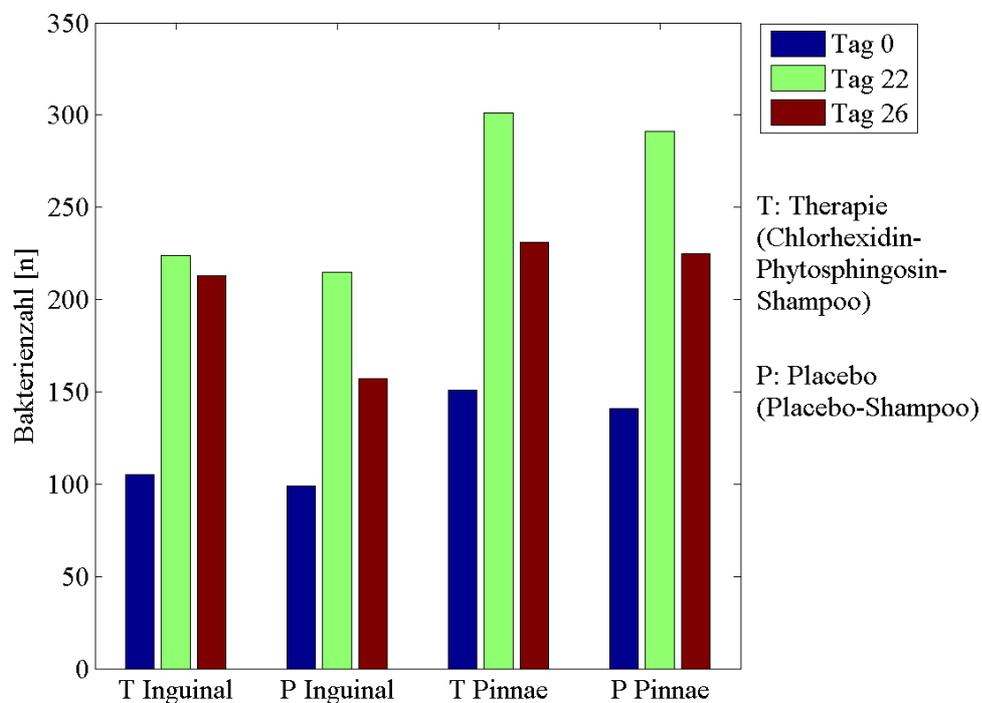


Abb. IV.6 Zahl der adhärennten Kokken (Bakterienzahl [n]) bei gesunden Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten

V DISKUSSION

1. Diskussion der Versuchsdurchführung

Vor der Applikation der Klebeplättchen wurden die behaarten Probenahmestellen rasiert. Zur Standardisierung des Versuches war dies aus drei Gründen notwendig:

- Die bakterielle Adhäsion an Haaren ist sehr hoch (IKEDA et al., 2006). Eine Probenahme an der behaarten Haut würde das Ergebnis verfälschen.
- Außerdem waren die Hunde unterschiedlich stark behaart. Hieraus hätten sich weitere fehlerhafte Messungen ergeben.
- An Klebeplättchen, die von unrasierten Probenahmestellen gewonnen wurden, haften nicht genügend Hautzellen, und es war nicht möglich eine zusammenhängende Korneozytenschicht zu erhalten.

Das Trocknen des Fells hat den zusätzlichen positiven Effekt, dass dadurch noch vorhandene Bakterien in ihrem Wachstum gehemmt werden (IKEDA et al., 2006). Somit hat nicht nur das Shampooieren, sondern auch das Trocknen Einfluss auf die Bakterienzahl. Dies wurde im Versuch nicht evaluiert. Um der Entstehung von Pyodermien vorzubeugen, sollten Hunde daher nach dem Baden gut getrocknet werden.

BIBEL und Mitarbeiter (1982) zeigten an Nasenepithelzellen, dass die bakterielle Adhäsion mit dem Keratinisierungsgrad der Zellen steigt. In der vorliegenden Studie wurde daher versucht, die Zellen nach möglichst gleichen Kriterien zu gewinnen. Es ist nicht anzunehmen, dass sich die Korneozyten der drei aufeinanderfolgend (und daher aus unterschiedlicher Tiefe) genommenen Klebeplättchen in ihrem Keratinisierungsgrad stark unterscheiden. In einer vergleichbaren Studie wurden sogar bis zu fünf aufeinanderfolgende Proben von derselben Stelle entnommen und kein Unterschied in der bakteriellen Adhäsion festgestellt (LU & MCEWAN, 2007). Zudem beziehen sich Bibel und Mitarbeiter in ihrem Versuch auf Nasenepithelien unterschiedlich tiefer Schichten. In der vorliegenden Studie stammten jedoch alle entnommenen Hautzellen aus der oberflächlichen Schicht der Epidermis, dem Stratum corneum.

Es ist denkbar, dass nicht alle ausgezählten oberflächlichen Bakterien *S. pseudintermedius* darstellten. Auf der Hautoberfläche wurden die schon

vorhandenen kokkenförmigen Bakterien gezählt – im Gegensatz zum Adhäsionsversuch, bei dem *S. pseudintermedius* auf die Korneozyten gegeben wurden. Als residente Kokken kommen beispielsweise Mikrokokken und koagulasenegative Staphylokokken in Frage (SAIJONMAA-KOULUMIES & LLOYD, 1996). Da ein Ziel der vorliegenden Studie war, den Einfluss von Shampoo auf die Anzahl der oberflächlichen kokkenförmigen Bakterien zu überprüfen, ist der Einschluss von beispielsweise koagulasenegativen Staphylokokken nicht von klinischer Bedeutung.

Zur besseren Evaluierung der Einzelwirkungen von Chlorhexidin und Phytosphingosin wäre es von Vorteil gewesen, jeden dieser beiden Inhaltsstoffe gesondert zu untersuchen. Eine Nachfrage zur Trennung der beiden Substanzen wurde vom Hersteller des Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoos als technisch zu aufwändig angegeben und abgelehnt. Zu erwägen war auch, zusätzlich zu dem Chlorhexidin-Phytosphingosin- und dem Placeboshampoo ein Chlorhexidin-Shampoo ohne weiteren antimikrobiellen Inhaltsstoff in die Studie einzubeziehen. Für einen Vergleich von drei unterschiedlichen Shampoos stehen jedoch nur zwei vergleichbare Körperseiten zur Verfügung. Ein denkbarer Vergleich sich nicht entsprechender Körperstellen verbietet sich, da die bakterielle Adhäsion bei ihnen sehr unterschiedlich sein kann (FORSYTHE et al., 2002).

2. Diskussion der Ergebnisse

2.1 Bakterien auf der Hautoberfläche

Die Anzahl der Bakterien auf der Hautoberfläche war in dieser Studie sowohl bei gesunden als auch bei atopischen Hunden auf der Ohrinnenseite höher als in der Leistengegend (s. auch Abb. IV.1. und Abb. IV.2). Eine mögliche Ursache hierfür wird in einer Studie von SEGIGUCHI und Mitarbeitern (2003) beschrieben: Sie fanden an den Pinnae niedrigere Ceramidwerte als an den anderen untersuchten Stellen der Hundehaut, nämlich in der Leistengegend, am Hals, an den Achseln, am Abdomen und an der Schwanzbasis. Wie unter II3.3 dargestellt, geht ein Ceramidmangel mit einer erhöhten Gesamtbakterienzahl und einer erhöhten Anzahl an *S. aureus* auf der Haut einher (ARIKAWA et al., 2002). Dies wurde bei allergischen Menschen festgestellt. Bei Hunden wurde bisher noch keine Studie durchgeführt, die den Ceramidgehalt des Stratum corneums mit der Bakterienzahl auf der Haut in Bezug setzt. Es ist jedoch vorstellbar, dass bei Caniden eine

ähnliche Korrelation vorliegt (s. II3.3).

Wie zu erwarten war, wurde zwischen der linken und rechten Körperhälfte vor der Behandlung kein Unterschied der Bakterienzahlen festgestellt. Allerdings lieferten auch die Vergleiche zwischen den mit Placebo- und den mit Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo behandelten Stellen zu den drei Probenahmeterminen, bei beiden Gruppen und an beiden Körperstellen meist keine signifikanten Unterschiede. Die Entwicklung der Bakterienzahlen im Verlauf der Studie war für beide Shampoos ähnlich. Mit beiden Shampoos, also auch beim Shampoo ohne antimikrobiellem Wirkstoff, konnte eine Reduktion der oberflächlichen Bakterienzahl im Laufe der Studie festgestellt werden, und zwar bei gesunden und allergischen Hunden in beiden Körperregionen (s. Abb. IV.3 bis Abb. IV.4). Dies könnte unter anderem damit zusammenhängen, dass die Bakterien mechanisch weggespült wurden und dass durch die oberflächenaktiven Substanzen im Shampoo Kerneozyten zusammen mit den auf ihnen haftenden Bakterien abgelöst wurden (PIÉRARD-FRANCHIMONT et al., 2000).

Bei den gesunden Hunden zeigte sich das Placebo sogar meist etwas effektiver als das medizinische Shampoo. Somit scheinen die antimikrobiellen Wirkstoffe bei gesunden Hunden im Vergleich mit dem Placebo keinen zusätzlichen Effekt bei der Reduktion der auf der Haut vorhandenen oberflächlichen Bakterien zu entwickeln.

Bei atopischen Hunden jedoch entfaltete das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo eine leicht bessere Wirkung als das Placebo-Shampoo. Da in einigen Studien gezeigt wurde, dass die Adhäsion von Staphylokokken an Hautzellen von allergischen Hunden höher und die Tendenz zur Entwicklung von Pyodermien stärker war als bei gesunden Hunden, kann die Anwendung eines antibakteriellen Shampoos bei diesen Patienten durchaus sinnvoll sein (MASON & LLOYD, 1989; DEBOER, 1990; HARVEY, 1991; KWOCHKA & KOWALSKI, 1991; MCEWAN, 2000; DEBOER & MARSELLA, 2001; MCEWAN et al., 2005; SIMOU et al., 2005b).

2.2 Bakterielle Adhäsion an Hautzellen nach Inkubation

In der vorliegenden Studie war die Adhäsion von *S. pseudintermedius* an den Pinnae gleich stark wie in der Inguinalgegend. FORSYTHE und Mitarbeiter (2002) zeigten, dass Staphylokokken stärker an Hautzellen von Kopf und Hals

adhärieren als an jenen vom Rücken. Zwischen den anderen untersuchten Körperregionen wurde kein Unterschied festgestellt. Die Ohrmuscheln waren in diese Studie jedoch nicht eingeschlossen. Da Kopf und Hals keine Prädilektionsstellen für Pyodermien beim Hund sind, schlussfolgerten die Autoren, dass die bakterielle Adhäsion wahrscheinlich nicht der Hauptfaktor bei der Entwicklung von Hautinfektionen sei (FORSYTHE et al., 2002). Gleichmaßen sind auch die Ohrmuscheln keine prädisponierte Lokalisation für Pyodermien.

Die Adhäsion von *S. pseudintermedius* an Hundekorneozyten war nach den vier Shampooerdurchgängen mit beiden Shampoos deutlich höher als vor der Behandlung. Am höchsten war die Adhäsion für beide Gruppen und Körperstellen am ersten Tag nach dem letzten Shampooivorgang (Tag 22). Sie sank am fünften Tag (Tag 26) wieder leicht ab, blieb allerdings noch über dem Niveau von Tag 0 (s. Abb. IV.5 bis Abb. IV.6 sowie Tabelle IV.3). Als mögliche Ursachen für diese erhöhte Adhäsion können folgende Sachverhalte von Bedeutung sein:

- In Shampoos enthaltene oberflächenaktive Substanzen können zu erhöhter Rauigkeit, Schuppenbildung und Veränderung der Lipidzusammensetzung des Stratum corneums führen und damit die bakterielle Adhäsion erleichtern (FULMER & KRAMER, 1986; FRIBERG et al., 1987; JACKSON et al., 1993; UHODA et al., 2003).
- Durch die Ablösung der oberflächlichen Hautschuppen können zwar oberflächliche Bakterien eliminiert werden, aber die erhöhte Detergenswirkung steigert auch das Potential des Shampoos, die Haut zu reizen (PIÉRARD et al., 1995; PIÉRARD-FRANCHIMONT et al., 2000). Die Tenside lagern sich an die Haut an, und Teile von ihnen können in das Stratum corneum eindringen, dort mit Proteinen und Lipiden interagieren und die Struktur sowie die physikalischen Eigenschaften der Hornschicht verändern. Auf diese Weise kann die Hautbarrierefunktion beeinträchtigt werden, und Hautreizungen können folgen. Die genauen Mechanismen dieser Prozesse sind noch nicht vollständig geklärt (PIÉRARD et al., 1995; ZHAI et al., 2002; UHODA et al., 2003).
- Reizungen und Störungen der Hautbarrierefunktion können zusätzlich durch die vor Probennahme applizierten Klebestreifen entstehen

(TOKUMURA et al., 2005).

- MCEWAN und Mitarbeiter (2006) beobachteten eine erhöhte bakterielle Adhäsion an Zellen entzündeter im Vergleich zu nichtentzündeter allergischer Hundehaut.
- KANZAKI und Mitarbeiter (1996) identifizierten Fibrinogen als einen der Plasmafaktoren, die bei Hautabschürfungen, -okklusionen und Dermatitis zu erhöhter Anlagerung von *S. aureus* beim Menschen führt. Bei Hunden wurden hierzu noch keine Studien durchgeführt. Es könnte jedoch derselbe Wirkmechanismus bestehen.
- Es muss in Betracht gezogen werden, dass ein Hund unter realen Umständen nie mit einer derartigen Menge an Staphylokokken konfrontiert ist, wie sie in dieser Studie verwendet wurde.
- In einem *in vitro*-Versuch stimulierten geringe Gehalte an Phytosphingosin das Wachstum von *Malassezia furfur*, anstatt dieses, wie erwartet, zu hemmen (NENOFF & HAUSTEIN, 2002). Ein ähnlicher Effekt könnte in der vorliegenden Studie durch das zehnmütige Einwirken des im medizinischen Shampoo enthaltenen Phytosphingosins eingetreten sein, wobei bisher noch keine äquivalenten Versuche mit Phytosphingosin und *S. pseudintermedius* oder höheren Phytosphingosingehalten vorliegen.
- Bei mit Sphinganin vorbehandelten Kokken zeigte eine weitere Studie zwar eine verminderte Adhäsion der Bakterien an Backenepithelien und Nasenschleimhautzellen, aber das Gegenteil war der Fall, wenn die Epithelzellen vorher mit dieser Sphingoidbase inkubiert wurden. Die Adhäsion der Kokken an die Backenepithelien nahm daraufhin zu (BIBEL et al., 1992b). Ein vergleichbarer Versuch mit Phytosphingosin wurde bisher noch nicht durchgeführt.
- Die bakterielle Adhäsion wird zudem von der Stärke des Juckreizes, vom Bakterienstamm, von der Tierart, der Hunderasse und dem Differenzierungsgrad der Zellen beeinflusst. Bei Hunden mit stärkerem Juckreiz (SIMOU et al., 2005b) sowie bei Boxern und Bullterriern im Vergleich zu Spaniels, Greyhounds und Whippets ist die Adhäsion erhöht

(FORSYTHE et al., 2002). In der vorliegenden Studie war jedoch kein Hund der genannten Rassen eingeschlossen.

Die bakterielle Adhäsion an mit antimikrobiellem Shampoo behandelten Stellen war im Vergleich zu mit Placebo-Shampoo behandelten Stellen nicht erhöht. Auch SIMOU und Mitarbeiter (2005b) stellten fest, dass verschiedenartigste Behandlungen allergischer Hunde die bakterielle Adhäsion an Korneozyten nicht generell beeinflusst, wohingegen BEACHEY und Mitarbeiter (1981) durch sublethale Konzentrationen von Antibiotika eine reduzierte Adhäsion von *Escherichia coli* und *Streptococcus pyogenes* an menschliche Mucosazellen beobachteten.

Zwischen gesunden und atopischen Hunden konnte in der vorliegenden Studie im Gesamtvergleich fast nie ein signifikanter Unterschied der bakteriellen Adhäsion festgestellt werden (lediglich an den Pinnae atopischer Hunde konnten am Tag 0 größere Bakterienzahlen gefunden werden als bei gesunden Hunden). Eine Ursache dafür könnte sein, dass die relativ geringe Anzahl von Patienten mit zehn Hunden nicht dazu ausreichte eine statistische Signifikanz zu erlangen. Die Zahl der unter dem Mikroskop ausgezählten Korneozyten lag bei ca. 15 bis 25 Zellen pro Plättchen, und damit bei ca. 45 bis 75 Zellen pro Körperstelle. Die Autoren eines Artikels von 1984 verlangten für Adhäsionsstudien 50 oder mehr Zellen pro Plättchen, wenn die Proben unter dem Lichtmikroskop ausgewertet wurden. Die Anwendbarkeit auf die vorliegende Studie ist jedoch zu bezweifeln, da sich der damalige Versuch auf Zellkulturen von Affennierenzellen bezog (MACKOWIAK & MARLING-CASON, 1984). MCEWANs Empfehlung für Korneozyten ist es, pro Probenahmestelle 100 Hautzellen zu zählen (MCEWAN, 2008). Eine derartige Menge wäre allerdings im Zeitrahmen und Ablauf des Versuchs für eine einzelne auswertende Person nicht zu bewältigen gewesen.

Ein weiterer Grund für die fehlende Signifikanz ist möglicherweise, dass einige der atopischen Hunde dieser Studie zum Zeitpunkt der Probennahme wenig Entzündungssymptome und Juckreiz zeigten. Eine Studie von HARVEY und NOBLE (1994) verglich die Bakterienzahlen auf der Haut von gesunden Hunden und allergischen Hunden in Remission. Auch hier wurde, wie in der vorliegenden Arbeit, kein statistisch relevanter Unterschied festgestellt. Es könnte sein, dass sich die bakterielle Adhäsion der symptomarmen Hunde wie die der Tiere in Remission verhält.

Einige Autoren fanden im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie eine stärkere Adhäsion von Staphylokokken an Hautzellen von allergischen Menschen und Hunden im Vergleich zu gesunden Individuen (COLE & SILVERBERG, 1986; CHO et al., 2001; SIMOU et al., 2005b; MCEWAN et al., 2006). SIMOU und Mitarbeiter (2005b) vermuteten, dass die canine atopische Dermatitis die Anzahl, die Eigenschaften oder die Position der Rezeptoren, an die die Staphylokokken binden, verändert. CHO und Mitarbeiter (2001) zeigten eine Umverteilung des Fibronektins im Stratum corneum von allergischen Menschen und identifizierten Fibrinogen und Fibronektin als wichtige Faktoren bei der verstärkten Anhaftung von *S. aureus* an die Haut dieser Patienten, während bei COLE und SILVERBERG (1986) das Protein A der Staphylokokkenzellwand im Vordergrund der Untersuchungen stand.

Da Mikroorganismen mehrere molekulare Adhäsionsmechanismen ausbilden und einsetzen um eine Infektion hervorzurufen, müssen Medikamente zur erfolgreichen Hemmung der Adhäsion vermutlich aus einer Reihe verschiedener Inhibitoren bestehen (OFEK et al., 1996). Abschließend soll bei einer Studie zur bakteriellen Adhäsion daran erinnert werden, dass die Anhaftung von Bakterien an Zellen ein äußerst komplexer Vorgang ist, zu dem multiple Faktoren beitragen und der noch keinesfalls in seiner Gesamtheit erforscht ist (VAN BELKUM et al., 2002).

In Anbetracht der stark erhöhten bakteriellen Adhäsion nach dem Shampooieren sind Sinn und Zweck der Shampooebehandlung bei gesunden Hunden abzuwägen. Bei allergischen Hunden können antibakterielle Inhaltsstoffe in Shampoos jedoch sinnvoll sein (s. o.). Zwar lagerten sich nach der Behandlung mit Chlorhexidin-Phytosphingosin ähnlich viele Staphylokokken an wie beim Shampooieren mit Placebo. Es ist jedoch anzunehmen, dass einige der Bakterien durch diese Wirkstoffe abgetötet werden und damit der Entstehung von Pyodermien vor allem bei den für bakterielle Infektionen prädisponierten allergischen Hunden vorgebeugt wird. Um die klinische Relevanz dieser erhöhten bakteriellen Adhäsion nach dem Shampooieren näher zu untersuchen, sind weitere Studien erforderlich.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluss eines Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoos auf die Anzahl oberflächlicher Bakterien der Haut und auf die Adhäsion von Staphylokokken an Korneozyten von gesunden und atopischen Hunden

Chlorhexidin ist ein häufig in antimikrobiellen Shampoos eingesetztes Biguanid mit breiter Wirkung gegen Bakterien und Hefepilze und einer guten Restaktivität auf der Haut (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991; HIOM et al., 1992; KUYAKANOND & QUESNEL, 1992; GUAGUÈRE, 1996). Der Aminoalkohol Phytosphingosin kann im Stratum corneum nachgewiesen werden und ist seit kurzem auch in Shampooform erhältlich. Sphingosine besitzen antimikrobielle Eigenschaften und verändern die bakterielle Adhäsion an Zielzellen (BIBEL et al., 1992b; 1992a; BIBEL et al., 1993).

Ziel dieser Studie war, die Wirkung eines Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoos auf die Anzahl oberflächlicher Hautbakterien und auf die Adhäsion von *S. pseudintermedius* an Hundekorneozyten zu untersuchen.

Fünf gesunde und fünf umweltallergische Hunde wurden während vier aufeinanderfolgenden Wochen einmal wöchentlich einer Shampootherapie unterzogen. Dabei wurde auf einer Körperhälfte das Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo angewendet, auf der anderen ein Placebo-Shampoo. Vor der ersten Behandlung sowie einen und fünf Tage nach dem letzten Shampoovorgang wurden mit je vier Klebeplättchen Hautzellen von beiden Ohrmuscheln sowie vom linken und rechten Leistenbereich genommen. Das jeweils erste Plättchen wurde zur Evaluierung der schon auf der Hundehaut vorhandenen oberflächlichen Bakterienzahlen verwendet. Zur Untersuchung der bakteriellen Adhäsion wurden nach Entfernung des restlichen Zelldetritus weitere drei Plättchen auf dieselbe Stelle aufgedrückt. Die auf diesen Plättchen anhaftende Korneozytenschicht wurde mit einer Suspension aus *S. pseudintermedius* und PBS bei 37 °C für 45 min inkubiert, abgespült und mit Methylenblau gefärbt. Auf den Hautzellen haftende Kokken der verblindet ausgewerteten Proben wurden unter dem Mikroskop gezählt.

Hierbei waren an den Pinnae allergischer und gesunder Hunde vor der Shampoobehandlung mehr oberflächliche Kokken nachzuweisen als in der

Leistengegend.

Die wöchentliche Behandlung mit beiden Shampooformen reduzierte die Bakterienzahl auf der Hautoberfläche sowohl bei den gesunden als auch bei den atopischen Hunden an den Pinnae und inguinal. Bei den Allergikern waren für die Behandlung mit Chlorhexidin-Phytosphingosin statistisch signifikante Reduktionen der Bakterienzahl vom Tag 0 auf den Tag 22 und vom Tag 0 auf den Tag 26 an beiden Körperstellen zu erkennen. Die Behandlung mit dem Placebo-Shampoo erzielte in dieser Hundegruppe nur eine einzige statistisch signifikante Verminderung der Bakterienzahl (an den Ohrmuscheln von Tag 0 auf Tag 22). Bei den gesunden Hunden war eine Signifikanz für das Shampooieren der Pinnae mit beiden Präparaten zwischen Tag 0 und Tag 26 festzustellen. Die Placebo-Behandlung reduzierte die Bakterienzahl zusätzlich in der Leistengegend von Tag 0 auf Tag 22 und an den Ohrmuscheln von Tag 0 auf Tag 26.

Zwischen den mit Chlorhexidin-Phytosphingosin- und mit Placebo-Shampoo behandelten Stellen gab es in der oberflächlichen Bakterienzahl für alle Probenahmeterminale, für beide Hundegruppen und die untersuchten Körperregionen mit einer Ausnahme keine signifikanten Unterschiede.

Die bakterielle Adhäsion nahm nach der Therapie mit beiden Shampooformen bei gesunden und allergischen Hunden inguinal und an den Ohrmuscheln zu. Am höchsten war die Adhäsion am Tag nach dem Behandlungsabschluss. Sie sank vier Tage später wieder etwas ab, blieb aber noch über dem Ausgangsniveau.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sowohl nach der Behandlung mit Chlorhexidin-Phytosphingosin- als auch mit Placebo-Shampoo die Anzahl oberflächlicher Bakterien reduziert wurde. Nur eine wenig bessere Wirksamkeit konnte für das antimikrobielle Shampoo im Vergleich mit dem Placebo-Shampoo für die Reduktion der Bakterien auf der Hautoberfläche bei allergischen Hunden festgestellt werden. Die Staphylokokken-Adhäsion an Korneozyten wurde allerdings nicht vermindert, sondern sie nahm durch das Shampooieren sogar zu. Hierbei erbrachte die Behandlung mit Chlorhexidin-Phytosphingosin im Vergleich mit dem Placebo-Shampoo keinen wesentlichen Vorteil.

VII SUMMARY

The influence of a phytosphingosine-containing chlorhexidine shampoo on superficial bacterial counts and staphylococcal adherence to corneocytes of healthy and atopic dogs

The biguanide chlorhexidine is a proven broad-spectrum agent against bacteria and yeast and has a good residual activity on canine skin (KWOCHKA & KOWALSKI, 1991; HIOM et al., 1992; KUYAKANOND & QUESNEL, 1992). Therefore it is commonly used in antimicrobial shampoos (GUAGUÈRE, 1996). Phytosphingosine is a natural antimicrobial aminoalcohol found in the stratum corneum. Additionally to their antimicrobial effect, sphingosines are believed to alter bacterial adherence to host cells (BIBEL et al., 1992b; 1992a; BIBEL et al., 1993). Recently a chlorhexidine shampoo containing phytosphingosine became available. The aim of this study was to investigate the influence of a phytosphingosine-containing chlorhexidine shampoo on superficial bacterial counts and on the adherence of *S. pseudintermedius* to canine corneocytes.

Five healthy dogs and five dogs suffering from atopic dermatitis were bathed weekly for four treatments with a shampoo containing phytosphingosine salicyloyl and chlorhexidine on one body side and shampoo vehicle on the other. Corneocytes were collected before the first and one and five days after the last treatment from both pinnae and left and right inguinal areas with four adhesive disks. With the first disk, surface bacteria were evaluated. After removal of the surface debris the three other disks were applied subsequently to the same site. The corneocyte layers on these disks were covered with a suspension of *S. pseudintermedius* in PBS, incubated at 37 °C for 45 min, washed, and stained with methylen blue. Adherent organisms were counted in a blinded fashion. The number of cocci on the superficial corneocytes in the inguinal area was lower than on the pinnae in healthy and atopic dogs. There were no significant differences in superficial bacterial numbers between placebo and treatment sites on nearly all time points, groups and areas. However, weekly shampooing reduced surface bacterial counts at every site in every group. This was statistically significant in atopic dogs treated with the chlorhexidine-phytosphingosine-shampoo for both body sites on day 22 and day 26. The shampoo vehicle only reached significance

in this group on the pinnae between day 0 and day 22. In healthy dogs, both treatments decreased the bacterial count on the pinnae between day 0 and day 26. Additionally there was a significant reduction for the shampoo vehicle in the inguinal area on day 22 and on the pinnae on day 26. .

The count of adhered bacteria after incubation of corneocytes with staphylococcal suspension increased from day 0 to day 22 and day 26 respectively in almost all sites and groups.

Shampoo therapy with the phytosphingosine-containing chlorhexidine shampoo as well as with the shampoo vehicle was efficacious in reducing superficial bacteria on canine skin. In atopic dogs the antimicrobial shampoo showed a better activity than the shampoo vehicle. However shampoo treatment did not inhibit staphylococcal adherence but rather increased bacterial numbers attached to canine corneocytes. There no considerable benefit was seen for the phytosphingosine-containing chlorhexidine shampoo in comparison with the shampoo vehicle.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

Ahn EH, Schroeder JJ. Sphingoid bases and ceramide induce apoptosis in HT-29 and HCT-116 human colon cancer cells. *Experimental Biology and Medicine* 2002; 227: 345-53.

Akdis M, Blaser K, Akdis C. T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2005; 116: 961-8.

Anderson W, Garvey M, editors. *Canine allergic inhalant dermatitis*, Rev edn. Ralston Purina Company. 1982: 111

Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Ichikawa Y, Imokawa G. Decreased levels of sphingosine, a natural antimicrobial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Investigative Dermatology* 2002; 119: 433-9.

Ascher F, Maynard L, Laurent J, Goubet B. Controlled trial of ethyl lactate and benzoyl peroxide shampoos in the management of canine surface pyoderma and superficial pyoderma. In: *Advances in Veterinary Dermatology*. Von Tscharnher C, Halliwell REW, eds. London: Ballière Tindall 1990: 375-82.

Authier S, Paquette D, Labrecque O, Messier S. Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in Canada between 2 time points 10 years apart. *Canadian Veterinary Journal* 2006; 47: 774-8.

Ayliffe T. Penetration of tissue by antibiotics. *Veterinary Dermatology Newsletter* 1980; 5: 33-7.

Barnes P. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science* 1998; 94: 557-72.

Beachey E, Eisenstein B, Ofek I. Sublethal concentrations of antibiotics and bacterial adhesion. In: *Ciba Foundation Symposium 80 - Adhesion and Microorganism Pathogenicity*. Elliott K, O'Connor M, Whelan J, eds.: Ciba Foundation 1981: 288-305.

Behrend E, Kemppainen R. Glucocorticoid therapy: pharmacology, indications, and complications. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 1997; 27: 187-213.

Bensignor E, Morgan D, Nuttall T. Efficacy of an essential fatty acid-enriched diet in managing canine atopic dermatitis: a randomized, single-blinded, cross-over study. *Veterinary Dermatology* 2008; 19: 156-62.

Berger SL, Scagliotti RH, Lund EM. A quantitative study of the effects of tribissen on canine tear production. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1995; 31: 236-41.

Bettenay S, Mueller R, Dell'osa D. Efficacy of doxycycline in canine and feline pyoderma. *Veterinary Dermatology* 1994; 9: 135-42.

Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR, Maibach HI, Strauss WG. Importance of the keratinized epithelial cell in bacterial adherence. *Journal of Investigative Dermatology* 1982; 79: 250-3.

Bibel DJ, Miller SJ, Brown BE, Pandey BB, Elias PM, Shinefield HR, Aly R. Antimicrobial activity of stratum corneum lipids from normal and essential fatty acid-deficient mice. *Journal of Investigative Dermatology* 1989; 92: 632-8.

Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR. Antimicrobial activity of sphingosines. *Journal of Investigative Dermatology* 1992a; 98: 269-73.

Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR. Inhibition of microbial adherence by sphinganine. *Canadian Journal of Microbiology* 1992b; 38: 983-5.

Bibel DJ, Aly R, Shah S, Shinefield HR. Sphingosines: antimicrobial barriers of the skin. *Acta Dermato-Venereologica* 1993; 73: 407-11.

Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR. Topical sphingolipids in antiseptic and antifungal therapy. *Clinical and Experimental Dermatology* 1995; 20: 395-400.

Bourdeau P, Bruet V, Gremillet C, editors. Evaluation of phytosphingosine-containing shampoo and microemulsion spray in the clinical control of allergic dermatoses in dogs: preliminary results of a multicentre study. *Proceedings of the North American Veterinary Dermatology Forum 2007 Apr 177-8; Lihue, Kauai, Hawaii, USA.*

Bousquet J, Lockey R, Malling H-J. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases A WHO position paper. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102: 558-62.

Breuer K, Kapp A, Werfel T. Bacterial infections and atopic dermatitis. *Allergy* 2001; 56: 1034-41.

Buhse L, Kolinski R, Westenberger B, Wokovich A, Spencer J, Chen CW, Turujman S, Gautam-Basak M, Kang GJ, Kibbe A. Topical drug classification. *International Journal of Pharmaceutics* 2005; 295: 101-12.

Burkhart CN, Specht K, Neckers D. Synergistic activity of benzoyl peroxide and erythromycin. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 2000; 13: 292-6.

Campbell KJ, Weisger R, Cross T, editors. Effects of four antibacterial/shampoos

on surface bacteria on the skin of dogs. Proceedings of the 11th Annual Meeting of the American Academy of Veterinary Dermatology; 1995 43-4 Santa Fe, New Mexico, USA.

Campbell KL. Sulphonamides: updates on use in veterinary medicine. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 205-15.

Carlotti DN (2003) The art of shampoos in veterinary dermatology: treatment and prevention strategies. In: Vetcontact. com

Carr H, Wlodkowski T, Rosenkranz H. Silver sulfadiazine: *in vitro* antibacterial activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1973; 4: 585-7.

Chesney CJ. Measurement of skin hydration in normal dogs and in dogs with atopy or a scaling dermatosis. *Journal of Small Animal Practice* 1995; 36: 305-9.

Cho SH, Strickland I, Boguniewicz M, Leung DYM. Fibronectin and fibrinogen contribute to the enhanced binding of *Staphylococcus aureus* to atopic skin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001; 108: 269-74.

Christiansen K. Fusidic acid adverse drug reactions. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1999; 12: 3-9.

Cole GW, Silverberg NL. The adherence of *Staphylococcus aureus* to human corneocytes. *Archives of Dermatology* 1986; 122: 166-9.

Cox HU, Hoskins JD, Newman SS, Foil CS, Turnwald GH, Roy AF. Temporal study of staphylococcal species on healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research* 1988; 49: 747-51.

Craig M. Diagnosis and management of pyoderma in the dog. In *Practice* 2003; 25: 418-25.

Craig W. Choosing an antibiotic on the basis of pharmacodynamics. *Ear Nose and Throat Journal* 1998; 77: 7-12.

Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy in cats and dogs Part 1. Shampoo therapy. In *Practice* 1998; 20: 244-51.

Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats. Part 2. In *Practice* 1999; 21: 448-.

De Jaham C. Effects of an ethyl lactate shampoo in conjunction with a systemic antibiotic in the treatment of canine superficial bacterial pyoderma in an open-label, nonplacebo-controlled study. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2003; 4: 94-100.

De Weck A, Mayer P, Stumpe B, Schiessl B, Pickart L. Dog allergy, a model for

allergy genetics. *International archives of allergy and immunology* 1997; 113: 55-7.

DeBoer DJ. Strategies for management of recurrent pyoderma in dogs. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 1990; 20: 1509-24.

DeBoer DJ, Moriello KA, Pollet RA. Efficacy of AHR-13268, an antiallergenic compound, in the management of pruritus caused by atopic disease in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 1992; 53: 532-6.

DeBoer DJ, Hill PB. Serum immunoglobulin E concentrations in West Highland White Terrier puppies do not predict development of atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 275-81.

DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001a; 81: 271-6.

DeBoer DJ, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 239-49.

DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001b; 81: 277-87.

DeBoer DJ, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 323-9.

Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M, Vaneechoutte M, De Graef E, Snauwaert C, Cleenwerck I, Dawyndt P, Swings J, Decostere A. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2005; 55: 1569-73.

Di Nardo A, Wertz P, Giannetti A, Seidenari S. Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis. *Acta Dermato-Venereologica* 1998; 78: 27-30.

Doona M, Walsh JB. Use of chloramphenicol as topical eye medication: time to cry halt? 1995; 310: 1217-8.

Dowling P. Antimicrobial therapy of skin and ear infections. *The Canadian Veterinary Journal* 1996; 37: 695.

Draize J. The determination of the pH of the skin of man and common laboratory

animals. *Journal of Investigative Dermatology* 1942; 5: 77-85.

Elias P. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *The Journal of Investigative Dermatology* 1983; 80: 44-9.

Elias P. The skin barrier as an innate immune element. *Seminars in Immunopathology* 2007; 29: 3-14.

Elias PM. Structure and function of the stratum corneum permeability barrier. *Drug Development Research* 1988; 13: 97-105.

Farwick M, Watson REB, Rawlings AV, Wollenweber U, Lersch P, Bowden JJ, Bastrilles JY, Griffiths CEM. Salicyloyl-phytosphingosine: a novel agent for the repair of photoaged skin. *International Journal of Cosmetic Science* 2007; 29: 319-29.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, editors. Diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Proceedings of the Sixth World Congress of Veterinary Dermatology*. 2008 Nov 34-5; Hong Kong, China.

Fehrer SL, Boyle MD, Halliwell RE. Identification of protein A from *Staphylococcus intermedius* isolated from canine skin. *American Journal of Veterinary Research* 1988; 49: 697-701.

Fitzgerald JR, editors. Recent studies of the *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: insights into species re-classification, emergence of methicillin-resistance and the potential for a pyoderma vaccine. *Proceedings of the Sixth World Congress of Veterinary Dermatology*. 2008 Nov 15; Hong Kong, China.

Forsythe PJ, Hill PB, Thoday KL, Brown J. Use of computerized image analysis to quantify staphylococcal adhesion to canine corneocytes: does breed and body site have any relevance to the pathogenesis of pyoderma? *Veterinary Dermatology* 2002; 13: 29-36.

Friberg SE, Goldsmith L, Suhaimi H, Rhein LD. Surfactants and the stratum corneum lipids. *Colloids and Surfaces* 1987; 30: 1-12.

Fulmer A, Kramer G. Stratum corneum lipid abnormalities in surfactant-induced dry scaly skin. *Journal of Investigative Dermatology* 1986; 86: 598-602.

Gallai V, Sarchielli P, Trequattrini A, Franceschini M, Floridi A, Firenze C, Alberti A, Di Benedetto D, Stragliotto E. Cytokine secretion and eicosanoid production in the peripheral blood mononuclear cells of MS patients undergoing dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of neuroimmunology* 1995; 56: 143-53.

Ganière JP, Medaille C, Mangion C. Antimicrobial drug susceptibility of

Staphylococcus intermedius clinical isolates from canine pyoderma. Journal of Veterinary Medicine Series B 2005; 52: 25-31.

Garmy N, Taieb N, Yahi N, Fantini J. Interaction of cholesterol with sphingosine: physicochemical characterization and impact on intestinal absorption. Journal of Lipid Research 2005; 46: 36-45.

Geoffroy C, Chosidow O, Revuz J. La mupirocine: pharmacologie et indications thérapeutiques. Annales de Dermatologie et de Vénérologie 1990; 117: 753-7.

Giger U, Werner L, Millichamp N, Gorman N. Sulfadiazine-induced allergy in six Doberman pinschers. Journal of the American Veterinary Medical Association 1985; 186: 479-84.

Griffeth G. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. Veterinary Dermatology 2008; 19: 142-9.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. Veterinary Immunology and Immunopathology 2001; 81: 363-83.

Griffin CE, Bibel DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. Veterinary Immunology and Immunopathology 2001; 81: 255-69.

Grubauer G, Feingold K, Harris R, Elias P. Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier. The Journal of Lipid Research 1989; 30: 89-96.

Guaguère E. Topical treatment of canine and feline pyoderma. Veterinary Dermatology 1996; 7: 145-51.

Hajek V. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 1976; 26: 401-8.

Halliwell RE. Atopic disease in the dog. The Veterinary Record 1971; 89: 209-14.

Halliwell RE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. Veterinary Immunology and Immunopathology 2001; 81: 159-67.

Halliwell REW. Rational use of shampoos in veterinary dermatology. Journal of Small Animal Practice 1991; 32: 401-7.

Harvey RG. Introduction to topical therapy. In Practice 1991; 13: 208-11.

Harvey RG, Noble WC. A temporal study comparing the carriage of *Staphylococcus intermedius* on normal dogs with atopic dogs in clinical remission. *Veterinary Dermatology* 1994; 5: 21-5.

Harvey RG, Hunter PA. The properties and use of penicillins in the veterinary field, with special reference to skin infections in dogs and cats. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 177-86.

Heinrich J, Hoelscher B, Frye C, Meyer I, Wjst M, Wichmann H. Trends in prevalence of atopic diseases and allergic sensitization in children in Eastern Germany. *European Respiratory Journal* 2002; 19: 1040-6.

Hill PB, Moriello KA. Canine pyoderma. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1994; 204: 334-40.

Hill PB, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (V): biology and role of inflammatory cells in cutaneous allergic reactions. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 187-98.

Hill PB, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 169-86.

Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 289-304.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 147-51.

Hillier A, Alcorn JR, Cole LK, Kowalski JJ. Pyoderma caused by *Pseudomonas aeruginosa* infection in dogs: 20 cases. *Veterinary Dermatology* 2006; 17: 432-9.

Hiom S, Furr J, Russell A, Dickinson J. Effects of chlorhexidine diacetate on *Candida albicans*, *C. glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology* 1992; 72: 335-40.

Hofer M, Harbeck R, Schlievert P, Leung D. Staphylococcal toxins augment specific IgE responses by atopic patients exposed to allergen. *Journal of Investigative Dermatology* 1999; 112: 171-6.

Holleran W, Man M, Gao W, Menon G, Elias P, Feingold K. Sphingolipids are required for mammalian epidermal barrier function. Inhibition of sphingolipid synthesis delays barrier recovery after acute perturbation. *Journal of Clinical Investigation* 1991; 88: 1338-45.

Holm BR, Petersson U, Morner A, Bergstrom K, Franklin A, Greko C.

Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. *The Veterinary Record* 2002; 151: 600-5.

Holm BR, Rest JR, Seewald W. A prospective study of the clinical findings, treatment and histopathology of 44 cases of pyotraumatic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2004; 15: 369-76.

Horvath C, Neuber A. Management of canine pyoderma. *UK Vet* 2007; 12: 1-7.

Hughes J, Mellows G. Interaction of pseudomonic acid A with *Escherichia coli* B isoleucyl tRNA synthetase. *Biochemical Journal* 1980; 191: 209-19.

Ihrke P, Schwartzman R, McGinley K, Horwitz L, Marples R. Microbiology of normal and seborrheic canine skin. *American Journal of Veterinary Research* 1978; 39: 1487.

Ihrke PJ. An overview of bacterial skin disease in the dog. *The British Veterinary Journal* 1987; 143: 112-8.

Ihrke PJ (1996) Bacterial skin disease in the dog: a guide to canine pyoderma. Bayer AG Business Group Animal Health, Shawnee Mission, Kansas, USA. 97

Ihrke PJ, Papich MG, DeManuelle TC. The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 193-204.

Ikeda N, Shirai F, Dohi Y. Washing hairs with shampoo remained alive bacteria on them, that may be prevented from their growth by subsequent drying. *Journal of Japanese Society of Nursing Research* 2006; 29: 19-25.

Jackson S, Williams M, Feingold K, Elias P. Pathobiology of the stratum corneum. *Western Journal of Medicine* 1993; 158: 279-85.

Jensen JM, Föhlster-Holst R, Baranowsky A, Schunck M, Winoto-Morbach S, Neumann C, Schütze S, Proksch E. Impaired sphingomyelinase activity and epidermal differentiation in atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology* 2004; 122: 1423-31.

Jones RD, Kania SA, Rohrbach BW, Frank LA, Bemis DA. Prevalence of oxacillin- and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 samples (2001-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2007; 230: 221-7.

Kanzaki H, Morishita Y, Akiyama H, Arata J. Adhesion of *Staphylococcus aureus* to horny layer: role of fibrinogen. *Journal of Dermatological Science* 1996; 12: 132-9.

Karlsson KA. Sphingolipid long chain bases. *Lipids* 1970; 5: 878-91.

Keane K, Taylor D. Slime-producing *Staphylococcus* species in canine pyoderma. *The Veterinary Record* 1992; 130: 75.

Keppel K, Campbell K, Zuckermann F, Greeley E, Schaeffer D, Husmann R. Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2008; 123: 337-44.

Kim S, Hong I, Hwang JS, Choi JK, Rho HS, Kim DH, Chang I, Lee SH, Lee MO, Hwang JS. Phytosphingosine stimulates the differentiation of human keratinocytes and inhibits TPA-induced inflammatory epidermal hyperplasia in hairless mouse skin. *Molecular Medicine* 2006; 12: 17-24.

Kligman AM. New uses for benzoyl peroxide: a broad-spectrum antimicrobial agent. *International Journal of Dermatology* 1977; 16: 413-7.

Kuyyakanond T, Quesnel L. The mechanism of action of chlorhexidine. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 1992; 100: 211-5.

Kwochka KW, Kowalski JJ. Prophylactic efficacy of four antibacterial shampoos against *Staphylococcus intermedius* in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 1991; 52: 115-8.

Lehninger N (2001) Cox „Lehninger Biochemie “. Springer-Verlag, Berlin

Leung D, Harbeck R, Bina P, Reiser R, Yang E, Norris D, Hanifin J, Sampson H. Presence of IgE antibodies to staphylococcal exotoxins on the skin of patients with atopic dermatitis. Evidence for a new group of allergens. *Journal of Clinical Investigation* 1993; 92: 1374-80.

Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *Journal of Clinical Investigation* 2004; 113: 651-7.

Lever R. Staphylococcal colonization in atopic dermatitis and the effect of topical mupirocin therapy. *British Journal of Dermatology* 1988; 119: 189-98.

Lloyd D, Garthwaite G. Epidermal structure and surface topography of canine skin. *Research in Veterinary Science* 1982; 33: 99-104.

Lloyd D, Thomsett L. Essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopy: a preliminary study. *Veterinary Dermatology* 1990; 1: 41-4.

Lloyd D. Dealing with cutaneous staphylococcal infection in dogs. *In Practice* 1996; 18: 223-31.

Lloyd DH, Carlotti DN, Koch HJ, Van den Broek AH. Treatment of canine

pyoderma with co-amoxyclav: a comparison of two dose rates. *The Veterinary Record* 1997; 141: 439-41.

Lloyd DH, Lamport AI. Activity of chlorhexidine shampoos in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. *The Veterinary Record* 1999; 144: 536-7.

Lloyd DH, Lamport AI, Noble WC, Howell SA. Fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 249-51.

Loeflath A, von Voigts-Rhetz A, Jaeger K, Schmid M, Kuechenhoff H, Mueller R. The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus-a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Veterinary Dermatology* 2007; 18: 427-31.

Lu YF, McEwan NA. Staphylococcal and micrococcal adherence to canine and feline corneocytes: quantification using a simple adhesion assay. *Veterinary Dermatology* 2007; 18: 29-35.

Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Klausner JS. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1999; 214: 1336-41.

Mackowiak PA, Marling-Cason M. A comparative analysis of in vitro assays of bacterial adherence. *Journal of Microbiological Methods* 1984; 2: 147-58.

Marsella R, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal anti-inflammatory pharmacotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 331-45.

Marsella R, Nicklin C, Lopez J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology* 2006; 17: 306-12.

Marsh K, Ruedisueli F, Coe S, Watson T. Effects of zinc and linoleic acid supplementation on the skin and coat quality of dogs receiving a complete and balanced diet. *Veterinary Dermatology* 2000; 11: 277-84.

Mason I. Selection and use of antibacterial agents in pyoderma. *In Practice* 1993; 15: 129-34.

Mason IS, Lloyd DH. The role of allergy in the development of canine pyoderma. *Journal of Small Animal Practice* 1989; 30: 216-8.

Mason IS, Kietzmann M. Cephalosporins-pharmacological basis of clinical use in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 187-92.

Mauldin E, Scott D, Miller W, Smith C. Malassezia dermatitis in the dog: a retrospective histopathological and immunopathological study of 86 cases (1990-95). *Veterinary Dermatology* 1997; 8: 191-202.

McEwan NA. Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine keratinocytes in atopic dermatitis. *Research in Veterinary Science* 2000; 68: 279-83.

McEwan NA, Kalna G, Mellor D. A comparison of adherence by four strains of *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hominis* to canine corneocytes collected from normal dogs and dogs suffering from atopic dermatitis. *Research in Veterinary Science* 2005; 78: 193-8.

McEwan NA, Mellor D, Kalna G. Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes: a preliminary study comparing noninflamed and inflamed atopic canine skin. *Veterinary Dermatology* 2006; 17: 151-4.

McEwan NA (2008) Personal Communication with Mueller, RS, Sixth World Congress of Veterinary Dermatology, Hong Kong, China

Medleau L. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. *American Journal of Veterinary Research* 1986; 47: 229-31.

Melnik B. Disturbances of antimicrobial lipids in atopic dermatitis. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2006; 4: 114-23.

Miller C, Tang W, Ziboh V, Fletcher M. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative anti-inflammatory metabolites. *Journal of Investigative Dermatology* 1991; 96: 98-103.

Miller SJ, Aly R, Shinefeld HR, Elias PM. *In vitro* and *in vivo* antistaphylococcal activity of human stratum corneum lipids. *Archives of Dermatology* 1988; 124: 209-15.

Mims C, Nash A, Stephen J (1995) Attachment to and entry of microorganisms into the body. London Academic Press, London. 10-66

Morales CA, Schultz KT, DeBoer DJ. Antistaphylococcal antibodies in dogs with recurrent staphylococcal pyoderma. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1994; 42: 137-47.

Morar N, Willis-Owen S, Moffatt M, Cookson W. The genetics of atopic dermatitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006; 118: 24-34.

Morris DO. Medical therapy of otitis externa and otitis media. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 2004; 34: 541-55.

Morris DO. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 cases. *Veterinary Dermatology* 2006; 17: 332-7.

Mueller R. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinary Dermatology* 2004; 15: 75-89.

Mueller R, Fieseler K, Fettman M, Zabel S, Rosychuk R, Ogilvie G, Greenwalt T. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *Journal of Small Animal Practice* 2004; 45: 293-7.

Mueller RS, Bettenay SV. Long-term immunotherapy of 146 dogs with atopic dermatitis - a retrospective study. *Australian Veterinary Practitioner* 1996; 26: 128-32.

Mueller RS. Topical dermatological therapy. In: Small animal clinical pharmacology, 2nd edn. Maddison JE, Page SW, Church DB, editors. New York: Elsevier Health Sciences; 2008: 546-56.

Nelson D, Cox M, editors. *Lehninger Biochemie*, 3. edition. Berlin: Springer; 2001; 388-393.

Nenoff P, Haustein U. *In vitro* Activity of Phytosphingosines against *Malassezia furfur* and *Candida albicans*. *Acta Dermato-Venereologica* 2002; 82: 170-3.

Nesbitt GH, Freeman LM, Hannah SS. Correlations of fatty acid supplementation, aeroallergens, shampoo, and ear cleanser with multiple parameters in pruritic dogs. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2004; 40: 270-84.

Nicholas R, Berry V, Hunter P, Kelly J. The antifungal activity of mupirocin. 1999; 43: 579-82.

Nilsson L, Castor O, Lofman O, Magnusson A, Kjellman N. Allergic disease in teenagers in relation to urban or rural residence at various stages of childhood. *European Journal of Allergy & Clinical Immunology* 1999; 54: 716.

Noli C, Boothe D. Macrolides and lincosamides. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 217-23.

Nuttall T, Thoday K, van den Broek A, Jackson H, Sture G, Halliwell R. Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. *The Veterinary Record* 1998; 143: 139-42.

Nuttall T, Knight P, McAleese S, Lamb J, Hill P. Expression of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine gene transcripts in canine atopic dermatitis. *Clinical & Experimental Allergy* 2002; 32: 789-95.

Odland GP, Holbrook K. The lamellar granules of epidermis. *Current Problems in Dermatology* 1981; 9: 29-49.

Ofek I, Kahane I, Sharon N. Toward anti-adhesion therapy for microbial diseases. *Trends in Microbiology* 1996; 4: 297-9.

Ofek I, Hasty DL, Sharon N. Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003; 38: 181-91.

Ohnishi Y, Okino N, Ito M, Imayama S. Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1999; 6: 101-4.

Olivry T, Naydan D, Moore P, Sc B. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis. *The American Journal of Dermatopathology* 1997; 19: 477-86.

Olivry T, Dean G, Tompkins M, Dow J, Moore P. Toward a canine model of atopic dermatitis: amplification of cytokine-gene transcripts in the skin of atopic dogs. *Experimental Dermatology* 1999; 8: 204-11.

Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE, Halliwell RE, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001a; 81: 143-6.

Olivry T, Hill PB. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 219-25.

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001a; 81: 311-6.

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001b; 81: 317-22.

Olivry T, Marsella R, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIII): are essential fatty acids effective? *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001b; 81: 347-62.

Olivry T, Mueller RS. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2003; 14: 121-46.

Paradis M, Lemay S, Scott DW. The efficacy of clemastine (Tavist), a fatty acid-containing product (Derm Caps), and the combination of both products in the

management of canine pruritus. *Veterinary Dermatology* 1991a; 2: 17-20.

Paradis M, Scott DW, Giroux D. Further investigations on the use of nonsteroidal and steroidal antiinflammatory agents in the management of canine pruritus. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1991b; 27: 44-8.

Paterson S. Additive benefits of EFAs in dogs with atopic dermatitis after partial response to antihistamine therapy. *Journal of Small Animal Practice* 1995; 36: 389-94.

Patterson R. Investigations of spontaneous hypersensitivity of the dog. *The Journal of Allergy* 1960; 31: 351-63.

Pavicic T, Wollenweber U, Farwick M, Korting HC. Anti-microbial and -inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: an *in vitro* and *in vivo* study addressing acne vulgaris. *International Journal of Cosmetic Science* 2007; 29: 181-90.

Piérard GE, Goffin V, Hermanns-Le T, Arrese JE, Piérard-Franchimont C. Surfactant-induced dermatitis: Comparison of corneosurfametry with predictive testing on human and reconstructed skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1995; 33: 462-9.

Piérard-Franchimont C, Hermanns JF, Degreef H, Piérard GF. From axioms to new insights into dandruff. *Dermatology* 2000; 200: 93-8.

Pinchbeck L, Hillier A, Kowalski J, Kwochka K. Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2002; 220: 1807-12.

Possemiers S, Van Camp J, Bolca S, Verstraete W. Characterization of the bactericidal effect of dietary sphingosine and its activity under intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology* 2005; 105: 59-70.

Prélaud P, Guaguère E, Alhaidari Z, Faivre N, Héripret D, Gayerie A. Réévaluation des critères de diagnostic de la dermatite atopique. *Revue de Médecine Vétérinaire* 1998; 149

Prottey C, George D, Leech RW, Black JG, Howes D, Vickers CF. The mode of action of ethyl lactate as a treatment for acne. *The British Journal of Dermatology* 1984; 110: 475-85.

Pruett S, Bushnev A, Hagedorn K, Adiga M, Haynes C, Sullards M, Liotta D, Merrill Jr A. Thematic Review Series: Sphingolipids. Biodiversity of sphingoid bases ("sphingosines") and related amino alcohols. *The Journal of Lipid Research* 2008; 49: 1621-39.

Rantala M, Lahti E, Kuhalampi J, Pesonen S, Järvinen AK, Saijonmaa-Koulumies L, Honkanen-Buzalski T. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* and *Enterococcus spp.* in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2004; 45: 37-45.

Robertson E, Brodgen K, Wertz P, Dawson D, Drake D, editors. Antimicrobial activity of human skin lipids. Proceedings of the IADR/AADR/CADR 83rd General Session; 2005; Baltimore Convention Center Exhibit Hall E-F

Saijonmaa-Koulumies LE, Lloyd DH. Review article: Colonization of the canine skin with bacteria. *Veterinary Dermatology* 1996; 7: 153-62.

Saijonmaa-Koulumies LE, Lloyd DH. Adherence of *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes *in vitro*. *Veterinary Dermatology* 2002; 13: 169-76.

Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 2007; 45: 2770-8.

Schwartzman R, Massicot J, Sogn D, Cohen S. The atopic dog model: report of an attempt to establish a colony. *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 1983; 72: 97-101.

Schwarz S, Noble WC. Aspects of bacterial resistance to antimicrobials used in veterinary dermatological practice. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 163-76.

Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec (1987-1988). *The Canadian Veterinary Journal* 1990; 31: 830-5.

Scott DW, Miller WH. Antihistamines in the management of allergic pruritus in dogs and cats. *The Journal of Small Animal Practice* 1999; 40: 359-64.

Scott DW, Muller GH, Miller WH, Griffin CE, editors. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th edition. Philadelphia: WB Saunders; 2001: 274-310

Segiguchi M, Ikeno K, Iwasaki T, editors. Ceramides in keratin layer of normal and atopic dogs. Proceedings of the American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology Annual Meeting; 2003 Apr 210-36; Monterey, California, USA.

Shanson D. Clinical relevance of resistance to fusidic acid in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1990; 25: 15-21.

Shimada A, Yoshihara T, Konno K, Nishifuji K, Iwasaki T, editors. Increase in transepidermal water loss and decrease in ceramide content in the lesional and

non-lesional skin of canine atopic dermatitis. Proceedings of the Sixth World Congress of Veterinary Dermatology. 2008 Nov 19; Hong Kong, China.

Simou C, Hill PB, Forsythe PJ, Thoday KL. Species specificity in the adherence of staphylococci to canine and human corneocytes: a preliminary study. *Veterinary Dermatology* 2005a; 16: 156-61.

Simou C, Thoday KL, Forsythe PJ, Hill PB. Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. *Veterinary Dermatology* 2005b; 16: 385-91.

Somerville-Millar D, Noble W. Resident and transient bacteria of the skin. *Journal of Cutaneous Pathology* 1974; 1: 260-4.

Sousa CA, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 153-7.

Spelman D. Fusidic acid in skin and soft tissue infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1999; 12: 59-65.

Steffan J, Alexander D, Brovedani F, Fisch R. Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized controlled trial. *Veterinary Dermatology* 2003; 14: 11-22.

Stegemann MR, Sherington J, Blanchiflour S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefovecin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2006; 29: 501-11.

Stegemann MR, Coati N, Passmore CA, Sherington J. Clinical efficacy and safety of cefovecin in the treatment of canine pyoderma and wound infections. *Journal of Small Animal Practice* 2007; 48: 378-86.

Stewart ME, Downing DT. Free sphingosines of human skin include 6-hydroxysphingosine and unusually long-chain dihydrosphingosines. *Journal of Investigative Dermatology* 1995; 105: 613-8.

Sutherland R, Boon RJ, Griffin KE, Masters PJ, Slocombe B, White AR. Antibacterial activity of mupirocin (pseudomonic acid), a new antibiotic for topical use. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1985; 27: 495-8.

Tanaka N, Kinoshita T, Masukawa H. Mechanism of protein synthesis inhibition by fusidic acid and related antibiotics. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1968; 30: 278-83.

Thaçi D, Schöfer H. Topische Antibiotika zur Therapie von Hautinfektionen. *Der Hautarzt* 2005; 56: 381-96.

Thomas J, Forrest A, Bhavnani S, Hyatt J, Cheng A, Ballow C, Schentag J.

Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998; 42: 521-7.

Tokumura F, Umekage K, Sado M, Otsuka S, Suda S, Taniguchi M, Yamori A, Nakamura A, Kawai J, Oka K. Skin irritation due to repetitive application of adhesive tape: the influence of adhesive strength and seasonal variability. *Skin Research and Technology* 2005; 11: 102-6.

Trepanier LA. Delayed hypersensitivity reactions to sulphonamides: syndromes, pathogenesis and management. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 241-8.

Uhoda E, Paye M, Piérard GE. Comparative clinical and electrometric assessments of the impact of surfactants on forearm skin. *Exogenous Dermatology* 2003; 2: 64-9.

Van Belkum A, Kools-Sijmons M, Verbrugh H. Attachment of *Staphylococcus aureus* to eukaryotic cells and experimental pitfalls in staphylococcal adherence assays: a critical appraisal. *Journal of Microbiological Methods* 2002; 48: 19-42.

Verbist L. The antimicrobial activity of fusidic acid. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 1990; 25: 1-5.

Vercelli D, Jabara H, Cunningham-Rundles C, Abrams J, Lewis D, Meyer J, Schneider L, Leung D, Geha R. Regulation of immunoglobulin (Ig) E synthesis in the hyper-IgE syndrome. *Journal of Clinical Investigation* 1990; 85: 1666-71.

Wallerstein R, Condit P, Kasper C, Brown J, Morrison F. Statewide study of chloramphenicol therapy and fatal aplastic anemia. *Journal of the American Medical Association* 1969; 208: 2045-50.

Werckenthin C, Cardoso M, Martel JL, Schwarz S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Research* 2001; 32: 341-62.

Werner AH, Russell AD. Mupirocin, fusidic acid and bacitracin: activity, action and clinical uses of three topical antibiotics. *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 225-40.

Wertz PW, Downing DT. Free sphingosines in porcine epidermis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1989; 1002: 213-7.

Wertz PW, Downing DT. Free sphingosine in human epidermis. *Journal of Investigative Dermatology* 1990; 94: 159-61.

White SD. Systemic treatment of bacterial skin infections of dogs and cats. *Veterinary Dermatology* 1996; 7: 133-43.

Willemse T. Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *Journal of Small Animal Practice* 1986; 27: 771-8.

Wittich F. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal-seasonal hay fever (fall type) in a dog. *The Journal of Allergy* 1941; 12: 247-51.

Wolff K, Fitzpatrick TB, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 7th edition. New York: McGraw Hill, 2008: 383-395.

Worret WI, Fluhr JW. Acne therapy with topical benzoyl peroxide, antibiotics and azelaic acid. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2006; 4: 293-300.

Wright S. Essential fatty acids and the skin. *British Journal of Dermatology* 1991; 125: 503-15.

Wüthrich B. Epidemiology of the allergic diseases: are they really on the increase? *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 1989; 90 3-10.

Yardley H, Summerly R. Lipid composition and metabolism in normal and diseased epidermis. *Pharmacological Therapy* 1981; 13: 357-83.

Yilmaz E. Entwicklung phytosphingosinhaltiger, positiv geladener Nanoemulsionen zur dermalen Applikation [Dissertation]. Berlin: FU Berlin; 2005

Zavascki A, Goldani L, Li J, Nation R. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2007; 60: 1206-15.

Zhai H, Fautz R, Fuchs A, Branco N, Maibach H. Assessment of the subclinical irritation of surfactants: a screening open assay model. *Exogenous Dermatology* 2002; 1: 238-41.

IX ANHANG

1. Tabellenverzeichnis

Tabelle III.1	Hunde der Studie	52
Tabelle IV.1	Anzahl der auf der Hautoberfläche bereits vorhandenen kokkenförmigen Bakterien vor der Behandlung	63
Tabelle IV.2	Bakterienanzahl auf der Hautoberfläche von gesunden und allergischen Hunden im Verlauf der Studie	66
Tabelle IV.3	Anzahl adhärierter Bakterien nach der Inkubation mit Staphylokokkensuspension von Korneozyten gesunder und allergischer Hunde im Verlauf der Studie	70

2. **Abbildungsverzeichnis**

Abb. II.1 Abbau von Ceramid zu Sphingosin (modifiziert nach MELNIK, 2006)	44
Abb. II.2 Strukturformeln verschiedener Sphingoidbasen (modifiziert nach MELNIK, 2006)	45
Abb. IV.1 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche in der Inguinalgegend und an den Pinnae bei allergischen Hunden vor der Behandlung	64
Abb. IV.2 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche in der Inguinalgegend und an den Pinnae bei gesunden Hunden vor der Behandlung	64
Abb. IV.3 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche von allergischen Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten	67
Abb. IV.4 Bakterienanzahl [n] auf der Hautoberfläche von gesunden Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten	67
Abb. IV.5 Zahl der adhärenierten Kokken (Bakterienzahl [n]) bei allergischen Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten	71
Abb. IV.6 Zahl der adhärenierten Kokken (Bakterienzahl [n]) bei gesunden Hunden in der Inguinalgegend und an den Pinnae zu den drei Probenahmezeitpunkten	71

3. Verzeichnis der verwendeten Geräte

Bezeichnung	Herstellerbezeichnung	Hersteller	Sitz des Herstellers
Brutschrank	Function Line	Heraeus®	Hanau, Deutschland
Densimat	Densimat	bioMérieux	Marcy L'Etoile, Frankreich
Mikrometer- Raster	Olympus WHN 10X-H	Olympus Imaging Europa GmbH	Hamburg, Deutschland
Mikroskop	Olympus BX 51	Olympus Imaging Europa GmbH	Hamburg, Deutschland
Photometer	Uvikon XS	BioTek Instruments Inc.	Vermont, USA
Pipettierhilfe	accu-jet® pro	Brand	Wertheim, Deutschland
Pipettierhilfe 10 µl	Research	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
Pipettierhilfe 100 µl	Reference	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
Pipettierhilfe 1000 µl	Reference	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
Pipettierhilfe 200 µl	Reference	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
Vortexer	Vortex Genius 3	IKA®	Staufen, Deutschland
Zentrifuge	Centrifuge 5810 R	Eppendorf Zentrifugen GmbH	Leipzig, Deutschland

4. Verzeichnis der verwendeten Materialien

Bezeichnung	Herstellerbezeichnung	Hersteller	Sitz des Herstellers
ADH-Test	Diatabs TM	Inverness Medical	Köln, Deutschland
Brain Heart Infusion	BHI, Hirn-Herz-Bouillon	Merck KG VWR	Darmstadt, Deutschland
Blutagar	Microbiology-Blut-Agar (Basis)	Merck KG VWR	Darmstadt, Deutschland
Chlorhexidin-Phytosphingosin-Shampoo	Douxo [®] Chlorhexidine PS	Sogeval	Laval, Frankreich
Einmal-Küvetten	1,5 ml halbmikro	Brand	Wertheim, Deutschland
Erlenmeyerkolben	250 ml Duran [®]	Schott	Mainz, Deutschland
Glasküvette	100 ml	Schott	Mainz, Deutschland
Handschuhe	Gentle Skin [®] grip	Meditrade [®]	Kiefersfelden, Deutschland
ID 32 STAPH	ID 32 STAPH	bioMérieux [®] SA	Lyon, Frankreich
Klebeplättchen	D-squame [®]	CuDerm Corporation	Dallas, TX, USA
Klebstoff	PolyGlass	Polysciences Inc.	Warrington, USA
Klebstreifen	Tesafilm [®]	Tesa AG	Hamburg, Deutschland
Laborfolie	Parafilm "M" [®]	Pechiney Plastic Packaging	Chicago, IL, USA
Methylenblau	Methylenblau	Merck KG VWR	Darmstadt, Deutschland
Nähragar	Standard-I-Nähragar (Basis)	Merck KG VWR	Darmstadt, Deutschland
Objektträger	Assistent [®] Elka Objektträger	Glaswarenfabrik Karl Hecht KG	Sondheim, Deutschland
Phosphate Buffered Saline	PBS	Im Institut hergestellt	München, Deutschland

Bezeichnung	Herstellerbezeichnung	Hersteller	Sitz des Herstellers
Pipettenspitzen	Biosphere [®] Filter Tips 10 µl type Eppendorf	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen	Biosphere [®] Filter Tips 100 µl type Eppendorf/Gilson	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen	Biosphere [®] Filter Tips 1000 µl type Eppendorf/Gilson	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland
Placebo-Shampoo	Dermazyme [®] Losham [™]	CEVA Tiergesundheit	Düsseldorf, Deutschland
Plastikdosen	clip & close	EMSA Werke	Emsdetten, Deutschland
Reagenzgläser	Duran	Schott	Mainz, Deutschland
Reagiergefäße	1,5 ml Microtube	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland
Spritzwasserflasche	250 ml	Kautex Maschinenbau GmbH	Bonn, Deutschland
Wasserabweisender Stift	Liquid Blocker Super Pap Pen	Science Services	München, Deutschland
Zentrifugenröhrchen	15 ml Centrifuge tube	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland
Zentrifugenröhrchen	50 ml Centrifuge tube	Sarstedt	Nümbrecht, Deutschland

5. Danksagung

Herrn Prof. Ralf Müller möchte ich herzlich danken für die Überlassung des interessanten Themas, vor allem aber für seine stets freundliche Unterstützung, Geduld, Hilfsbereitschaft und dafür, dass er immer ein offenes Ohr für seine Doktoranden hatte.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Christiane Werckenthin, die mir in der Mikrobiologie stets tatkräftig und hilfsbereit zur Seite stand und mich mit ihrem Fachwissen und ihren guten Ideen stark unterstützte. Auch allen weiteren Mitarbeitern des mikrobiologischen Instituts möchte ich für ihre Hilfe danken, insbesondere Herrn Prof. Dr. Märtlbauer und Herrn Dr. Wolf für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Bei Frau Prof. Katrin Hartmann möchte ich mich sehr dafür bedanken, dass ich die Möglichkeit bekommen habe, diese Arbeit in der Medizinischen Kleintierklinik durchführen zu können. In der Klinik fand ich immer hilfsbereite Menschen, die mir bei den Probenahmen und beim Shampooieren der Hunde zur Hand gingen. Hierbei denke ich besonders an die tierärztlichen Fachangestellten, die Studierenden und meine Kollegen aus der Dermatologie. Vielen Dank hierfür. Natürlich sollen hier auch die Hundebesitzer genannt sein, ohne die diese Studie nie zustande gekommen wäre, und die trotz verzweifelter Blicke von Seiten der durchnässten Vierbeiner diese für vier Badetage zur Verfügung stellten.

Frau Dr. Carola Sauter-Louis half uns durch ihre Unterstützung bei der statistischen Auswertung sehr weiter. Dafür sei ihr hiermit sehr gedankt.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinem Dermatologiekollegen Georg Lehner, der mir bei allen nur erdenklichen Problemen zur Seite stand und die langen Zählstunden am Mikroskop sehr viel erträglicher machte. Ein großes Dankeschön auch an Andrés, der mir durch den Dschungel der Technik half und immer irgendeine Lösung und aufmunternde Worte fand.

Meinen Eltern möchte ich danken für ihre bei weitem nicht nur finanzielle Unterstützung während meines gesamten Studiums und während der Durchführung der Doktorarbeit.