

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller

**Die Evaluierung einer semiquantitativen
Beurteilungsmethode zytologischer Präparate
der Haut**

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

von Svenja Christina Budach

aus Frankfurt am Main

München 2011

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Müller

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil Sinowatz

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meinen Eltern und Heiko

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Haut	3
1.1.	Allgemeines.....	3
1.2.	Aufbau	3
1.2.1.	Epidermis	3
1.2.1.1.	<i>Stratum basale</i>	4
1.2.1.2.	<i>Stratum spinosum</i>	4
1.2.1.3.	<i>Stratum granulosum</i>	4
1.2.1.4.	<i>Stratum corneum</i>	4
1.2.2.	Dermis	5
1.2.2.1.	Haarfollikel.....	6
1.2.2.2.	Blutgefäße	6
1.2.3.	Subkutis	7
1.3.	Funktion	7
1.3.1.	Mechanische Funktion	7
1.3.2.	Antimikrobielle Funktion.....	7
1.3.3.	Temperaturregelung	8
1.3.4.	Vitamin D Produktion	8
1.3.5.	UV Schutz	9
1.3.5.1.	Filaggrin	9
1.3.5.2.	Melanozyten und Melanosomen	10
1.3.6.	Immunologische Funktion.....	10
1.3.6.1.	Skin Immune System (SIS).....	10
1.3.6.2.	Zellen des Immunsystems	11
2.	Zytologie als diagnostisches Mittel	14
2.1.	Bedeutung in der Dermatologie	14
2.2.	Indikation	14
2.3.	Probennahme	15
2.3.1.	Abklatschpräparat.....	15
2.3.2.	Tesafilm.....	16
2.3.3.	Tupferprobe	16

2.3.4.	Feinnadelaspiration/Feinnadelbiopsie.....	16
2.4.	Bearbeitung der Proben.....	18
2.4.1.	Fixierung.....	18
2.4.2.	Färbung.....	19
2.4.2.1.	Färbeverfahren vom Romanowsky Typ.....	20
2.4.2.2.	Färbeverfahren vom Papanicolaou-Typ.....	21
2.4.2.3.	Weitere Färbeverfahren.....	22
2.5.	Beurteilung der Proben.....	22
2.5.1.	Mikroskopische Auswertung und Beurteilungsmethoden.....	22
3.	Zytologische Befunde.....	23
3.1.	Physiologische Keimflora.....	23
3.1.1.	Haut.....	24
3.1.2.	Ohr.....	25
3.2.	Pathologische Keimflora.....	27
3.2.1.	Haut.....	27
3.2.2.	Ohr.....	32
3.3.	Zellen und ihre Bedeutung.....	34
3.3.1.	Neutrophile Granulozyten.....	34
3.3.2.	Eosinophile Granulozyten.....	35
3.3.3.	Makrophagen.....	36
3.3.4.	Lymphozyten.....	36
3.3.5.	Plasmazellen.....	37
3.3.6.	Mastzellen.....	37
3.3.7.	Keratinocyten und Korneocyten.....	37
3.3.8.	Akantholytische Zellen.....	38
3.3.9.	Neoplastische Zellen.....	38
4.	Erkrankungen mit zytologisch diagnostischer Relevanz.....	39
4.1.	Entzündliche Veränderungen der Haut.....	39
4.1.1.	Bakterielle Infektion.....	39
4.1.1.1.	Ätiologie.....	39
4.1.1.2.	Klassifikation.....	39
4.1.1.3.	Diagnose.....	42
4.1.1.4.	Therapie.....	42
4.1.2.	Hefepilzinfektion.....	44

4.1.2.1.	Ätiologie.....	44
4.1.2.2.	Klinik.....	45
4.1.2.3.	Diagnose.....	45
4.1.2.4.	Therapie.....	45
4.1.3.	Sterile Entzündung	46
4.1.3.1.	Diagnose.....	47
4.1.3.2.	Therapie.....	47
4.2.	Otitis	48
4.2.1.	Otitis externa	48
4.2.1.1.	Ätiologie.....	49
4.2.1.2.	Klinik.....	51
4.2.1.3.	Diagnose.....	51
4.2.1.4.	Therapie.....	52
4.2.2.	Otitis media	54
4.2.2.1.	Ätiologie.....	54
4.2.2.2.	Klinik.....	54
4.2.2.3.	Diagnose.....	55
4.2.2.4.	Therapie.....	55
4.3.	Analbeutelentzündung.....	55
4.3.1.	Ätiologie.....	55
4.3.2.	Klinik.....	56
4.3.3.	Diagnose.....	56
4.3.4.	Therapie.....	57
4.4.	Autoimmunkrankheiten.....	57
4.4.1.	Pemphigus	57
4.4.1.1.	Ätiologie.....	57
4.4.1.2.	Klinik.....	58
4.4.1.3.	Diagnose.....	58
4.4.1.4.	Therapie.....	59
4.5.	Infektionskrankheiten.....	60
4.5.1.	Leishmaniose.....	60
4.5.1.1.	Ätiologie.....	60
4.5.1.2.	Klinik.....	61
4.5.1.3.	Diagnose.....	62
4.5.1.4.	Therapie.....	63

4.6.	Neoplasien	64
III.	MATERIAL UND METHODEN	65
1.	Vorbereitungsphase	65
1.1.	Probengewinnung.....	65
1.2.	Auswahl der Präparate	66
1.3.	Auswahl der Fotografien.....	66
2.	Beurteilung.....	67
2.1.	Untersucher und Gruppeneinteilung	67
2.2.	Beurteilungsmethode.....	68
2.3.	Durchführung	68
3.	Dokumentation	69
4.	Übereinstimmungskriterien	69
4.1.	Individuelle Reproduzierbarkeit.....	69
4.2.	Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher	69
5.	Statistik.....	70
IV.	ERGEBNISSE	71
1.	Untersucher.....	71
2.	Anzahl der Beurteilungen.....	72
2.1.	Präparate.....	72
2.2.	Fotografien	73
3.	Ergebnisse der prozentualen Auswertung.....	73
3.1.	Individuelle Reproduzierbarkeit.....	73
3.1.1.	Präparate.....	73
3.1.2.	Fotografien	76
3.1.3.	Kategorien	78
3.1.3.1.	Präparate.....	78
3.1.3.2.	Fotografien	79
3.2.	Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher	81
3.2.1.	Präparate.....	81
3.2.2.	Fotografien	82
3.2.3.	Kategorien	84
3.2.3.1.	Präparate.....	84

3.2.3.2.	Fotografien	86
4.	Ergebnisse der deskriptiven Statistik.....	87
4.1.	Individuelle Reproduzierbarkeit.....	87
4.1.1.	Präparate.....	87
4.1.2.	Fotografien	88
4.2.	Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher	89
4.2.1.	Präparate.....	89
4.2.2.	Fotografien	90
V.	DISKUSSION	93
1.	Teilnehmer und Untersuchungsbedingungen.....	93
2.	Untersuchungsmethode und Auswertung.....	95
3.	Erfahrungsgrad	96
4.	Individuelle Reproduzierbarkeit	97
4.1.	Präparate.....	97
4.2.	Fotografien	98
4.3.	Kategorien	99
5.	Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher.....	100
5.1.	Präparate.....	101
5.2.	Fotografien	104
5.3.	Kategorien	106
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	108
VII.	SUMMARY.....	110
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	112
IX.	ANHANG	149
1.	Tabellenverzeichnis.....	149
2.	Abbildungsverzeichnis.....	155
3.	Formblatt zur Dokumentation der Ergebnisse	166
X.	DANKSAGUNG	167

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°	Grad	° C	Grad Celsius
µm	mikrometer	%	Prozent
®	registrierte Marke	ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
APC	Antigenpräsentierende Zellen (engl. antigen presenting cells)	BID	zweimal täglich (lat. bis in die)
C.	<i>Candida spp.</i>	ca.	circa
CD	cluster of differentiation	cm	zentimeter
d	Tag (engl. day)	DBP	Vitamin D Bindungsprotein
DIN	Deutsche Industrie-Norm	DLE	Diskoidaler Lupus erythematodes
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. Desoxyribonucleic acid)	G	Gauge
H & E	Hämatoxylin & Eosin	IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin	kg	kilogramm
M	<i>Malassezia spp.</i>	MC1 – R	Melanokortin 1 Rezeptor (engl. Melanocortin 1 receptor)
mg	milligramm	MHC	Major Histocompatibility Complex
min	Minuten	ml	milliliter
mm	millimeter	MNP-System	mononukleäres Phagozytose-System
MSH	Melanozyten stimulierendes Hormon (engl. melanocyte stimulating hormone)	Nr.	Nummer
P.	<i>Pseudomonas spp.</i>	PCR	Polymerase Kettenreaktion (engl. polymerase Chain Reaction)
PE	Pemphigus erythematosis	PF	Pemphigus foliaceus
pH	pondus Hydrogenii	PNP	paraneoplastischer Pemphigus
PPP	Panepidermaler pustulöser Pemphigus	PSD	primäre seborrheische Dermatitis
RNA	Ribonukleinsäure (engl. ribonucleic acid)	S.	<i>Staphylokokkus spp.</i>
SA	Standardabweichung	SIS	Skin Immune System
SLE	Systemischer Lupus erythematodes	SSD	sekundäre seborrheische Dermatitis
Th 1	T-Helferzelle 1	Th 2	T-Helferzelle 2

UV	Ultraviolett	v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel		

I. EINLEITUNG

Dermatologische Erkrankungen sind ein häufiger Vorstellungsgrund in der Kleintierpraxis. EVANS et al. zeigten schon 1974, dass Haut und Ohrenprobleme zu den häufigsten internistischen Krankheiten für einen Tierarztbesuch zählen (EVANS et al., 1974). Zahlreiche Studien haben dies im Laufe der Zeit bestätigen können (SCOTT & PARADIS, 1990; HILL et al., 2006).

Der erste diagnostische Schritt im Rahmen einer ausführlichen dermatologischen Untersuchung ist die genaue Adspektion und Beurteilung des klinischen Zustand des Tieres inklusive, wenn vorhanden, der Charakterisierung von Läsionen. Eine zentrale Rolle für den Behandlungserfolg spielt die Bestätigung oder der Ausschluss von Infektionen. Durch Informationen aus der Anamnese können zusätzlich Hinweise auf die möglicherweise zugrundeliegende Krankheit gewonnen werden und eine Beteiligung von sekundären Erregern ist häufig (SCOTT & PARADIS, 1990).

Um Infektionen zu erkennen, ist die zytologische Untersuchung die wichtigste Routineuntersuchung in der dermatologischen Diagnostik und erlaubt eine gewisse Charakterisierung der beteiligten Keime und Zellen. Die Durchführung ist sehr einfach und kann ohne aufwendige Spezialausrüstung in jeder Praxis realisiert werden. Es entstehen für den Besitzer keine hohen Kosten und auch die Auswertung nimmt nicht viel Zeit in Anspruch, so dass sie problemlos im Rahmen der täglichen Sprechstunde ihre Anwendung finden kann. Die Informationen, die mittels einer zytologischen Untersuchung erhoben werden können, sind für das weitere Vorgehen, für Therapie und Prognose von entscheidender Bedeutung (CHRISTOPHER et al., 2008).

Es gibt einige Studien, die sich mit der Keimflora von Haut und Ohren und der Erstellung von Richtlinien beschäftigen, bis oder ab wann eine Keimzahl physiologisch oder pathologisch ist (RAUSCH & SKINNER, 1978; GINEL et al., 2002; TATER et al., 2003). Die Basis der Ergebnisse bildet die zytologische Untersuchung, teilweise in Kombination mit einem kulturellen Nachweis (COLE et al., 1998; COLOMBO et al., 2007). Die endgültige Entscheidung über die initiale Therapie sollte jedoch immer unter Berücksichtigung des Vorberichts, der klinischen Präsentation und der zytologischen Befunde erfolgen (ANGUS, 2004).

Anhand der zytologischen Befunde kann man entscheiden, ob weiterführende diagnostische Tests, wie zum Beispiel (z.B.) eine bakterielle Kultur (bei Vorliegen von stäbchenförmigen Bakterien) oder die Entnahme einer Biopsie indiziert sind (ANGUS, 2004; MORRIS, 2004; SHARKEY et al., 2007; ZAMANKHAN MALAYERI et al., 2010). In der Regel sind bei Infektionen von Haut oder Ohren Kontrollbesuche notwendig, wobei die zytologische Evaluierung Aufschluss über den Erfolg und die erforderliche Dauer der Therapie geben kann. Die Befunde werden in der täglichen Praxis regelmäßig anhand einer semiquantitativen Skala eingeteilt. Es gibt in der Literatur allerdings keine Studie, die entsprechende Beurteilungsmethoden ausführlich, bezogen auf Reproduzierbarkeit oder Eignung für die Praxis, untersucht.

Das Ziel dieser Arbeit war es, eine semiquantitative Beurteilungsmethode zur Evaluierung zytologischer Präparate hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit zu untersuchen. Die Reproduzierbarkeit der Beurteilungsmethode wurde anhand von Ergebnissen derselben Personen, sowie anhand der Ergebnisse verschiedener Personen in der Beurteilung zytologischer Präparate am Mikroskop und der Beurteilung von Fotografien analysiert.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Haut

1.1. Allgemeines

Die Haut ist das größte Organ und spielt als die äußerste Hülle des Körpers eine sehr wichtige Rolle. Die Aufgaben und Funktionen von diesem größten Regelwerk sind entsprechend vielfältig und es ist essentiell für die Homöostase und für das Überleben des Organismus. Die unterschiedlichen Funktionen sind häufig eng miteinander verbunden, und auch das Mikroklima auf der Hautoberfläche wird von mehreren Faktoren (biologischen, chemischen, physikalischen) und dem Verhältnis zueinander bestimmt (NOLI, 2008). Die Temperaturregulation, Regulation des Wasserhaushaltes und der Schutz vor schädlichen Agentien sind nur einige der Aufgaben dieses wichtigen Körperorgans (NOLI & SCARAMPELLA, 2004; BOWDISH et al., 2005).

1.2. Aufbau

Die Haut besteht aus drei Schichten. Sie setzt sich zusammen aus der Epidermis (Oberhaut), der Dermis (Lederhaut) und der Subkutis (Unterhaut).

1.2.1. Epidermis

Die Epidermis schützt den Organismus vor mechanischen, thermischen, chemischen und biologischen Faktoren (LIEBICH, 1999). Sie ist aus drei verschiedenen Schichten und aus einer am Übergang zur Dermis liegenden Membran aufgebaut. Die einzelnen Abschnitte sind das *Stratum basale* (Basalzellschicht) mit der *Membrana basalis* (Basalmembran), das *Stratum spinosum* (Stachelzellschicht), das *Stratum granulosum* (Körnerzellenschicht) und die oberste Schicht, das *Stratum corneum* (Hornschicht). Die Zellen der Epidermis sind die Keratinozyten (Epithelzellen), die sich innerhalb der Schichten in verschiedenen Stadien der Differenzierung befinden (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Sie entspringen der *Membrana basalis* und wandern durch die einzelnen Abschnitte zum *Stratum corneum*, wo sie als Korneozyten, ihrem terminalen Stadium, abgeschilfert werden. In der Epidermis befinden sich keine Blutgefäße, deshalb erfolgt ihre Versorgung durch Diffusion der Nährstoffe aus der Dermis.

1.2.1.1. *Stratum basale*

Das *Stratum basale* ist die unterste Schicht der Epidermis. Sie wird durch die *Membrana basalis* von der Dermis getrennt und übernimmt wichtige Funktionen als Keimschicht der Keratinozyten, Diffusionsbarriere und Schutz der tieferliegenden Strukturen. Das *Stratum basale* besteht aus runden Keratinozyten, die über Desmosomen miteinander und über Hemidesmosomen mit der Basalmembran verbunden sind (LIEBICH, 1999; NOLI, 2008).

1.2.1.2. *Stratum spinosum*

Das *Stratum spinosum* ist in den meisten Bereichen sehr dünn und besteht häufig aus nur einer Schicht Keratinozyten. Diese sind größer als im *Stratum basale* und haben eine polygonale Form. Die Pfotenballen haben im Gegensatz zu anderen Körperbereichen ein sehr dickes *Stratum spinosum*. Auch hier sind die einzelnen Zellen über Zellfortsätze und Desmosomen miteinander verbunden (LIEBICH, 1999; MENON, 2002).

1.2.1.3. *Stratum granulosum*

Das *Stratum granulosum* ist der Ort der endgültigen Differenzierung der Keratinozyten. In behaarten Bereichen kann sich diese Schicht sehr dünn darstellen. Die Zellen sind breiter und mit Keratingranula angefüllt, und der Kern der Keratinozyten wird pyknotisch. Für diese Schicht ist die Bildung des Keratin 1 und 10 typisch (MENON, 2002; NOLI, 2008).

1.2.1.4. *Stratum corneum*

Das *Stratum corneum* ist die oberste Schicht der Epidermis und stellt den wichtigsten Schutz der Haut dar (LIEBICH, 1999). Sie besteht aus einem mehrschichtigen, verhornten Plattenepithel. Die Keratinozyten haben ihren Kern verloren und sich zu Korneozyten entwickelt (LLOYD & GARTHWAITE, 1982). Intrazelluläre Lipide ermöglichen den starken Zusammenhalt der Korneozyten und haben eine wichtige Funktion für den Schutz der epidermalen Hautbarriere und für den Wasserhaushalt der Haut (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Das *Stratum corneum* ist von einem lipophilen Schutzmantel überzogen, der sich aus Sebum und Schweiß zusammensetzt und viele wichtige Stoffe für die Abwehrfunktion der Haut enthält (LLOYD & GARTHWAITE, 1982). Die Lipide, die in das *Stratum corneum* eingelagert sind, bestehen größtenteils aus Cholesterinen, Ceramiden und Fettsäuren (STAHL et al., 2009).

Durch die Neubildung der Keratinozyten werden alte Korneozyten abgeschilfert. Es besteht ein Feedbackmechanismus, der die Regeneration steuert. Die Dicke des *Stratum corneum* korreliert negativ zur Dichte des Haarkleides, und somit haben wenig behaarte Bereiche, wie Skrotum, Achseln oder Inguinalbereich eine dickere Epidermis als behaarte Körperregionen (AFFOLTER & MOORE, 1994; LIEBICH, 1999).

Beim Menschen besteht die Epidermis aus *Stratum corneum*, *Stratum spinosum*, *Stratum lucidum*, *Stratum granulosum* und *Stratum basale*. Das *Stratum lucidum* ist beim Hund nur an den Pfotenballen und am Nasenspiegel ausgebildet (WEBB & CALHOUN, 1954). Das *Stratum corneum* ist beim Hund kompakter und dünner als beim Menschen und allen anderen Säugetieren. Es umfasst eine Dicke von durchschnittlich 13 µm (Mikrometer). Insgesamt ist die Haut des Hundes anfälliger für Infektionen als die des Menschen. Ein möglicher Grund dafür ist, dass die Hundehaut den höchsten pH (pondus Hydrogenii)-Wert aufweist. Es ist bekannt, dass ein niedriger pH eher eine antibakterielle Wirkung zeigt als ein hoher pH (DRAIZE, 1942; WEBB & CALHOUN, 1954; NOBLE, 1981). MASON et al. haben weiterhin aufgezeigt, dass Hunde weniger interzelluläre Substanz im *Stratum corneum* besitzen und diese Tatsache die Haut des Hundes zusätzlich anfälliger für Infektionen machen könnte (MASON & LLOYD, 1993; MASON et al., 1996).

1.2.2. Dermis

Die Dermis (Lederhaut) besteht aus kollagenen und elastischen Fasern, Blutgefäßen, Nerven, Muskeln und eingelagerten Hautanhängen wie Schweiß- und Talgdrüsen, sowie Haarfollikeln (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Beim Menschen ist die Dermis in zwei Schichten unterteilt: das *Stratum papillare* und das *Stratum reticulare*. Diese Unterteilung gibt es beim Hund nur an den Pfotenballen und am Nasenspiegel.

Das *Stratum papillare* erfüllt mechanische, nutritive, immunologische, kreislaufregulatorische und sensorisch-sensible Aufgaben. Kollagene und elastische Fasern ziehen in einem lockeren Geflecht durch die Lederhaut und sind durchsetzt von Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Mastzellen (LIEBICH, 1999).

Das *Stratum papillare* ist eng mit der Basalmembran der Epidermis verflochten und bildet somit die strukturelle Grundlage der hohen mechanischen Stabilität der äußeren Schicht der Haut. Zusätzlich fördert sie die Diffusion von Nährstoffen in das gesamte Epithel (LIEBICH, 1999).

Das *Stratum reticulare* ist relativ zell- und gefäßarm, und nur kleine Arterien und Venen passieren das Geflecht aus kollagenen und elastischen Fasern, die in dieser Schicht dichter und kompakter angeordnet sind (LIEBICH, 1999; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Kollagenfasern werden von Fibroblasten produziert und bestehen zu 90 % aus Typ I und Typ III Fasern. Elastinfasern stellen circa (ca.) 4 % der dermalen Fasern dar. Die elastischen Fasern ermöglichen bei Zug, dass die Haut wieder in die ursprüngliche Form zurück gelangen kann, und schützen so vor Risswunden.

1.2.2.1. Haarfollikel

Haarfollikel oder Haarbälge sind Einstülpungen des epidermalen Gewebes. Sie sind von einer inneren und äußeren Haarwurzelscheide umgeben. Sie liegen in der Dermis und sind in Gruppen angeordnet. Jedes Haar besitzt eine eigene Wurzel. Ein Haarfollikel beinhaltet in der Regel ein Primärhaar (Leithaar) und ist von büschelförmigen dünneren, feineren Haaren umgeben. Zusätzlich sind Talg- und Schweißdrüsen sowie die Haarbalgmuskulatur mit dem Haarfollikel verbunden. Die Drüsen münden in den mittleren Teil des Follikels (AFFOLTER & MOORE, 1994; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Der Haarbalgrund setzt sich aus Epithelzellen und Melanozyten zusammen, die für die Pigmentierung der Haare verantwortlich sind (NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

1.2.2.2. Blutgefäße

Die Blutversorgung der Haut wird durch drei Gefäßgeflechte gewährleistet. Es gibt ein oberflächliches, ein mittleres und ein tiefes Netz.

Das oberflächliche Netz versorgt die Epidermis und die Haarbalgtrichter, das mittlere den Haarfollikelhals, die Talgdrüsen und die Muskulatur der Dermis und das tiefe Netz die Haarpapillen, sowie die Schweißdrüsen der Dermis. Aus dem tiefen Plexus ziehen Arteriolen senkrecht durch die Schichten der Dermis und verzweigen sich oberflächlich zu einem Netzwerk (LIEBICH, 1999).

1.2.3. Subkutis

Die Subkutis (Unterhaut) besteht aus einem lockeren, unregelmäßig angeordnetem Bindegewebe. Sie verbindet die Dermis verschieblich mit Faszien und Muskulatur. Die Subkutis ist vaskularisiert und reich an Fettgewebe. Das Ausmaß der Fettansammlung ist tierartlich unterschiedlich (LIEBICH, 1999; NOLI, 2008). Die Fetteinlagerungen dienen als Energiereserven und Kälteschutz, sowie als Polsterung an mechanisch besonders beanspruchten Stellen, wie Ballen oder Ellbogen (LIEBICH, 1999). Es sind auch elastische Fasern und Muskelzüge eingelagert, die der Straffung der Haut dienen (LIEBICH, 1999).

1.3. Funktion

1.3.1. Mechanische Funktion

Das Fell, das kompakte *Stratum corneum*, die kollagenen und elastischen Fasern schützen den Organismus. Im Fall von Verletzungen zeichnet sich die Haut durch ihre schnelle Wundheilungsfähigkeit aus. Das *Stratum corneum* ist von einem wasserundurchlässigen Lipidfilm überzogen und bietet zusätzlich Schutz (NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

1.3.2. Antimikrobielle Funktion

Der antimikrobielle Schutz der Haut wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst und gesteuert. Fettsäuren, pH-Wert, Eisen-bindende Proteine und antimikrobielle Peptide, sowie Sphingosine spielen eine Rolle (BOWDISH et al., 2005; BRAFF et al., 2005; LEE et al., 2006).

Sphingosine sind Bestandteile des *Stratum corneum*, die durch die enzymatische Zerstörung von Ceramiden freigesetzt werden und eine antibakterielle und antifungale Wirkung haben (BIBEL et al., 1992). Das Transferrin bindet Eisen, welches die Bakterien für ihre Proliferation benötigen würden (BULLEN et al., 1978). Die Fettsäuren schützen die Haut ebenfalls vor der Kolonisierung der Bakterien (MASON et al., 1996; NOLI, 2008).

Antimikrobielle Peptide spielen ebenfalls eine große Rolle im Abwehrsystem der Haut gegen Bakterien, Viren und Pilze und dienen als Mediatoren im Entzündungsgeschehen mit Einfluss auf die Entzündungszellen, Wundheilung und die Produktion von Zytokinen (LEE et al., 2006).

Sie werden im *Stratum spinosum* und *granulosum* gebildet und in das *Stratum corneum*, ihren Wirkungsort transportiert (LEE et al., 2006). Wenn die Haut verletzt wird oder eine Infektion entsteht wird die Produktion der Peptide hochreguliert. Sie verursachen eine lokale Entzündungsreaktion, und aktivieren Mechanismen der zellulären und adaptiven Immunität (BRAFF et al., 2005). Die Peptide haben in vitro eine deutliche antimikrobielle Aktivität, werden aber beim Menschen in vivo relativ leicht durch physiologische Salzkonzentrationen deaktiviert (GOLDMAN et al., 1997).

Die lipophile Schutzschicht auf der Haut besteht aus Lipiden und dem Sekret der Talg- und Schweißdrüsen (LIEBICH, 1999). Es gibt zwei Arten von Schweißdrüsen. Die apokrinen oder epitrichialen Drüsen liegen stets an den Haarbälgen, in die sie einmünden, und die ekkrinen oder atrichialen Drüsen kommen auch im Bereich von nicht behaarten Hautarealen vor und münden frei an der Hautoberfläche (LIEBICH, 1999). Das Sekret der apokrinen Drüsen ist wässrig und enthält Abwehrfaktoren wie z.B. Antikörper. Das Sekret der ekkrinen Drüsen benetzt die haarlosen Stellen und verleiht z.B. den Ballen Griffigkeit auf glatten Flächen (NOLI, 2008).

Die Talgdrüsen sind exokrine und holokrin sezernierende Drüsen. Die Synthese des Talgs (Sebum) erfolgt an der Basis der Drüse aus sich schnell teilenden Epithelzellen. Sebum wird aus Fettsäuren, Cholesterinen und Triglyzeriden synthetisiert. Die Drüsen sind ebenfalls in der Umgebung von Haaren angeordnet und münden in den Haarfollikel (LIEBICH, 1999).

1.3.3. Temperaturregelung

Die Haut spielt in der Temperaturregulation eine wichtige Rolle. Bei den Säugetieren trägt das Fell, das subkutane Fettgewebe und die dermale Vaskularisierung zur Konstanthaltung der Körpertemperatur bei (LIEBICH, 1999; NOLI, 2008). Je nach äußeren Bedingungen kann die Wärme durch Vasodilatation abgegeben oder durch Vasokonstriktion zurückgehalten werden (NOLI, 2008).

1.3.4. Vitamin D Produktion

Beim Menschen und vielen anderen Haussäugetieren erfolgt die Vitamin D Produktion in der Haut durch die Wirkung des UV (Ultraviolett) Lichts der Sonne. In der Nahrung ist Vitamin D als *Ergocalciferol* (Vitamin D₂) in Pflanzen

und als *Cholecalciferol* (Vitamin D3) in tierischen Geweben vorhanden. Diese beiden Formen werden durch UV Licht aus *Ergosterin* (Provitamin D2) und 7 – *Dehydrocholesterol* (Provitamin D3) gebildet. Das Vitamin D wird im Blut an das Vitamin D Bindungsprotein (DBP) gebunden und in der Leber zu 25-*Hydroxycholecalciferol* (*Calcidiol*) und anschließend in der Niere zu 1,25-*Dihydroxycholecalciferol* (*Calcitriol*) hydroxyliert, welches den biologisch aktiven Metaboliten darstellt (ENGELHARDT & BREVES, 2005).

Bei Hund und Katze wurde jedoch gezeigt, dass nur unzureichend Vitamin D in der Haut produziert wird und diese Tierarten auf die exogene Zufuhr über die Nahrung angewiesen sind (HOW et al., 1994; MORRIS, 1999b). Hunde und Katzen haben eine vergleichsweise niedrige Konzentration an 7 – *Dehydrocholesterol* (Provitamin D3) (HOW et al., 1994). Auch durch gezielte Stimulierung mit UV Licht wurde die Vitamin D Produktion bei Hund und Katze nicht angeregt (HOW et al., 1995).

1.3.5. UV Schutz

1.3.5.1. Filaggrin

Filaggrine sind wichtige histidinreiche Proteine für die endgültige Differenzierung der epidermalen Keratinozyten (DURAI SWAMY et al., 1994; LEE et al., 2006). Filaggrin wird in den letzten Schritten der Keratinozytendifferenzierung durch Dephosphorylierung von Profilaggrin gebildet (PRESLAND et al., 1997; PRESLAND et al., 2000). Das N-terminale Ende der Filaggrine kann in den Kern der Keratinozyten eindringen und spielt eine entscheidende Rolle in der Pyknose des Kerns (ISHIDA-YAMAMOTO et al., 1998; PEARTON et al., 2002). Im *Stratum corneum* wird Filaggrin zu Aminosäuren und anderen Komponenten abgebaut.

MILDNER et al. untersuchten die Aufgaben und Funktionen von Filaggrin, in dem sie die Expression dieser in vitro ausschalteten und die Zellen daraufhin untersuchten. Das Fehlen von Filaggrin reduzierte die Konzentration an Urocaninsäure und erhöhte die UV Empfindlichkeit der Keratinozyten. Urocaninsäure spielt eine wichtige Rolle in der Absorption von UV Strahlen im *Stratum corneum* (ZENISEK et al., 1955). Filaggrin ist vermutlich die Hauptquelle von Urocaninsäure im *Stratum corneum* und hat somit eine entscheidende Funktion für den Schutz vor UV Licht (MILDNER et al., 2010).

1.3.5.2. Melanozyten und Melanosomen

Melanozyten sind pigmentbildende Zellen. Sie kommen vor allem in der Epidermis vor, aber auch in Haarfollikeln oder im Auge (NOLI, 2008; PLONKA et al., 2009). Sie stellen ca. 8 - 10 % der epidermalen Zellen dar. Melanozyten exprimieren den Melanocortin 1 Rezeptor (MC1-R), der die Qualität und Quantität des produzierten Melanins reguliert. Die Expression von MC1-R wird vom Melanozyten stimulierenden Hormon (MSH) und dem adrenokortikotropen Hormon (ACTH) reguliert (MILLINGTON et al., 1993; PLONKA et al., 2009). Melanozyten produzieren zwei Arten von Melanin: das Eumelanin (schwarz/braun) und das Pheomelanin (rot) (KADEKARO et al., 2003). Es wird in sogenannten Melanosomen produziert und über die dendritischen Fortsätze der Melanozyten an die umliegenden Keratinozyten abgegeben (NOLI & SCARAMPELLA, 2004; TOLLESON, 2005). Ein Melanozyt kann bis zu 36 Keratinozyten versorgen, und die Verteilung ist genetisch vorbestimmt.

Die Hauptaufgabe des Melanins ist der Schutz der Epidermis und der tieferliegenden Schichten vor der UV Einstrahlung der Sonne (YAGER, 1992; NOLI, 2008). Die Keratinozyten verwenden das Melanin als eine Art Schutzwand, um ihre DNA (Desoxyribonukleinsäure) vor dem UV Licht zu schützen (MONTAGNA & CARLISLE, 1991). Das Melanin fängt Radikale ab und schränkt die Penetration von UV Licht durch die Epidermis ein, die zur oxidativen Schädigung der DNA führen kann. Zusätzlich kommt es durch die UV Strahlung zu Apoptose, Wachstumsstillstand der Zellen und Stimulation der Melanogenese (KADEKARO et al., 2003). Beim Menschen korreliert das Risiko der DNA-Schädigung und das Risiko an Krebs zu erkranken, negativ mit dem Melaningehalt in der Haut (KADEKARO et al., 2003).

1.3.6. Immunologische Funktion

1.3.6.1. Skin Immune System (SIS)

Das SIS ist eines der effizientesten Kompartimente des gesamten Immunsystems. Es umfasst Zellen wie Langerhanszellen, dendritische Zellen, Lymphozyten, Mastzellen und Endothelzellen (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Auch Keratinozyten spielen eine Rolle.

1.3.6.2. Zellen des Immunsystems

Langerhanszellen gehören zum mononukleären Phagozytosesystem (MNP-System) und wandern sekundär in die Epidermis ein (LIEBICH, 1999). Beim Menschen machen sie ca. 6 % der Epithelzellen aus (MARCHAL et al., 1995). Sie sind die wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen (APC) und enthalten spezifische intrazelluläre Organellen, die eine entscheidende Rolle bei der Phagozytose von Antigenen spielen, beim Hund jedoch nur unregelmäßig gefunden wurden (STREILEIN & BERGSTRESSER, 1984; MARCHAL et al., 1995; SCOTT et al., 1995). Nach Phagozytose des Antigens präsentieren die Langerhanszellen dieses den Lymphozyten (NOLI, 2008). Ihre Hauptfunktion ist es, die spezifische T-Zellabwehr mittels MHC (Major Histocompatibility Complex) Typ I/II Rezeptor Interaktionen zu aktivieren (YAGER, 1992).

Dendritische Zellen gehören ebenfalls zu den APC's und liegen in der Dermis. Sie können anhand ihrer Oberflächenmoleküle von Makrophagen unterschieden werden (DURAIWAMY et al., 1994).

Die Lymphozyten spielen eine außerordentlich wichtige Rolle im Immunsystem der Haut. Sie sind teilweise in der Epidermis und teilweise in der Dermis lokalisiert (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Lymphozyten produzieren entweder Antikörper (B-Lymphozyten), sind im Rahmen der zellulären Immunantwort an der Produktion von Zytokinen, Antigenpräsentation oder Zerstörung von schädlichen Noxen beteiligt oder senden Stimuli für weitere Zellen aus. Die T-Lymphozyten werden anhand ihrer Oberflächenantigene in CD (cluster of differentiation) 4+ und CD8+ - Lymphozyten unterteilt.

Welche Gruppe der Lymphozyten stimuliert wird, ist von den Molekülen des MHC-Komplexes auf den antigenpräsentierenden Zellen abhängig. Es gibt MHC Typ I und den MHC Typ II. MHC Typ I kommt auf allen kernhaltigen Körperzellen vor und MHC Typ II nur auf Zellen des Immunsystems, vor allem (v.a.) auf antigenpräsentierenden Zellen, wie den Langerhanszellen und bei gewissen Krankheiten auch auf Makrophagen und B-Lymphozyten (MOORE et al., 1992; RABANAL et al., 1995; DAY, 1996).

Die CD4+ - Lymphozyten besitzen einen Rezeptor für MHC Typ II Moleküle und wandern nach Aktivierung in die regionalen Lymphknoten, wo sie die B-Lymphozyten zur Antikörperbildung anregen (MOORE et al., 1992).

Die CD8+-Lymphozyten haben einen Rezeptor für die MHC Typ I Moleküle und die Fähigkeit, zytotoxische Effekte auszulösen und fremde Antigene und andere Fremdstoffe zu vernichten (MOORE et al., 1992). Subtypen der T-Lymphozyten, die als T-Helferzelle 1 (Th 1) und T-Helferzelle 2 (Th 2) bezeichnet werden, gehören zu den CD4+ - Lymphozyten und sind wichtig für die optimale Abwehrfunktion der Haut (KEPPEL et al., 2008). Th 1 Zellen produzieren Interleukin (IL) - 2 und Interferon γ und Th 2 – Zellen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, und IL-13 (BORISH & ROSENWASSER, 1997; MOSMANN et al., 2005). Ein Gleichgewicht zwischen Th 1 und Th 2 Antwort ist wichtig für die funktionelle Abwehr der Haut.

Keratinocyten sind die Hauptzellen der Epidermis und machen ca. 85 bis 90 % der epidermalen Zellen aus (BAKER et al., 1973). Ein Teil der Zellen bildet neue epitheliale Stammzellen, und ein weiterer Teil wandert durch die verschiedenen Schichten der Epidermis und differenziert sich zu verhornten Korneocyten. Die Neubildungsrate wird über einen Feedback-Mechanismus entsprechend der Abschilferungsrate der Korneocyten gesteuert (LIEBICH, 1999). Keratinocyten können eine Reihe von immunregulatorischen und proregulatorischen Zytokinen und Mediatoren produzieren (BOS & KAPSENBERG, 1993; BREATHNACH, 1993; ALBANESI et al., 2005). Sie spielen somit auch eine wichtige Rolle in der Signalkaskade der T-Lymphozyten (Th 2 Zellen) (GOODMAN et al., 1994; NICKOLOFF & TURKA, 1994).

Mastzellen sind vor allem in den Körperorganen und Geweben zu finden, die einen besonders intensiven Kontakt zur Außenwelt haben, wie die Lunge, der Gastrointestinaltrakt und die Haut (FOREMAN, 1993). Mastzellen sind in größter Menge in der Nähe von Blutgefäßen zu finden und zeichnen sich morphologisch durch ihren Rundzellcharakter und basophile Granula aus (EMERSON & CROSS, 1965). Sie sind häufiger in der Dermis als in der Subkutis zu finden. Innerhalb der Haut variiert die Dichte an verschiedenen Körperstellen. Die höchste Dichte wurde histologisch an den Pinnae und in der Haut der Interdigitalräume (EMERSON & CROSS, 1965; AUXILIA & HILL, 2000) nachgewiesen. Die Mastzellen enthalten viele verschiedene Zytokine und weitere Mediatoren, die durch Stimuli gebildet oder frei gesetzt werden. Zu ihnen zählen unter anderem Histamin (HUNTLEY, 1992; DE MORA et al., 1993), Tryptase (SCHECHTER et al., 1988; MYLES et al., 1995), Chymase (SCHECHTER et al.,

1988), Leukotriene (MARSELLA & NICKLIN, 2001) und Tumor Nekrose Faktor α (THOMAS et al., 1996). Mastzellen haben IgE (Immunglobulin E) Antikörper auf ihrer Zelloberfläche, (HALLIWELL, 1973) und der wichtigste Mechanismus für eine Degranulation, und somit die Freisetzung der Mediatoren ist das sogenannte „Cross-linking“ zweier IgE Moleküle (HILL, 1998). Die Verknüpfung erfolgt durch Bindung eines Antigens. Mastzellen spielen eine wichtige Rolle bei Entzündungs- und Hypersensitivitätsreaktionen vom Sofort- und vom verspäteten Typ (BENYON, 1989; MARONE et al., 1989; HUNTLEY, 1992). Durch die Freisetzung der Mediatoren werden verschiedene Kaskaden in Gang gesetzt. An den Endothelzellen kommt es zur Diapedese der zirkulierenden Lymphozyten und zur Vasodilatation und Ödembildung (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die Zytokine werden nach der Mastzelldegranulation gebildet und spielen bei der akuten Reaktion eine untergeordnete Rolle (GORDON et al., 1990; SCHWARTZ, 1994). Sie haben eine wichtige Funktion in der Vaskularisierung, Proliferation und der Heilung von Geweben (FOLKMAN, 1986; NORRBY et al., 1986; HILL, 1998). Mastzellen von Ratten, Schafen und Menschen zeichnen sich, bezogen auf ihre Inhaltsstoffe, Funktionen oder biochemischen Eigenschaften, durch ihre Heterogenität in den unterschiedlichen Geweben aus. Es wird vermutet, dass auch die kaninen Mastzellen einen heterogenen Charakter haben, allerdings ist die Bedeutung noch nicht ausreichend erforscht (BECKER et al., 1985; HILL, 1998). Die Differenzierung der Mastzelle wird durch verschiedene T-Zell Zytokine (IL-3, IL-4, IL-9, IL-10) und Stammzellfaktoren der Fibroblasten und Knochenmarkszellen beeinflusst (SMITH & RENNICK, 1986; SCHMITT et al., 1987; HULTNER et al., 1989; MOELLER et al., 1989; TSUJI et al., 1990; THOMPSON-SNIPES et al., 1991). Vorstufen der Mastzellen kommen im peripheren Blut vor. Sie entwickeln sich in den entsprechenden Geweben zu reifen Mastzellen weiter (KITAMURA et al., 1979; ZUCKER-FRANKLIN et al., 1981; SONODA et al., 1982).

2. Zytologie als diagnostisches Mittel

Der Begriff Zytologie umfasst die Lehre der Zelle, ohne Einschränkung ihrer Herkunft oder ihrer Anordnung (SHELLY, 2003). In der Veterinärmedizin wird dieser Begriff allgemein für die Entnahme und Beurteilung von Zellen, aber auch von Bakterien und Pilzen verwendet.

2.1. Bedeutung in der Dermatologie

In der Veterinärmedizin allgemein, und in besonderem Maße in der Dermatologie und Onkologie stellt die Zytologie ein unverzichtbares diagnostisches Instrument dar. Sie ist ein minimal invasives, einfach durchzuführendes und kostengünstiges Verfahren, welches wertvolle Informationen für die Diagnosestellung, Therapie und Prognose liefern kann (COWELL et al., 2008). Für eine präzise Interpretation spielt nicht nur die Erfahrung und Fähigkeit des Untersuchers eine Rolle. Auch die korrekte Probennahme und Probenbearbeitung sind wichtige Voraussetzungen für ein aussagekräftiges Ergebnis.

Im Rahmen einer Umfragestudie klinischer Pathologen wurde gezeigt, dass die Zytologie in der veterinärmedizinischen Praxis am häufigsten zur Diagnose von Lipomen und Mastzelltumoren, sowie zur Untersuchung von Ohren, Haut und der Vagina eingesetzt wird (CHRISTOPHER et al., 2008).

Die zytologische Untersuchung von oberflächlichen Läsionen ersetzt nicht die Histopathologie, ermöglicht aber dem Untersucher den Erhalt wichtiger Informationen, die hilfreich bei der Planung des weiteren Vorgehens sind (SHELLY, 2003).

2.2. Indikation

Die Indikationen für die Entnahme einer Probe zur zytologischen Untersuchung sind vielfältig. Es obliegt der Verantwortung und fachlichen Kompetenz des Tierarztes, vor der Durchführung abzuwägen, welche Informationen die Untersuchung liefern kann, und ob sie hilfreich für die weitere Diagnosestellung sind. Vorteile und Nachteile sowie Kosten und Nutzen sollten gegeneinander abgewogen werden (SHARKEY et al., 2007). Die Zytologie ist ein minimal invasives Verfahren, welches, korrekt eingesetzt, sehr wertvolle Ergebnisse liefern kann (SHELLY, 2003).

In der dermatologischen Praxis ist die häufigste Indikation die Untersuchung einer möglichen Infektion von Haut und Ohren sowie die Abklärung von Umfangsvermehrungen der Haut. In manchen Fällen lassen sich nur durch die Interpretation von einfachen zytologischen Präparaten Rückschlüsse auf die zugrundeliegende Erkrankung ziehen.

2.3. Probennahme

Es gibt einige wichtige Kriterien, die vor einer Probennahme unbedingt beachtet werden sollten, um den diagnostischen Erfolg und die Aussagekraft der zytologischen Präparate zu optimieren (SHARKEY et al., 2007). Die Entscheidung, welche Probenentnahmetechnik gewählt wird, ist abhängig von der klinischen Präsentation der Läsionen. Es sollte eine Methode gewählt werden, die am Wahrscheinlichsten die gewünschten Informationen liefern wird. Die Diagnosestellung ist maßgeblich von der Art und Weise der Probennahme abhängig (COWELL et al., 2008). Es gibt die Möglichkeit, ein Abklatschpräparat, eine Tesafilm- oder eine Tupferprobe anzufertigen. Zur Untersuchung von Umfangsvermehrungen ist die Feinnadelaspiration/-biopsie die Methode der Wahl.

2.3.1. Abklatschpräparat

Abklatschpräparate sind besonders bei nässenden oder ulzerativen Läsionen, Krusten oder Pusteln auf der Haut indiziert, und ebenfalls außerhalb der Dermatologie, bei der Untersuchung von intraoperativ gewonnenen Gewebeproben innerer Organe (MEINKOTH & COWELL, 2002; MENDELSON et al., 2006).

Die häufigsten Befunde von Abklatschpräparaten der Haut sind Bakterien oder Hefepilze, sowie Entzündungszellen. Neoplastische Zellen können in gleicher Weise gefunden werden, allerdings ist bei entsprechendem Verdacht eine negative Probe nicht beweisend. Es ist möglich, dass sich die relevanten Zellen nicht an der Oberfläche präsentieren und eine Probe aus tieferen Gewebeschichten ratsam ist (MEINKOTH & COWELL, 2002). Die Anfertigung einer Abklatschzytologie ist sehr einfach. Ein sauberer Objektträger aus Glas wird vorsichtig auf die Läsion gedrückt und anschließend gleich wieder entfernt. Der Objektträger sollte auf der Läsion nicht hin und her bewegt werden, um die Zellen zu schonen (COWELL et al., 2008).

Eine entsprechende Beschriftung des Objektträgers ist unbedingt notwendig, um eine Verwechslung zu vermeiden.

2.3.2. Tesafilm

Die Tesafilmprobe eignet sich besonders, um Material von trockenen und schuppigen Stellen zu gewinnen. Körperstellen, die mit dem Objektträger nicht oder nur schwer zugänglich sind, wie z.B. Interdigitalräume oder Gesichtsfalten, lassen sich sehr einfach mit dieser Methode beproben. Hefepilze (*Malassezia (M.) pachydermatis*) kann man mit dieser Methode besonders gut nachweisen (BENSIGNOR et al., 2002). Die Durchführung stellt keine hohen Anforderungen an den Untersucher. Ein ca. vier Zentimeter (cm) langer, handelsüblicher Tesafilmstreifen wird zwischen Daumen und Mittelfinger gespannt, so dass die klebende Seite zum Tier zeigt. Mit dem freien Zeigefinger lässt sich der Streifen auf die zu beprobenden Stellen drücken und das Material von der Haut gewinnen (FAERGEMANN, 1989; MENDELSON et al., 2006). Anschließend wird der Tesafilm auf einen Objektträger geklebt, und es folgt die weitere Probenbearbeitung, wie Färbung und mikroskopische Interpretation.

2.3.3. Tupferprobe

Eine Tupferprobe ist an Körperstellen indiziert, die ähnlich wie bei der Tesafilmprobe mit einem Objektträger nicht zugänglich sind, und einen eher feuchten und nässenden Charakter aufweisen. Die Gehörgänge, die Pfoten, Fistelgänge sowie Läsionen in der Mundhöhle oder Körperfalten können mit dieser Technik beprobt werden (MEINKOTH & COWELL, 2002). Im Anschluss an die Probennahme wird der Tupfer vorsichtig auf dem Objektträger abgerollt und somit das Material aufgebracht. Auch hier sollte man darauf achten, dass das Material nicht hin und hergestrichen wird, um eine Zerstörung der Zellen zu vermeiden. (MEINKOTH & COWELL, 2002). Vor der Beprobung der Gehörgänge sollte sichergestellt werden, dass zuvor keine Ohrmedikamente oder Ohrreiniger angewendet wurden.

2.3.4. Feinnadelaspiration/Feinnadelbiopsie

Die Feinnadelaspiration stellt in der Hautdiagnostik die Methode der Wahl dar, um Umfangsvermehrungen oder Zubildungen zu Beginn näher zu untersuchen. Auch Lymphknoten, Speichel- oder Milchdrüsen sowie innere Organe lassen sich mit dieser Technik beproben (MEINKOTH & COWELL, 2002).

Sie bietet dem Untersucher die Möglichkeit, Zellen oder Mikroorganismen zu beurteilen, die in tieferen Gewebeschichten liegen und sich nicht auf einer Abklatschzytologie abbilden (COWELL et al., 2008). Die Ausrüstung für die Durchführung befindet sich normalerweise in jeder Praxis. Sie besteht aus einer sterilen Kanüle, einer Spritze und mehreren Objektträgern. Die Wahl der Kanülen- und Spritzengröße orientiert sich am zu beprobenden Gewebe. Umso weicher das Gewebe, umso kleiner sollte im Allgemeinen die Wahl der Kanülen- oder Spritzengröße ausfallen. Wenn die Struktur des Gewebes dem Untersucher nicht bekannt ist, wird empfohlen, eine zwölf Milliliter (ml) Spritze und eine 22 Gauge (G) Kanüle zu wählen (MEINKOTH & COWELL, 2002).

Eine sterile Vorbereitung der Punktionsstelle ist nur im Falle der Entnahme einer bakteriologischen Kultur notwendig (MEINKOTH & COWELL, 2002).

Es gibt zwei Verfahren der Durchführung dieser Methode: eine Variante mit Aspirationstechnik (Feinnadelaspiration) und eine Variante ohne Aspiration (Feinnadelbiopsie). Beide Vorgehensweisen eignen sich, um zufriedenstellende Ergebnisse zu erzielen. Die zu punktierende Umfangsvermehrung wird mit der einen Hand fixiert, mit der anderen Hand wird, wie eingangs erwähnt, entweder nur mit einer Kanüle oder mit einer Kanüle inklusive aufgesetzter Spritze die Punktion durchgeführt. Bei der Feinnadelaspiration sollte mehrmals hintereinander kurz aspiriert werden. Es ist sinnvoll, mehrere Bereiche des Knotens zu beproben und mehrere (fünf bis sechs) Präparate anzufertigen, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, ein aussagekräftiges Präparat zu erhalten. Es gibt viele Gründe für nicht-diagnostische Präparate: das Verfehlen des Knotens, die Beprobung von nicht aussagekräftigen Bereichen (z.B. eine Entzündung oder Nekrose im Rahmen eines neoplastischen Geschehens) oder die Zerstörung der Zellen während der Probennahme.

Zusätzlich gilt es zu beachten, dass die Kanüle während der Punktion nicht durch den Knoten hindurch sticht. Wenn das Ende der Nadel durch die Haut nach aussen dringt, kann es durch die Aspiration von Luft und Verlust des Vakuums in der Spritze zu einer Gewebeaspiration in das Innere der Spritze kommen, oder zu einer Kontamination der Kanüle durch den Kontakt mit der äußeren Umgebung (MEINKOTH & COWELL, 2002). Dringt die Nadel in tiefer gelegenes Gewebe ein, besteht die Möglichkeit, Tumorzellen in die tieferen Hautschichten oder Gefäße zu verbringen und die Metastasenbildung zu begünstigen.

2.4. Bearbeitung der Proben

Die weitere Bearbeitung verläuft je nach Art der Probe ähnlich oder in gleicher Weise ab.

Die Tesafilmprobe bedarf keiner speziellen Vorbereitung für den Färbeprozess. Das Material der Feinnadelaspiration/-biopsie muss nach dem Aufbringen auf den Objektträger ausgestrichen werden. Das Ziel ist der Erhalt einer einlagigen Zellschicht, um optimale Voraussetzungen für die Interpretation zu schaffen (MEINKOTH & COWELL, 2002; COWELL et al., 2008).

Wenn das Material relativ fest ist, wird die „Slide-over-Slide“- Methode empfohlen. Hierbei wird ein sauberer Objektträger im rechten Winkel auf den Objektträger mit dem Material gelegt, und das Material der Länge nach ausgestrichen (Abbildung 1). Alternativ ist es möglich, falls das gewonnene Material einen eher flüssigen Charakter hat, dieses wie eine Blutprobe auszustreichen (Abbildung 2) (NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

2.4.1. Fixierung

Bevor die zytologischen Präparate angefärbt werden können, müssen sie fixiert werden (mit Ausnahme des Tesafilmpräparates). Das Fixieren ermöglicht eine optimale Aufnahme der Farbstoffe durch die Zellen und Mikroorganismen und obendrein hat es eine stabilisierende Wirkung (BOON, 1986). Abhängig von der erwünschten Färbemethode gibt es Kriterien, die bei der Fixierung beachtet werden müssen. Es gibt drei verschiedene Möglichkeiten, wie ein Präparat für die Färbung vorbereitet werden kann. Man unterscheidet zwischen der „Trocken“- , der „Nass“- , und der „rehydrierten“ Fixierung.

„Trockenfixierung“ bedeutet, dass die Präparate luftgetrocknet werden und im trockenen Zustand in die Fixierlösung eingetaucht werden (COWELL et al., 2008). Diese Methode wird verwendet als Vorbereitung für alle Färbemethoden vom Romanowsky-Typ und ihren Modifikationen, wie z.B. Wright's Färbung, Giemsa Färbung oder May-Grünwald Färbung. Methanol ist hierbei die am häufigsten verwendete Fixierlösung (BALES & DURFEE, 1992). Häufig werden die Proben vor der Fixierung mit Methanol zusätzlich hitzefixiert. Die Hitzefixierung ist bei manchen Autoren umstritten (GRIFFIN et al., 2007). Es gibt eine Studie, welche die Notwendigkeit der Hitzefixierung bei Ohrtupferproben widerlegt (TOMA et al., 2006).

Andere Autoren vertreten die Meinung, dass es das Abwaschen des Materials während des Färbvorgangs verhindert, und befürworten diese Methode (GRIFFIN, 1993; HARVEY et al., 2001). Die Fixierung kann mit Bunsenbrenner, Feuerzeug oder Streichholz erfolgen, indem die Flamme für ca. fünf Sekunden unter dem Objektträger hin und her bewegt wird (MENDELSON et al., 2006). Auch ein Föhn kann verwendet werden.

Die „Nassfixierung“ und die „rehydrierte Fixierung“ sind notwendig, wenn man die Papanicolaou oder Hematoxylin & Eosin (H & E) Färbung anwenden möchte. Bei der Nassfixierung werden die Präparate direkt nach der Probennahme in die Fixierlösung überführt. Eine Trocknung muss möglichst verhindert werden, da sie zu irreversiblen Schäden der Zellen führen kann. Ein minimaler Grad an Trocknung lässt sich allerdings nie verhindern und wird paradoxerweise als notwendig erachtet, damit die Zellen am Objektträger haften können (SCHULTE, 1986).

Die „rehydrierte Fixierung“ wird als Alternative zur beschriebenen „nassen Fixierung“ betrachtet. Sie ermöglicht die Anwendung der Papanicolaou oder H & E Färbung bei schon angetrockneten Präparaten. Diese Präparate dürfen allerdings nicht älter als 30 Minuten (min) sein. Sie werden mit physiologischer Kochsalzlösung rehydriert und anschließend wie bei den vorherigen Methoden mit Alkohol fixiert (CHAN & KUNG, 1988; GUPTA et al., 2003). GUPTA et al. demonstrierten, dass die Qualität der Papanicolaou Färbung nach der „rehydrierten Fixierung“ vergleichbar ist zur konventionellen „Nassfixierung“ (GUPTA et al., 2003).

Falls die Proben zur Beurteilung an ein professionelles Labor geschickt werden sollen, sollte man auf eine Fixierung oder Anfärbung verzichten, damit die beurteilenden Personen die Art der Färbemethode selbst bestimmen können (COWELL et al., 2008).

2.4.2. Färbung

Die Anfärbung der Präparate ist für die Interpretation unverzichtbar. Sie dient dem Sichtbarmachen von Zellen und Mikroorganismen, sowie der Darstellung der Kontraste und diagnostisch relevanten Details (HOLLANDER, 1975). Allgemein kann man sagen, dass sich ein Präparat umso schneller adäquat anfärben lässt, umso dünner das Material ausgestrichen und umso niedriger die Protein-

konzentration ist (COWELL et al., 2008). Es gibt eine vielfältige Auswahl an Färbemethoden, aber für den Bereich der Zytologie sind vor allem zwei Verfahren von herausragender Bedeutung. Beide Methoden sind grundlegend verschieden und sollen im Folgenden besondere Beachtung finden.

In der Veterinärmedizin werden am häufigsten und fast ausschließlich Färbeverfahren vom Romanowsky Typ angewendet. In der Humanmedizin wird die Papanicolaou Färbung routinemäßig durchgeführt, und auch die daraus entstandene H & E Färbung findet verbreitete Anwendung (JORUNDSSON et al., 1999; COWELL et al., 2008).

2.4.2.1. Färbeverfahren vom Romanowsky Typ

Dieses Färbeverfahren und seine Modifikationen werden in der veterinärmedizinischen Praxis am häufigsten angewendet. Die Methoden sind einfach durchzuführen, benötigen kein besonderes Inventar und sind aufgrund der erhältlichen Schnellfärbeverfahren zeit- und kostengünstig (COWELL et al., 2008). Zu dieser Gruppe gehören Färbungen wie die Wright's Färbung, Giemsa-Färbung oder die May-Grünwald Färbung. Schnellfärbemethoden wie Diff-Quik oder Hemacolor basieren auf dem gleichen Prinzip (JORUNDSSON et al., 1999). Die kommerziell erhältlichen Färbelösungen enthalten zwei verschiedene Farbstoffe in einer oder in zwei separaten Färbelösungen. Der rote Farbstoff (Eosin Y) färbt die Zellkerne rötlich-violett, und der blaue Farbstoff (Methylenblau, Thiazin oder Azur B) färbt das Zytoplasma und Mikroorganismen in blauer Farbe an.

Die in den Zellen enthaltenen Granula nehmen Blau-, Rot-, oder Violetttöne an. Die Entstehung der Violetttöne wird als sogenannter „Romanowsky-Effekt“ bezeichnet und kommt durch das Zusammenwirken der beiden Farbstoffe zustande (WITTEKIND, 1983). Kombinierte Lösungen enthalten eosinsaures Methylenblau (FEICHTER & DALQUEN, 2000). Zuverlässigkeit und Qualität der kommerziell erhältlichen Schnellfärbekits (Diff Quik, Hemacolor) konnte in zahlreichen Studien bestätigt werden (O'KEEFE et al., 1985; KRUGER et al., 1987; KELLOGG et al., 1996). Dieses Verfahren ist die Methode der Wahl, um Entzündungsreaktionen und Mikroorganismen zu beurteilen, da diese Mikroorganismen und Leukozyten sehr gut dargestellt werden können (SILVERMAN & FRABLE, 1990; JORUNDSSON et al., 1999). Es ist in vielen

Fällen ausreichend geeignet, entzündliche von neoplastischen Veränderungen abgrenzen zu können, was für das therapeutische und diagnostische Vorgehen von herausragender Bedeutung ist (JORUNDSSON et al., 1999; COWELL et al., 2008). Ein potentieller Nachteil für die Routinediagnostik besteht darin, dass die metachromatischen Granula der Mastzellen sich teilweise nur unzureichend anfärben lassen und somit mit Plasmazellen oder Makrophagen verwechselt werden können (COWELL et al., 2008).

Das Anfärben von einem Tesafilmpräparat kann erzielt werden, indem man ein bis zwei Tropfen der blauen Färbelösung auf den Objektträger aufträgt und den Tesafilm mit der klebenden Seite über die Farbstofftropfen auf den Objektträger klebt (NOLI & SCARAMPELLA, 2004; MENDELSON et al., 2006).

2.4.2.2. Färbeverfahren vom Papanicolaou-Typ

Wie an vorangegangener Stelle schon erwähnt, werden diese Färbemethoden in der veterinärmedizinischen Routinediagnostik nicht angewendet. In der Humanmedizin werden sie jedoch in der Zytopathologie verwendet (COWELL et al., 2008). Die H & E Färbung ist die Standardfärbung in der Histopathologie (ROESSNER et al., 2004).

Die Papanicolaou Färbung ermöglicht eine exzellente Detaildarstellung der Kernstrukturen (COWELL et al., 2008). Für die Beurteilung von Zytoplasma oder Mikroorganismen ist sie allerdings nur begrenzt geeignet (COWELL et al., 2008). Die Papanicolaou- und H & E Färbung funktionieren nach einem ähnlichen Prinzip. Die Papanicolaou Färbung ist eine Trichromfärbung und die H & E Färbung eine Bichromfärbung (HOLLANDER, 1975; ROSZEL et al., 1978).

Gemeinsam ist ihnen, dass die basische Färbelösung (Hämatoxylin bzw. Hämalan) die sauren Bestandteile der DNA oder Ribonukleinsäure (RNA), die sich im Kern befinden, blau anfärbt und die saure Farblösung (Eosin) das Zytoplasma mit seinen basischen Proteinen rot anfärbt (HOROBIN, 1986; JAMES, 1986). Es gibt keine chemische Reaktion zwischen den einzelnen Farbstoffen (JORUNDSSON et al., 1999). Der Unterschied zwischen der H & E Färbung und der Papanicolaou Färbung ist die Anzahl sich anschließender Färbvorgänge. Um die H & E Färbung abzuschließen, wird eine weitere Färbung durchgeführt. Bei der Papanicolaou Färbung sind noch zwei weitere Durchgänge nötig.

Die Papanicolaou-Färbung dient dem besonderen Hervorheben der Keratinisierung von Plattenepithelien (COWELL et al., 2008). Für die Papanicolaou Färbung werden insgesamt fünf Farbstoffe und drei Farblösungen verwendet. Insgesamt besteht die Farbpalette aus Rot, Orange, Gelb, Grün, Blau und Violett. Auch für dieses Verfahren gibt es Schnellfärbe- (PAK et al., 1983; JONES, 1996) und Ultraschnellfärbetechniken (YANG & ALVAREZ, 1995), die akzeptable Resultate erzielen können. Die Haltbarkeit der Präparate und die Farbqualität sind der der konventionellen Papanicolaou Färbung zwar unterlegen, aber die schnellen Methoden eignen sich zur Stellung von z.B. intraoperativen Schnell Diagnosen (FEICHTER & DALQUEN, 2000).

2.4.2.3. Weitere Färbeverfahren

Es gibt weitere Färbemethoden, die allerdings für die Routinediagnostik in der Veterinärmedizin eine untergeordnete Rolle spielen.

Die Gramfärbung ist relativ zeitaufwendig und liefert in der Regel, zumindest in der dermatologischen Praxis, keine über die durch Schnellfärbungen hinaus gehenden relevanten Informationen (MENDELSON et al., 2006). Färbemethoden wie die säurefeste Ziehl-Neelsen Färbung zum Nachweis von Mykobakterien und anderen säurefesten Erregern, werden in professionellen Laboratorien durchgeführt (SCOTT et al., 2001b).

2.5. Beurteilung der Proben

Die endgültige Beurteilung und Interpretation einer zytologischen Probe sollte niemals nur anhand eines Gesichtsfeldes erfolgen, sondern einen Gesamteindruck widerspiegeln (SHELLY, 2003; COWELL et al., 2008). Für die Interpretation sollte der Untersucher den einzelnen Zellen und eventuell vorhandenen Mikroorganismen, deren Anzahl und Charakteristika genügend Aufmerksamkeit schenken (SHELLY, 2003).

2.5.1. Mikroskopische Auswertung und Beurteilungsmethoden

Es existieren unterschiedliche Methoden, eine zytologische Probe mikroskopisch auszuwerten. Allerdings gibt es, soweit bekannt, keine hinreichenden Studien über die Evaluierung verschiedener Beurteilungsmethoden. Eine häufig im Rahmen von Studien angewendete Beurteilungsmöglichkeit ist, sich mit einer kleineren Vergrößerung (z.B.100fache oder 400fache Vergrößerung) einen Überblick über

das gesamte Präparat zu verschaffen und im Anschluss Bereiche mit viel Material unter einer größeren Vergrößerung genauer zu beurteilen (GINEL et al., 2002; ANGUS, 2004; TOMA et al., 2006; COWELL et al., 2008).

Die 400fache Vergrößerung eignet sich zur Identifizierung von Entzündungszellen und Mikroorganismen, und die 1000fache Vergrößerung sollte verwendet werden, um kleinere Details zuverlässiger evaluieren zu können (CHICKERING, 1988).

Der erste Schritt in der Beurteilung einer Zytologie sollte sein, dass man sich einen Überblick verschafft über die Anzahl und Morphologie der Bakterien, die Anzahl der Hefen, die Anzahl und Art der vorhandenen Entzündungszellen, das Vorkommen von Parasiten, phagozytiertem Material oder neoplastischen Zellen (WILSON, 1985; AUGUST, 1986b; WOODY & FOX, 1986). Wenn Zellen vorhanden sind, muss man zwischen entzündlichen und nicht entzündlichen und/oder neoplastischen Zellen differenzieren. Wenn es sich um ein entzündliches Geschehen handelt, versucht man dieses näher zu klassifizieren. Die Entzündungszellen, die am häufigsten vorkommen, bestimmen die Einteilung der Entzündung (THRALL, 2000).

3. Zytologische Befunde

Zytologische Untersuchungsbefunde können dem Untersucher wertvolle Informationen bezüglich des vorliegenden Krankheitsgeschehens liefern und helfen, die korrekten diagnostischen und therapeutischen Schritte einzuleiten. Eine kompetente Interpretation der Präparate bedarf einiger Vorkenntnisse über die physiologische und pathologische Keimflora der Haut und Ohren oder der Beschaffenheit des Gewebes, welches beprobt wurde (CHICKERING, 1988). Zusätzlich ist es unverzichtbar, das klinische Erscheinungsbild des Patienten in seine Diagnosestellung mit einzubeziehen (ANGUS, 2004).

3.1. Physiologische Keimflora

Es gibt eine Vielzahl an Untersuchungen über die physiologische Keimflora der Haut und Ohren von Hund und Katze. Die Ergebnisse stützen sich teilweise auf zytologische Befunde und teilweise zusätzlich auf die Ergebnisse von Kulturen. Es gibt jedoch keine einheitlich geltende Definition über die Mengenangaben, bis oder ab wann ein Befund als physiologisch oder pathologisch anzusehen ist.

3.1.1. Haut

Das Vorkommen von Keimen auf der Haut ist physiologisch. Es ist nicht immer leicht oder eindeutig zu entscheiden, ob ein isolierter Keim eine Kontamination darstellt oder ob es sich um eine tatsächliche Besiedlung handelt, ohne dass man das klinische Bild kennt (ALLAKER et al., 1992). Allgemein lässt sich sagen, dass Bakterien, wie Staphylokokken oder Streptokokken, sowie Hefen, wie Malassezien oder *Candida*, die am häufigsten anzutreffenden Kommensalen auf der Haut von Hund und Katze sind. In einer Studie wurden insgesamt zehn gesunde Hunde über einen Zeitraum von einem Jahr monatlich beprobt, und COX et al. konnten bei allen Hunden *Staphylokokkus (S.) intermedius* isolieren. Bei neun von zehn Tieren war das Bakterium durchgehend an zwölf Körperstellen zu finden. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass *S. intermedius* bei vielen Hunden zur physiologischen Keimflora gezählt werden kann (COX et al., 1988). Der Keim spielt allerdings ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Haut- und Ohrinfektionen (FAZAKERLEY et al., 2009). Bei *S. intermedius* hat man herausgefunden, dass es sich hierbei eher um eine Bakteriengruppe als um ein einzelnes Bakterium handelt. Diese Bakteriengruppe umfasst mindestens drei individuelle Stämme, wobei der Stamm der bei Hund und Katze hauptsächlich gefunden wird, kürzlich in *S. pseudintermedius* umbenannt wurde (DEVRIESE et al., 2005). Es ist wahrscheinlich, dass es sich bei der Isolierung von *S. intermedius* oftmals um den Keim *S. pseudintermedius* handelte (FAZAKERLEY et al., 2009; FITZGERALD, 2009).

ALLAKER et al. untersuchten ebenfalls das Vorkommen von *S. intermedius* und Koagulase negativen Staphylokokken an unterschiedlichen Körperstellen auf der Haut und an den Haaren bei zehn gesunden Hunden. In geringer Anzahl konnten auch Mikrokokken, Streptokokken und gramnegative Bakterien isoliert werden (ALLAKER et al., 1992). Die größte Gesamtbakterienzahl fand man auf der Haut am Abdomen. Hier war die Zahl der Koagulase positiven Bakterien verhältnismäßig hoch. An den Haaren von Schulter und Rumpf wurde die größte Zahl Koagulase negativer Staphylokokken isoliert (ALLAKER et al., 1992).

Die Ergebnisse aus aktuelleren Studien zeigen ähnliche Ergebnisse. *S. intermedius* war der mit Abstand am häufigste isolierte Keim auf der Haut gesunder Hunde (92 % und 37 %). Weitere Bakterien wie *S. aureus* (16 %), *S. schleiferi spp. coagulans* (5 %) wurden ebenfalls isoliert, aber mit wesentlich geringerer

Häufigkeit (GRIFFETH et al., 2008; FAZAKERLEY et al., 2009). Die Methicillinresistenz dieser Keime lag bei 0 % (*S. aureus*), 3 % (*S. schleiferi* spp. *coagulans*) und 50 % (*S. intermedius*) (GRIFFETH et al., 2008).

Wie bereits erwähnt sind auch Hefepilze wie Malassezien und *Candida* Bestandteil der physiologischen Keimflora. In der Hundepopulation sind z.B. der Basset Hound und der Beagle besonders häufig Träger dieser Keime (BOND & LLOYD, 1997). Die bevorzugten Körperstellen für die Besiedlung mit Malassezien bei gesunden Hunden sind Anus, Ohr, Zwischenzehenspalt, Unterlippe und Gesichtsfalten (BOND et al., 1995).

Bei Vergleichsuntersuchungen bezüglich der Keimpopulation der Haut von gesunden und kranken Hunden wurde bei 51,6 % der gesunden Hunde Malassezien gefunden und bei 97 % der Fälle handelte es sich um *M. pachydermatis* (NARDONI et al., 2004). Andere Malassezien-Spezies, wie *M. furfur*, konnten ebenfalls bei den gesunden Hunden isoliert werden. Diese wurden jedoch häufiger bei kranken Tieren und meistens in Kombination mit *M. pachydermatis* gefunden. Bei der Katze konnte keine Reinkultur mit einer Spezies erfasst werden (RAABE et al., 1998; NARDONI et al., 2004).

COLOMBO et al. untersuchten die bräunlichen Beläge an der Krallenfalz von 46 gesunden Katzen auf das Vorkommen von Malassezien. Bei 61% der beprobten Katzen waren Malassezien auf der Zytologie vorhanden. Devon Rex Katzen hatten eine deutlich größere Menge an Malassezien und waren in 100 % der Fälle positiv. Keine der Katzen zeigte Symptome bezüglich ihrer Krallen, und auch die Untersuchung der Krallen ergab keine Auffälligkeiten. Somit kann die Malassezienpopulation als physisologisch angesehen werden (COLOMBO et al., 2007). In weiteren Studien wurden auch andere Malassezienspezies von Haut, Ohren oder Schleimhaut bei gesunden Katzen isoliert. Die isolierten Spezies umfassten *M. sympodialis* (BOND et al., 1996; BOND et al., 1997), *M. globosa* (BOND et al., 1997) und *M. furfur* (BOND et al., 1997; CRESPO et al., 1999, 2002).

3.1.2. Ohr

Das gesunde Ohr enthält Cerumen, welches physiologischerweise eine Mischung aus abgeschilferten, verhornten Epithelzellen (Korneozyten) und öligem Sekret der Zeruminal- und Talgdrüsen ist. Im Rahmen der zytologischen Untersuchung

und Färbung eines normalen Sekrets färben sich nur die Korneozyten basophil an (GRIFFIN, 1981; VAN DER GAAG, 1986; ANGUS, 2004). Manchmal rollen sich diese Zellen auch zigarrenförmig zusammen oder sind scherbenförmig. Häufig sieht man Melaningranula auf den Epithelzellen. Diese sind gelblich-bräunlich und sollten nicht mit Bakterien verwechselt werden (ANGUS, 2004). Das Vorhandensein von Keimen muss auch im Ohr nicht zwingend mit einem Krankheitsgeschehen einhergehen. In der Regel korreliert die Pathogenität mit der Anzahl der vorhandenen Keime.

Die Mikroorganismen, die in einem gesunden Ohr gefunden werden können, sind, wie auf der Haut, beispielsweise Malassezien und Koagulase negative und Koagulase positive Bakterien. *S. intermedius* (FAZAKERLEY et al., 2009), *S. aureus* (SHARMA & RHODES, 1975)) und β -hämolyisierende Streptokokken konnten in einigen Studien isoliert werden (GRIFFIN, 1981; ANGUS, 2004; GRIFFIN et al., 2007). Stäbchenförmige Bakterien, mit der Ausnahme von Corynebakterien, werden in der Regel nicht im gesunden Ohr gefunden (WOODY & FOX, 1986; KOWALSKI, 1988; HARVEY et al., 2001).

In weiteren Studien wurden teils sehr unterschiedliche Keimvorkommen dokumentiert. Bei Hunden ohne Otitis wurden in 7 bis 96 % der Fälle Hefen und in 9,6 bis 47,0 % der Fälle Kokken gefunden. Bei der Katze gingen die Zahlen von 4 bis 83 % für das Vorhandensein von Hefen und bis zu 71 % für das Vorhandensein von Kokken (BOND et al., 1995; GREENE, 1998; CRESPO et al., 2002; TATER et al., 2003; CAFARCHIA et al., 2005). Es gibt insgesamt verhältnismäßig wenige Berichte über die zytologischen Untersuchungen bei gesunden Katzen (TATER et al., 2003). Die Prävalenz für das Vorhandensein von Malassezien bei Katzen war höher als bei gesunden Hunden (CAFARCHIA et al., 2005). Bei einer gesunden Katze wurde *M. sympodialis* aus dem Gehörgang isoliert (CRESPO et al., 2002).

Es wurden einige Versuche unternommen, quantitative Richtlinien zu erstellen, ab wann eine Keimzahl als pathologisch anzusehen ist (MORRIS, 1999a). Allerdings lässt sich diese Aussage nicht pauschalisieren, da Keimzahlen individuell stark variieren können.

GINEL et al. zählten die Mikroorganismen auf mehreren zytologischen Proben gesunder Ohren in insgesamt zehn Gesichtsfeldern aus und betrachteten diese

Anzahl als Normalflora. Bezogen auf die Malassezien befand sich die Grenze der physiologischen Flora von Hund und Katze bei \leq zwei Malassezien pro Gesichtsfeld (x 400) und bezogen auf Bakterien beim Hund bei \leq fünf und bei der Katze bei \leq vier Bakterien pro Gesichtsfeld (x 400) (GINEL et al., 2002). ROSYCHUK et al. geben den normalen Bereich mit 2 - 3 Malassezien pro Gesichtsfeld (x 1000) an und RAUSCH et al. sehen das Vorkommen von bis zu zehn Malassezien pro Gesichtsfeld (x 400) als physiologisch (RAUSCH & SKINNER, 1978; ROSYCHUK, 1994).

Im Vergleich unterschiedliche Keimvorkommen dokumentierten TATER et al. Es wurden ebenfalls die Ohren von gesunden Hunden und Katzen untersucht, und die Menge der hierbei gefundenen Keime war um ein vielfaches kleiner als die bisher dokumentierten. Die Autoren erklären sich diese Ergebnisse durch ihre strengen Einschlusskriterien für gesunde Tiere und/oder die größere Probenzahl. Bei den Hunden wurden durchschnittlich 0,3 Malassezien pro Gesichtsfeld (x 1000) und durchschnittlich 0 Bakterien pro Gesichtsfeld (x 1000) als physiologisch gesehen. Bei der Katzen waren 0,2 Hefen und 0,3 Kokken pro Gesichtsfeld (x 1000) zu finden. Stäbchenförmige Bakterien wurden bei keinem der Tiere gefunden (TATER et al., 2003).

3.2. Pathologische Keimflora

Die Keime, die am häufigsten an einem infektiösen Geschehen von Haut oder Ohren beteiligt sind, sind mehr oder minder die gleichen, die auch für die physiologische Keimflora besprochen wurden. Sie umfassen Hefen (*M. pachydermatis*, *Candida (C.) albicans*) und Bakterien (z.B. *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *Pseudomonas (P.) aeruginosa*) (MENDELSON et al., 2006). Eine Störung der epidermalen Abwehr, Verletzungen oder Veränderungen in der Immunkompetenz des Tieres können dazu führen, dass die Keime die Hautbarriere durchdringen und eine Infektion hervorrufen (HOLOYMOEN et al., 1982; GUILLOT & BOND, 1999; SCOTT et al., 2001b; MUELLER et al., 2002).

3.2.1. Haut

Im Vergleich zum Menschen neigen Hunde stärker zu Hautinfektionen. Zusätzlich prädisponieren gewisse Krankheiten, wie z.B. Hypothyreose, Hyperadrenokortizismus oder die atopische Dermatitis für die Entstehung von Pyodermien.

Bakterien färben sich mit einer Romanowsky Färbung Dunkelblau bzw. Lila an. Dieses Färbeverhalten ist unabhängig davon, ob sie grampositiv oder gramnegativ sind (COWELL et al., 2008). In den meisten Fällen sind bei Zytologien von Haut und Ohren die Kokken grampositiv und die Stäbchen gramnegativ. Die Bakterien erscheinen symmetrisch, gleichmäßig gefärbt und haben eine glatte Wand (ANGUS, 2004).

Staphylokokken kommen typischerweise in Haufen vor, auf der Zytologie jedoch sind sie oftmals einzeln oder paarweise anzutreffen. Sie sind kugelförmig, grampositiv und im Durchmesser zwischen 0,5 - 1,5 µm groß. Sie sind Katalase positiv und bilden keine Sporen (KOWALSKI, 1988; SELBITZ, 2002).

Streptokokken haben die Tendenz, im Gegensatz zu Staphylokokken in Ketten zu liegen (COWELL et al., 2008). Sie sind ebenfalls grampositiv und haben eine Größe von bis zu 2 µm. Sie sind fakultativ anaerob, Katalase positiv und bilden keine Sporen (SELBITZ, 2002). Als Virulenzfaktoren haben sie unter anderem eine Schleimkapsel und Glykokalix. In der Zellwand besitzen sie einen Phagozytoseschutz (SELBITZ, 2002). Streptokokken stellen primär keine Relevanz bei der Entstehung von Pyodermien und Otitiden dar. SHARMA et al. isolierten bei Tieren ohne Otitis häufiger und mengenmäßig mehr Streptokokken als bei Tieren, die an einer Otitis erkrankt waren (SHARMA & RHODES, 1975).

Stäbchenförmige Bakterien spielen eine sehr wichtige Rolle. Sie sind meistens gramnegativ. Zu dieser Gruppe gehören *Pseudomonas*, *Proteus* und *Escherichia coli*. Pseudomonaden werden häufig isoliert, sind zwischen 0,3 – 0,8 µm breit und zwischen 1,0 – 1,2 µm lang. Sie sind von großer Bedeutung, da sie eine hohe Antibiotikaresistenz aufweisen (SCOTT et al., 2001b; MEDLEAU & HNILICA, 2006). Corynebakterien sind aerobe, perlen- oder keulenartige grampositive Stäbchen. Für die Pathogenese von Infektionen sind sie zweitrangig (KOWALSKI, 1988).

Das häufigste Bakterium auf der Haut beim Hund ist *S. intermedius/pseudintermedius*, der primäre Erreger der kaninen Pyodermie (MCEWAN, 2000; PETERSEN et al., 2002; GROSS et al., 2005; MENDELSON et al., 2006). Bei der Katze ist es *S. aureus* (SELBITZ, 2002). Beim Menschen wird *S. pseudintermedius* in der Regel nicht gefunden. Der Keim zeigt somit eine gewisse Speziespezifität. *S. intermedius* haftet stärker an den kaninen Korneozyten als an

den humanen und zeigt hierbei ein besonderes starkes Anhaftungsvermögen an Korneozyten von Hunden mit atopischer Dermatitis (MCEWAN et al., 2005). *S. aureus* ist der häufigste Erreger beim Menschen (MCEWAN, 2000) und haftet stärker an den humanen Keratinozyten (SIMOU et al., 2005b). Das Muster der Anheftung unterscheidet sich zwischen Mensch und Hund. Beim Hund haftet der Keim an der gesamten Oberfläche, beim Menschen v.a. im Außenbereich der Korneozyten (SIMOU et al., 2005a).

Es gibt sehr viele Untersuchungen zur Keimpopulation auf der Haut und in den Ohren von Hunden und Katzen. IHRKE et al. untersuchten 1978 die Bakterienpopulation bei gesunden Hunden und bei Hunden mit Seborrhoe. Es wurde eine 50 x größere Menge an Bakterien bei den Hunden mit Seborrhoe gefunden. Im Rahmen dieser Untersuchung war *S. aureus* der am häufigsten isolierte Keim (IHRKE et al., 1978). Zu diesem Zeitpunkt wurde allerdings *S. pseudintermedius* noch nicht identifiziert, und es ist anzunehmen, dass viele dieser Populationen tatsächlich nicht *S. aureus*, sondern *S. pseudintermedius* waren.

PETERSEN et al. untersuchten 10811 Tupferproben von Hunden mit Haut oder Ohreninfektionen. *S. intermedius* wurde in 88,6 % der Hauttupferproben isoliert (PETERSEN et al., 2002; GROSS et al., 2005). FAZAKERLEY et al. zeigten, dass *S. intermedius* signifikant häufiger bei Hunden mit atopischer Dermatitis vorkommt (90 %) als bei gesunden Hunden, welches die Prädisposition für Hautinfektionen bei diesen Patienten erklären würde. 15 der 24 Tiere (62,5 %) hatten zum Zeitpunkt der Beprobung eine Pyodermie. Von all diesen betroffenen Stellen wurde *S. intermedius* isoliert (FAZAKERLEY et al., 2009).

In der Studie von GRIFFETH et al. wurden bei Hunden mit einer Hauterkrankung ähnliche Keime gefunden wie bei den gesunden Hunden, nur häufiger. Bei 88 % der Hunde wurden Koagulase positive Keime gefunden (*S. aureus* (12 %), *S. intermedius* (92 %), *S. schleiferi ssp.schleiferi* (10 %), und *S. schleiferi ssp. coagulans* (10 %)). Die Methicillinresistenz lag bei 17 % (*S.aureus*), 8 % (*S.intermedius*), 20 % (*S. schleiferi ssp.schleiferi*) und 10 % (*S. schleiferi ssp. coagulans*) (GRIFFETH et al., 2008). Die Vorkommenshäufigkeit von *S. pseudintermedius* auf der Haut und in den Ohren und von *P. aeruginosa* in den Ohren ist über einen Zeitraum von sechs Jahren weitestgehend stabil geblieben. Das Vorkommen von *P. aeruginosa* auf der Haut wurde mit 7,5 % als häufiger bewertet (PETERSEN et al., 2002).

Hefen, wie *M. pachydermatis* oder *C. albicans*, sind ebenfalls häufig an Infektionen der Haut beteiligt. *M. pachydermatis* ist der am häufigsten vorkommende Keim (KENNIS et al., 1996; RAABE et al., 1998; GUILLOT & BOND, 1999; BOND, 2001; SCOTT et al., 2001b; NARDONI et al., 2004). Zur Gattung der Malassezien (früher Pityrosporum) gehören zehn lipid-abhängige Arten: *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. equi*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. yamatoensis*, *M. restricta*, *M. slooffiae* und eine lipid-unabhängige Art: *M. pachydermatis* (GUEHO et al., 1996; GUILLOT & BOND, 1999; BOND, 2001; NELL et al., 2002; SUGITA et al., 2002; SUGITA et al., 2003; HIRAI et al., 2004; SUGITA et al., 2004). Die lipid-abhängigen Arten sind besonders häufig bei Großtieren und beim Menschen zu finden (GUEHO et al., 1998; DUARTE et al., 1999). Ihre Rolle bei Hund und Katze ist bisher wenig bekannt (ANGUS, 2004). *M. pachydermatis* ist die einzig lipid-unabhängige Art (GUILLOT & BOND, 1999; BOND, 2001). Sie ist jedoch lipophil, und somit kann die Zugabe von Fettsäuren das Wachstum fördern (GUILLOT & BOND, 1999). Auf dem Sabouraud's Glucose Agar bildet *M. pachydermatis* bei 32 °C (Grad Celsius) matte, konvexe und pastöse Kolonien aus, deren Oberfläche glatt und trocken ist. Nach etwa sieben Tagen sind die Kolonien im Durchmesser ca. 3-5 mm (Millimeter) groß (GUILLOT & BOND, 1999). Auf der Zytologie färben sich die Hefepilze basophil an und haben eine Größe von 2,0 x 4,0 µm bis zu 6,0 – 7,0 µm (GUILLOT & BOND, 1999; MENDELSON et al., 2006). Häufig werden die Malassezien aufgrund ihrer Form als „Erdnüsse“, „Schneemänner“ oder „Fußabdrücke“ bezeichnet. Diese Form entsteht durch die einpolige Knospung (GUILLOT & BOND, 1999; ANGUS, 2004). Sie haben eine dicke Zellwand.

Auch für das Vorkommen und die Beteiligung von Hefepilzen an Infektionen bei Hund und Katze gibt es zahlreiche Untersuchungen.

NARDONI et al. untersuchten gesunde und kranke Hunde auf das Vorliegen von Malassezien auf der Haut. Bei 67,7 % der kranken Hunde wurden Malassezien isoliert. In 97 % der Fälle handelte es sich um *M. pachydermatis*. Weitere Malassezien-Spezies konnten ebenfalls isoliert werden (NARDONI et al., 2004). RAABE et al. untersuchten eine Vielzahl an Proben (371 von Hunden, 120 von Katzen) unterschiedlichsten Materials (Haut, Ohren, Kot) und in 56 % der Ohrtupfer, 11 % der Hauttupfer und 1,5 % der Kotproben ergab die Untersuchung ein positives Ergebnis auf Malassezien. Bei insgesamt 83 % handelte es sich um

M. pachydermatis (RAABE et al., 1998).

Malassezia spp. zeigte bisher keine publizierten Resistenzen gegen Azole, aber bei *Candida* spp. wurde eine teilweise ausgeprägte Resistenzlage beobachtet (BRITO et al., 2007). Ein Fall von multiresistenten *Malassezia*en wurde kürzlich in der Medizinischen Kleintierklinik und dem Institut für Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians Universität München dokumentiert.

Eine weitere Gattung der Hefepilze, *Candida* spp., kann ebenfalls für eine Infektion der Haut verantwortlich sein. Das eigentliche Reservoir von *Candida* spp. ist der Verdauungstrakt. Dort gehört es zur physiologischen Mikroflora (HOLOYMOEN et al., 1982). Die meisten Candidainfektionen haben einen endogenen Ursprung, eine Vermehrung wird aufgrund von begünstigenden Faktoren ermöglicht (z.B. Immunsuppression, Antibiotikatherapie, Endokrinopathien, Trächtigkeit) (MORETTI et al., 2004; JADHAV & PAL, 2006). *Candida* spp. umfasst folgende Arten: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, wobei *C. albicans* in der Veterinärmedizin am häufigsten vorkommt (BRITO et al., 2009). Diese Gattung kann in geringer Zahl zur physiologischen Flora der Haut gezählt werden, kann aber auch als pathogener Keim eine Rolle spielen (UCHIDA et al., 1992; KENNIS et al., 1996). *C. albicans* und *C. parapsilosis* sind die am häufigsten isolierten Spezies (KRAL & USCAVAGE, 1960; DALE, 1972; MUELLER et al., 2002; MORETTI et al., 2004). *C. tropicalis* wurde weniger häufig isoliert, daher ist das Wissen über seine Rolle als pathogener Erreger begrenzt (YURAYART et al., 2010). Grundsätzlich ist beschrieben, dass *Candida* spp. Otitiden, Entzündungen an Nagelfalz und Haut, Mundschleimhaut, Kornea und im Harntrakt auslösen kann. Das Auftreten einer *Candida* - Endophthalmitis durch hämatogene Streuung aufgrund einer Durchfallerkrankung ist beschrieben (MCKELLAR et al., 1990; LINEK, 2004; MORETTI et al., 2004).

YURAYART et al. vergleichen das Vorkommen von *C. parapsilosis* bei Hunden mit primärer seborrhischer Dermatitis (PSD) - und bei Hunden mit sekundärer seborrhischer Dermatitis (SSD). Bei den Hunden mit PSD wurde *C. parapsilosis* signifikant häufiger gefunden. Kein Unterschied ergab sich zwischen Hunden mit PSD und den gesunden Patienten (YURAYART et al., 2010).

Insgesamt lässt sich sagen, dass die Menge der Keime (*M. pachydermatis* und *C. parapsilosis*), die an verschiedenen Körperstellen gefunden werden konnten, bei kranken signifikant größer war im Vergleich zu gesunden Tieren (CAFARCHIA et al., 2005; YURAYART et al., 2010).

3.2.2. Ohr

Ein zytologischer Befund, der im Ohr immer als pathologisch anzusehen ist, ist das Vorkommen von Entzündungszellen, da sie in gesunden Gehörgängen nicht vorkommen und dies auf eine schwerwiegende Entzündung hinweist (CHICKERING, 1988; SCOTT et al., 2001b; GINEL et al., 2002). Neutrophile Granulozyten oder Makrophagen gelangen nur durch eine exsudative Entzündung oder Ulzeration des auskleidenden Epithels in den äußeren Gehörgang oder im Rahmen einer Otitis media aus dem Innenohr (ANGUS, 2004). In seltenen Fällen können neutrophile Granulozyten auch bei nicht infektiösen Erkrankungen vorkommen, wie z.B. bei *Pemphigus foliaceus*. Hierbei können sterile Pusteln an der epithelialen Auskleidung im Gehörgang entstehen. Diese Pusteln sind sehr fragil und können klinisch als gelblich-bräunliche Krusten sichtbar sein (ANGUS, 2004).

Auch für die pathologische Keimflora der Ohren wurde versucht, Grenzwerte zu erstellen. GINEL et al. legten fest, dass beim Hund eine Malassezienzahl von mehr als fünf Malassezien pro Gesichtsfeld (x 400) und bei der Katze von mehr als zwölf pro Gesichtsfeld (x 400) und beim Hund eine Bakterienzahl größer 25 Bakterien pro Gesichtsfeld (x 400) und bei der Katze größer 15 pro Gesichtsfeld (x 400) als pathologisch anzusehen sind (GINEL et al., 2002).

Im Vergleich mit den Ergebnissen einer bakteriologischen Kultur konnten in 53,8 % der Fälle Kokken auch auf einer zytologischen Probe aus dem äußeren Gehörgang und auf 25 % der Proben aus dem Innenohr gefunden werden. Stäbchenförmige Bakterien wurden in 100 % der Proben aus dem äußeren Gehörgang auch auf der Zytologie gefunden und auf 26,3 % der Proben aus dem Innenohr (COLE et al., 1998). Die Zytologie zeigte auch im Vergleich mit der mykologischen Kultur ein gutes Maß an Spezifität, aber es kam auch vor, dass die zytologischen Ergebnisse negativ und die kulturellen positiv waren (CAFARCHIA et al., 2005). Allerdings wurde in einer Studie gezeigt, dass alle zytologisch negativen Ohren auch keine Entzündungsanzeichen aufzeigten

(MANSFIELD et al., 1990).

Die am häufigsten an einer Otitis beteiligten Keime sind Staphylokokken, Hefen und Pseudomonaden (COLE et al., 1998).

Die bakterielle Kultur ist eine häufig durchgeführte Untersuchung im Rahmen von infektiösem Krankheitsgeschehen. Bei Hunden mit Otitis externa konnten folgende Keime kultiviert werden: *S. intermedius* (88,6 %), *P. aeruginosa* (27,8 %), *Proteus mirabilis*, Corynebakterien, Enterokokken und Streptokokken (COLE et al., 1998; PETERSEN et al., 2002; ANGUS, 2004; GRAHAM-MIZE & ROSSER, 2004).

COLE et al. isolierten Keime aus dem äußeren Gehörgang sowie aus dem Mittelohr und verglichen die Keimpopulationen und die dazugehörigen Antibiogramme miteinander. Die Antibiogramme, bezogen auf *S. intermedius* aus dem horizontalen Gehörgang und dem Mittelohr stimmten in 5,3 % der Fälle überein, und in 26,3 % der Fälle unterschieden sie sich voneinander. Das Antibiogramm der Pseudomonaden stimmte in 7,9 % der Fälle aus dem äußerem Ohr und Mittelohr überein, und in 23,7 % gab es Abweichungen. In 10,5 % der Proben wurden Pseudomonaden nur im Mittelohr gefunden und nicht im äußeren Gehörgang. Bei keinem der Hunde wurden nur im horizontalen Gehörgang Pseudomonaden gefunden (COLE et al., 1998). Pseudomonaden werden häufiger bei einer chronisch rezidivierenden Otitis isoliert (DICKSON & LOVE, 1983). Die Farbe des Sekrets ist bei der Beteiligung von Pseudomonaden oftmals gelblich-grün (DICKSON & LOVE, 1983).

MARTIN BARRASA et al. untersuchten 42 Hunde mit chronischer Otitis externa und die Antibiotikaresistenz bei insgesamt 23 Pseudomonadenstämmen (MARTIN BARRASA et al., 2000). Tobramycin erzielte eine 100%ige Sensitivität, Marbofloxacin und Ceftazidime eine Sensitivität von 89,9 %, Gentamicin war bei 86,4 % der Stämme wirksam und Enrofloxacin bei 42,1 %. Die Effektivität von Enrofloxacin hat im Laufe der Jahre nachgelassen und zeigte in dieser Studie eine Wirksamkeit bei zwölf von 23 Pseudomonadenstämmen (52,3 %) (MARTIN BARRASA et al., 2000).

Malassezien sind ebenfalls sehr häufig an einer Otitis beteiligt. Wenn ein Hund oder eine Katze an einer Otitis leidet, erhält man bei zwischen 57,3 und 82 % der Hunde und bei zwischen 53 und 72,9 % der Katzen einen positiven

Malassezienbefund (COLE et al., 1998; CRESPO et al., 2002; CAFARCHIA et al., 2005; GIRAO et al., 2006). Hunde, die an einer chronischen Otitis erkrankt waren, wiesen in 65,8 % eine Beteiligung von Malassezien auf (COLE et al., 1998). In den allermeisten Fällen handelte es sich, wie auch auf der Haut, um *M. pachydermatis*. Bei 10 % der Hunde wurde *M. globosa* und bei 4,5 und 5,3 % *M. furfur* und *M. obtusa* nachgewiesen (CRESPO et al., 2000a, 2000b, 2002; CAFARCHIA et al., 2005). Bei der Katze wurden bei 8,9 % der Proben *M. sympodialis* und *M. furfur* identifiziert (CRESPO et al., 2000a, 2002). In einer weiteren Studie mit sechs Katzen und milder Otitis konnte bei allen *M. sympodialis* isoliert werden (BOND et al., 1996).

Die Pathogenität von *M. pachydermatis* ist noch umstritten, aber es wurde gezeigt, dass mittels großer Menge, nach experimenteller Inokulation, eine Otitis ausgelöst werden konnte (UCHIDA et al., 1992). In Verbindung mit Feuchtigkeit wurde allerdings auch eine Entzündung verursacht, wenn die Erreger nicht aktiv inokuliert wurden. Die Feuchtigkeit oder andere Faktoren, die das Milieu verändern (sterilisierte Sabouraud Brühe), reichten in manchen Fällen aus. Die untersuchten Proben waren am Anfang der Studie kulturell negativ und die Ohren zeigten keine Entzündungsanzeichen (MANSFIELD et al., 1990).

3.3. Zellen und ihre Bedeutung

Entzündungszellen sind ein häufiger Befund auf zytologischen Proben der Haut. Anhand der Entzündungszellen können teilweise Rückschlüsse auf die Pathogenese der Krankheit gezogen werden, wenn sie das zytologische Bild dominieren (SHELLY, 2003; MENDELSON et al., 2006). Um die Bedeutung der Zellen korrekt interpretieren zu können, sind ein ausführlicher Vorbericht und die klinische Präsentation von entscheidender Bedeutung, da es viele Krankheitsbilder gibt, die sich zytologisch ähnlich oder identisch darstellen (SHELLY, 2003).

3.3.1. Neutrophile Granulozyten

Neutrophile Granulozyten sind sehr häufig auf zytologischen Proben der Haut zu finden, und ihre Anwesenheit ist relativ unspezifisch für eine Erkrankung.

Sie sind bei infektiösen Geschehen, bei Fremdkörperreaktionen, bei immunmediertem Geschehen, bei chemischen Verletzungen, Gewebnekrosen oder auch sekundär bei Neoplasien zu finden (TYLER et al., 1999; THRALL,

2000). Das Färbeverhalten der Neutrophilen Granulozyten stellt sich mit einer dunkel-lila Färbung des Kerns dar, welcher mehr oder weniger stark segmentiert ist. Das Zytoplasma enthält intrazytoplasmatische Granula, welche sich gewöhnlicherweise nicht anfärben (COWELL et al., 2008). Hinweise auf zugrundeliegende Ursachen lassen sich teilweise anhand der Morphologie der Zellen erahnen. Sind die neutrophilen Granulozyten degeneriert, dann ist dies ein Hinweis auf das Vorhandensein von Bakterien, auch wenn diese nicht zu sehen sind. Die Degeneration tritt ein, wenn die Neutrophilen in Kontakt mit z.B. endotoxinproduzierenden Bakterien kommen. Die Zellen können ihren eigenen Wasserhaushalt nicht mehr kontrollieren, und der Kern schwillt an. Somit kann die Färbelösung nicht mehr ausreichend aufgenommen werden, und auch die Segmentierung des Kerns wirkt weniger ausgeprägt (THRALL, 2000; COWELL et al., 2008). Bei eitrigen oder septischen Entzündungen sind 90 % der beteiligten Zellen neutrophile Granulozyten (THRALL, 2000).

Es gibt auch einige physiologische Veränderungen der neutrophilen Granulozyten, mit denen man als Untersucher vertraut sein sollte, um sie nicht mit einem pathologischen Geschehen zu verwechseln (THRALL, 2000; COWELL et al., 2008). Die Hypersegmentierung des Kerns ist ein Anzeichen für Alterung oder Zelltod. Ein dünner Faden, bestehend aus Kernmaterial, verbindet die einzelnen Segmente. Der Kern kann aufgrund einer Pyknose zugrunde gehen. Die pyknotischen Veränderungen spiegeln die endgültige Stufe des Zelltods wider und sollten nicht mit einer Degeneration aufgrund infektiöser Prozesse verwechselt werden (THRALL, 2000).

3.3.2. Eosinophile Granulozyten

Eosinophile Granulozyten sind etwas größer als neutrophile Granulozyten, die Kerne sind gelappt, aber weniger segmentiert als die der neutrophilen Granulozyten. Im Zytoplasma findet man charakteristischerweise prominente, rosa gefärbte Granula. Es gibt tierartliche Unterschiede in der Morphologie der Granula. Beim Hund sind die Granula rund, die Anzahl und Größe können variieren. Bei der Katze sind sie eher stäbchenförmig, klein und zahlreich.

Diese Zellen werden vor allem durch das Vorliegen einer parasitären Infektion oder einer allergischen Genese angezogen. Häufig sind sie auch bei Erkrankungen wie Pemphigus foliaceus, Mastzelltumoren oder beim eosinophilen Granulom

sowie bei der sterilen eosinophilen Entzündung zu sehen (TYLER et al., 1999; MENDELSON et al., 2006).

3.3.3. Makrophagen

Makrophagen gehören zu den phagozytierenden Zellen und stammen von den peripheren Blutmonozyten ab. Je stärker sie aktiviert werden, desto variabler kann ihre Morphologie sein. Sie können eine beachtliche Größe annehmen (12 µm – 100 µm), und das Zytoplasma kann stark vakuolisiert sein. Der Kern ist rund bis oval, ein Nukleolus kann sichtbar sein. Sie phagozytieren normalerweise größere Bestandteile wie Pilze, Zellen, Blutkörperchen oder Parasiten (wie z.B. Leishmanien), aber auch Bakterien können ihnen zum Opfer fallen (MENDELSON et al., 2006; COWELL et al., 2008).

Auf der Zytologie sieht man die Makrophagen vor allem bei einer chronischen oder tiefen Entzündung. Auch bei Dermatophytosen sind sie oft prominent. Sie können sich auch zu mehrkernigen Riesenzellen entwickeln. Wenn die Zellen sehr aktiv sind, können sie bis zu 16 Kerne ausbilden. Die von ihnen dominierte Entzündungsreaktion nennt man auch mononukleäre oder granulomatöse Entzündung (THRALL, 2000; COWELL et al., 2008). Im Rahmen der zytologischen Untersuchung muss man beachten, dass man sie nicht mit Epithelzellen oder neoplastischen Epithelzellen verwechselt (COWELL et al., 2008).

3.3.4. Lymphozyten

Es gibt große, mittelgroße und kleine Lymphozyten. Die kleinen Lymphozyten haben einen runden Kern und basophiles Zytoplasma. Es entsteht der Eindruck, als ob das Zytoplasma den Kern nicht vollständig umschließt und ein Nukleolus ist nicht sichtbar (COWELL et al., 2008). Die mittelgroßen Lymphozyten sind ähnlich wie die kleinen Lymphozyten, außer dass sie etwas mehr Zytoplasma aufweisen und ein Nukleolus sichtbar sein kann (COWELL et al., 2008). Die großen Lymphozyten (Lymphoblasten) sind am häufigsten auf Präparaten aus lymphatischem Gewebe oder einer Neoplasie zu finden. In geringer Anzahl können sie auch in entzündlichen Veränderungen zu sehen sein. Der Kern färbt sich heller an und kann von unterschiedlicher Form sein (THRALL, 2000; COWELL et al., 2008).

3.3.5. Plasmazellen

Plasmazellen haben einen runden exzentrischen Kern und dunkles basophiles Zytoplasma. Zwischen dem Kern und dem Hauptanteil des Zytoplasmas kann man eine rundliche Aufhellung erkennen, die den Golgiapparat darstellt. Insgesamt sind sie größer als kleine Lymphozyten (THRALL, 2000; COWELL et al., 2008). Man sieht sie häufig bei chronischen tiefen Läsionen und in großer Zahl im Falle eines Plasmazytoms oder der plasmazellulären Pododermatitis bei der Katze (MENDELSON et al., 2006).

3.3.6. Mastzellen

Wenn Mastzellen in geringer Anzahl auf einer zytologischen Probe der Haut vorkommen, dann kann eine parasitäre oder eine allergische Ursache vorliegen (v.a. bei der Katze). Wenn sie das Zellbild dominieren und in großer Zahl vorkommen, dann spricht dies meist für das Vorliegen eines Mastzelltumors (THRALL, 2000; MENDELSON et al., 2006). Mastzellen sind Rundzellen, sie zeichnen sich durch die Vielzahl an feinen und groben Granula aus, die ganz charakteristisch für Mastzellen sind. Im Hintergrund der Granula ist meistens ein dunkel-lila angefärbter großer Kern zu erkennen, und die Granula färben sich mit einer Romanowsky Färbung lila an (COWELL et al., 2008).

3.3.7. Keratinozyten und Korneozyten

Epithelzellen kommen sehr häufig auf der Zytologie vor und gehören zum physiologischen Bild (COWELL et al., 2008). Keratinozyten stammen aus den tieferen Schichten der Epidermis. Im Gegensatz zu den Korneozyten haben sie noch einen Kern. Die Korneozyten stammen aus der obersten Schicht. Sie färben sich basophil an und präsentieren sich entweder ausgebreitet und flach oder häufiger zusammengerollt, was ihnen ein scherbenartiges oder zigarrenförmiges Aussehen verleiht (ANGUS, 2004; MENDELSON et al., 2006). Auch die Epithelzellen können von diagnostischer Bedeutung sein (MENDELSON et al., 2006). Häufig sieht man bräunlich-gelbliche Granula auf ihrer Oberfläche, die man nicht mit Bakterien verwechseln sollte (ANGUS, 2004; MENDELSON et al., 2006).

3.3.8. Akantholytische Zellen

Akantholytische Zellen sind große runde Zellen mit einem zentralen Zellkern. Häufig färbt sich nicht nur der Kern, sondern die gesamte Zelle dunkelblau an (MENDELSON et al., 2006). Es handelt sich um Keratinozyten aus tieferen Schichten, die sich abgerundet haben, da sie ihre Verbindungen zu den Nachbarzellen verloren haben. Diese Verbindungen nennen sich Desmosomen. Sie können bei einigen Erkrankungen zerstört werden. Der Pemphigus Komplex ist eine Erkrankung, bei der charakteristischerweise größere Mengen an akantholytischen Zellen zu sehen sind. Bei tiefen Pyodermien oder Pilzinfektionen können sie in selteneren Fällen ebenfalls vereinzelt auftreten (MENDELSON et al., 2006). Beim Vorliegen eines Pemphigus sind die akantholytischen Zellen häufig von gut erhaltenen neutrophilen und eosinophilen Granulozyten umgeben (MENDELSON et al., 2006). Bei einer Pyodermie und einer Pilzinfektion sind die Entzündungszellen häufig degeneriert, und die Anzahl der akantholytischen Zellen ist geringer.

3.3.9. Neoplastische Zellen

Neoplastische Zellen werden vermutet, wenn die vorliegenden Zellen Malignitätskriterien aufweisen oder wenn Zellen vorhanden sind, die nicht zu dem beprobten Gewebe passen (THRALL, 2000). Ein Malignitätskriterium allein reicht nicht aus, um die Zellen als tumorös anzusprechen. Aber es ist zu beachten, dass nicht alle neoplastischen Zellen deutliche Malignitätskriterien ausbilden (THRALL, 2000). Allgemein gibt es Rundzelltumore und Tumore, die entweder von epitheliale oder mesenchymalem Gewebe ausgehen. Tumore können auch Entzündungsreaktionen hervorrufen, und es ist möglich, dass eine Kombination aus neoplastischen und entzündlichen Zellen vorliegt (THRALL, 2000).

4. Erkrankungen mit zytologisch diagnostischer Relevanz

4.1. Entzündliche Veränderungen der Haut

4.1.1. Bakterielle Infektion

Eine bakterielle Infektion der Haut wird als eine Pyodermie bezeichnet. Das häufigste grampositive Bakterium auf der Haut beim Hund ist *S. intermedius/pseudintermedius* (COLE et al., 1998; MCEWAN, 2000; PETERSEN et al., 2002; ANGUS, 2004; GRAHAM-MIZE & ROSSER, 2004; MENDELSON et al., 2006). Bei der Katze ist es *S. aureus* (SELBITZ, 2002). Gramnegative Keime wie Pseudomonaden spielen ebenfalls eine Rolle in der Entstehung von bakteriellen Hautinfektionen. Aufgrund ihrer schlechten Resistenzlage können sie schwieriger zu behandeln sein (SCOTT et al., 2001b; PETERSEN et al., 2002; MEDLEAU & HNILICA, 2006). Eine bakterielle Otitis kommt häufig vor, wird aber an anderer Stelle dieser Arbeit besprochen.

4.1.1.1. Ätiologie

Es gibt viele Faktoren, die prädisponierend für eine bakterielle Hauterkrankung sein können (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Zu diesen Faktoren zählen anatomische und strukturelle Gegebenheiten, physikalische Faktoren (z.B. Temperatur, Feuchtigkeit), Immunsuppression durch Erkrankungen oder Medikamente, Allergien, parasitäre Krankheiten, Mykosen, hormonelle Krankheiten, metabolische Imbalancen, Keratinisierungsstörungen und Traumata (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die Vermehrung der Keime erfolgt am besten bei erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur sowie schlechter Belüftung.

4.1.1.2. Klassifikation

Die einzelnen Pyodermieformen lassen sich in drei größere Gruppen einteilen und orientieren sich an der Tiefe der betroffenen Schichten der Haut. Es gibt Oberflächenpyodermien, oberflächliche Pyodermien und tiefe Pyodermien (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Oberflächenpyodermie:

Zu dieser Gruppe gehören die pyotraumatische Dermatitis („akut nässende Dermatitis“, „Hot Spot“) und die Intertrigo („Faltendermatitis“) (IHRKE, 1987;

NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Die pyotraumatische Dermatitis ist einer der seltenen dermatologischen Notfälle. Entstehung und Ausbreitung geschehen sehr schnell, sie können innerhalb von wenigen Stunden erfolgen. Die Entzündung betrifft die obersten Hautschichten, und sie entwickelt sich als Folge von starkem Juckreiz in Zusammenhang mit z.B. Infektionen, Allergien, erhöhter Feuchtigkeit und Wärme. Häufig sieht man eine pyotraumatische Dermatitis als Komplikation einer Flohspeichelallergie, aber auch Tiere, die gern baden gehen und ein dichteres Fell haben, sind häufiger von dieser hochgradig exsudativen Entzündung betroffen (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die Diagnose wird in den meisten Fällen anhand von Anamnese und Verlauf sowie klinischer und zytologischer Untersuchung gestellt. In unkomplizierten Fällen sollten die betroffenen Bereiche großzügig ausgeschoren und mit einem antibakteriellen Shampoo behandelt werden. Bei starkem Juckreiz können zusätzlich Glukokortikoide kurzfristig Besserung verschaffen (IHRKE, 1987). Bei längerem Bestehen bzw. Auftreten von Rezidiven kann die systemische Gabe von Antibiotika indiziert sein (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Um Rezidiven vorzubeugen, sollte nach einer zugrundeliegenden Ursache gesucht werden, wozu auch die Entnahme einer Biopsie mit anschließender histologischer Untersuchung nötig sein kann (IHRKE, 1987; REINKE et al., 1987).

Die Intertrigo („Faltenpyodermie“) tritt besonders häufig bei Tieren auf, die rassebedingt Körperfalten aufweisen. Zu den prädisponierten Rassen zählen Möpse, Bulldoggen und Pekinesen, sowie Perser – und Himalayakatzen (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). In den meisten Fällen reicht eine topikale Therapie und prophylaktische Weiterbehandlung aus, um die Infektionen in den Griff zu bekommen. In besonders schwerwiegenden Fällen kann eine chirurgische Straffung der Körperfalten notwendig sein (IHRKE, 1987).

Oberflächliche Pyodermien

Die oberflächliche Pyodermie ist die häufigste Form. Diese Pyodermien betreffen die oberen Schichten der Haut und Teile der Follikel (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Das klinische Bild kann je nach Schweregrad stark variieren und sich durch unterschiedliche Läsionen präsentieren. Das Spektrum umfasst Erythem, Papeln, Pusteln, epidermale Schuppenkränze, Krusten, Hyperpigmentierung und

Lichenifikation. Die Ausprägung der Läsionen korreliert häufig mit der Stärke des Juckreizes (IHRKE, 1987).

Ein Beispiel der oberflächlichen Pyodermie ist die Impetigo („Junghundpyodermie“). Sie tritt vor allem bei Hundewelpen an den wenig behaarten Körperstellen, wie Abdomen, Achsel oder Leiste auf. Bei Katzen entsteht sie vermehrt im dorsalen Körperbereich wie Nacken, Rücken und Kopf (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die charakteristischen Primärläsionen sind subkorneale Pusteln, die sehr fragil sein können, somit wird häufig das klinische Bild durch Sekundärläsionen, wie epidermale Schuppenkränze, Krusten oder Hyperpigmentierung dominiert (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Wenn adulte Tiere betroffen sind, sollte auch hier nach einer zugrundeliegenden Ursache gesucht werden. (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Die weiteren Formen der oberflächlichen Pyodermie zeigen sich weniger charakteristisch und können verschiedene Ursachen haben. Die Entstehung kann primär oder sekundär sein.

Bei jeder Form der Pyodermie sollte eine zytologische Untersuchung durchgeführt werden, um die Menge und Art der Bakterien beurteilen zu können. Anschließend können dann die richtigen diagnostischen und therapeutischen Schritte eingeleitet werden. Auch die beteiligten Entzündungszellen können weitere Informationen über die zugrundeliegende Erkrankung liefern (IHRKE, 1987). Oberflächliche Pyodermien werden mit der systemischen Anwendung von Antibiotika über einen Zeitraum von mindestens zwei bis drei Wochen therapiert. Die Gabe erfolgt in der Regel fünf bis sieben Tage über die klinische Abheilung hinaus (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Die mukokutane Pyodermie und die oberflächliche bakterielle Follikulitis sind ebenfalls zu dieser Gruppe zu zählen. Die Ätiologie der mukokutanen Pyodermie ist nicht bekannt. Die Krankheit tritt insbesondere beim deutschen Schäferhund auf (BASSETT et al., 2004). Bei einer bakteriellen Follikulitis sind Teile des Haarfollikels mitbetroffen. Bei kurzhaarigen Hunden entsteht ein mottenfraßähnliches Verteilungsmuster, wohingegen bei langhaarigen Hunden das klinische Erscheinungsbild häufig milder aussehen kann (NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Tiefe Pyodermien:

Diese Form der Pyodermie ist die schwerwiegendste, sie reicht bis in die tieferen Schichten der Haut. Sie betrifft die Dermis und kann auch die Subkutis miteinbeziehen (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Das klinische Bild kann je nach Lokalisation und Schweregrad variieren. In den meisten Fällen geht die Entzündung mit einer Gewebeverdickung einher. Durch Palpation ist sie von der oberflächlichen Pyodermie zu unterscheiden. Eine tiefe Pyodermie entsteht nicht selten aus einer nicht -, unzureichend oder falsch therapierten oberflächlichen Pyodermie (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Juckreiz, Schmerzhaftigkeit, reduziertes Allgemeinbefinden, Leukozytose oder Sepsis können mit einer tiefen Pyodermie vergesellschaftet sein (NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die Pfoten, das Kinn, die Schnauze oder die Ellbogen sind Körperstellen, die besonders anfällig für die Entstehung einer Furunkulose sind. Die Therapie einer tiefen Pyodermie beinhaltet immer die systemische Anwendung von Antibiotika. Diese Behandlung muss in der Regel für mindestens sechs bis acht Wochen durchgeführt werden und sollte bis zwei Wochen nach der klinischen Abheilung fortgeführt werden (IHRKE, 1987).

4.1.1.3. Diagnose

Die Diagnose der unterschiedlichen Pyodermieformen wird durch Anamnese, klinische Untersuchung inklusive Palpation und die zytologische Untersuchung gestellt. Die Entnahme einer Biopsie mit histologischer Untersuchung kann bei besonders hartnäckigen Fällen indiziert sein. Es sollte gleichzeitig ein Augenmerk auf die Diagnose einer zugrundeliegenden Erkrankung gelegt werden, um langfristig einen Erfolg zu haben.

4.1.1.4. Therapie

Die symptomatische Therapie richtet sich nach dem Schweregrad der Infektion und den beteiligten Bakterien. In mildereren Fällen kann eine lokale Behandlung mit einem antibakteriellen Shampoo, antiseptischen Lösungen und/oder Antibiotika-haltigen Salben ausreichend sein. Bei der systemischen Gabe von Antiinfektiva sind die Wahl des richtigen Medikaments, die Dauer der Therapie und regelmäßige Kontrollbesuche beim Tierarzt entscheidend für den Erfolg der Behandlung (IHRKE, 1987; SCOTT et al., 2001b; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Es gibt einige Antibiotika, die eine ausreichende Wirkstoffkonzentration in

der Haut erreichen und somit geeignet sind zur Therapie von Pyodermien. Häufig ist hierbei eine höhere Konzentration notwendig, als z.B. bei der Behandlung einer Blasenentzündung (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die Dauer einer systemischen Antibiotikatherapie ist in der Regel mindestens drei Wochen und kann bei Vorliegen einer tiefen Pyodermie auch mehrere Monate betragen (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Bei rezidivierenden Pyodermien sollte gleichzeitig intensiv nach einer zugrundeliegenden Ursache gesucht und deren Behandlung angestrebt werden. Der häufigste Grund für Rezidive ist, dass die Ursache für die Infektion nicht behandelt wird (IHRKE, 1987). Resistente Bakterien können zusätzlich Ursache für ein Therapieversagen sein, eine bakteriologische Untersuchung mit Antibiogramm sollte angefertigt werden (IHRKE, 1987; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

Antibiotika, die eine ausreichende Wirkstoffkonzentration in der Haut erzielen, sind Oxacillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Trimethoprim/Sulfonamide, Chloramphenicol, Lincomycin, Erythromycin, Cefalexin, Enrofloxacin, Marbofloxacin, Pradofloxacin und Cefadroxil (IHRKE, 1987; DEMANUELLE et al., 1998; HARVEY & HUNTER, 1999; MASON & KIETZMANN, 1999; NOLI & SCARAMPELLA, 2004; MUELLER & STEPHAN, 2007). Es wurden einige Studien zur Wirksamkeit der Medikamente bei der Behandlung der Pyodermie von Hund und Katze durchgeführt. Sie zeigten teils gute Ergebnisse. Die Anwendung von Lincomycin und Clindamycin ist durch ihre schlechte Resistenzlage begrenzt, die Wirksamkeit nach drei Wochen lag bei 71 % und 81 % und steigerte sich bis auf 93 und 94 % nach Weiterführen der Therapie (HARVEY et al., 1993). Nebenwirkungen traten relativ häufig auf, somit wird von einer längeren Gabe eher abgeraten (NOLI & BOOTHE, 1999). Trimethoprim/Sulfonamid konnte eine gute Wirksamkeit bei Hautinfektionen erzielen, jedoch sollte eine längere Gabe aufgrund der häufig auftretenden Nebenwirkungen wie Konjunktivitis sicca und Arzneimittelreaktionen vermieden werden. Bei Rassen wie Dobermann und Pinscher sollte die Kombination auf Grund von häufigen Problemen bei der Metabolisierung nicht eingesetzt werden (GIGER et al., 1985; HALL et al., 1993; CAMPBELL, 1999). Cephalosporine und Amoxicillin/Clavulansäure lieferten vergleichbare gute Ergebnisse und wurden bei langfristiger Gabe gut vertragen (MAYNARD et al., 2003; STEGEMANN et al., 2007). Fluoroquinolone wie Enrofloxacin, Marbofloxacin

und Pradofloxacin sind gut geeignet und haben eine gute Hautpenetrationsfähigkeit (DEMANUELLE et al., 1998). Diese Wirkstoffgruppe sollte bei Vorliegen von stäbchenförmigen Bakterien auf der Zytologie Anwendung finden. Auch bei tiefen Pyodermien zeigen sie eine gute Wirkung (CARLOTTI et al., 1999; IHRKE et al., 1999; PARADIS et al., 2001; MUELLER & STEPHAN, 2007).

Für die lokale Therapie von Pyodermien stehen unterschiedliche Formulierungen zur Verfügung. Es gibt eine Reihe von Shampoos mit antibakteriellen Inhaltsstoffen, wie Chlorhexidin oder Benzoylperoxid, die zur Behandlung von Infektionen als alleinige Therapie oder aber in Kombination mit systemischen Antibiotika geeignet sind und die Heilung beschleunigen können (NACHT et al., 1981; LLOYD & LAMPORT, 1999). Salben mit antibiotischen Wirkstoffen können bei lokal begrenzten Pyodermien eingesetzt werden und bringen häufig in Kombination mit einer Shampootherapie eine schnellere Besserung. Fusidinsäure, Mupirocin, Silbersulfadiazin oder Bacitracin sind einige Beispiele von häufig verwendeten Wirkstoffen (SAIJONMAA-KOULUMIES et al., 1998; WERNER & RUSSELL, 1999).

4.1.2. Hefepilzinfektion

Eine Infektion mit *Malassezia* ist beim Hund häufiger zu sehen, bei der Katze ist dies relativ selten. Auch *Candida spp.* können Haut- und Ohreninfektionen hervorrufen. *Malassezia*otitis wird unter 4.2.1. abgehandelt.

4.1.2.1. Ätiologie

Eine *Malassezia*dermatitis entsteht in den meisten Fällen sekundär. *Malassezia* gehören insbesondere beim Hund zur physiologischen Keimflora. Die prädisponierenden Faktoren, die das Entstehen einer klinisch manifesten Infektion begünstigen, stimmen mit denen der Entstehung einer bakteriellen Infektion überein (CHARACH, 1997; SCOTT et al., 2001b; NOLI & SCARAMPELLA, 2004; NEGRE et al., 2009). In der Hundepopulation sind Basset Hound, Beagle, West Highland White Terrier, Pudeln, Australien Silky Terrier und der Amerikanische Cocker Spaniel besonders häufig Träger dieser Keime (PLANT et al., 1992; BOND & LLOYD, 1997; MAUDLIN et al., 1997). Die langfristige Gabe von Glukokortikoiden kann das Vorkommen von *Malassezia* ebenfalls erhöhen (SCOTT et al., 2001b). Eine Hypersensitivität auf *Malassezia* ist

beschrieben, und es kann eine geringe Menge an Keimen ausreichen, um Symptome wie Juckreiz hervorzurufen. Die Diagnosestellung ist bei solchen Tieren erschwert und eine diagnostische antimykotische Therapie indiziert (CHARACH, 1997; BOND et al., 2002).

4.1.2.2. Klinik

Eine Malasseziendermatitis kann lokal oder generalisiert auftreten. Am häufigsten treten Läsionen im Gesichtsbereich oder in Körperfalten sowie an den Pfoten auf (BOND & LLOYD, 1997; CHARACH, 1997; MORRIS, 1999a; SCOTT et al., 2001b). Die häufigsten Symptome sind Juckreiz, Rötungen und Lichenifikationen. Das Vorhandensein von fettiger Seborrhoe ist häufig (CHARACH, 1997), die Ausprägung der Symptomatik kann variieren.

4.1.2.3. Diagnose

Die zytologische Untersuchung von Abklatsch- oder Tesafilmpräparaten ist gut geeignet, um eine Malasseziendermatitis zu diagnostizieren. In Zusammenhang mit der klinischen Präsentation kann die Diagnose zuverlässig gestellt werden. Eine mykologische Kultur ist sensitiver als eine zytologische Untersuchung, allerdings können Malassezien auch auf normaler Haut in geringer Zahl vorhanden sein. Deswegen ist die Sensitivität der Zytologie für die Diagnostik ausreichend und die Kultur hat in der Regel keine diagnostische Bedeutung (BENSIGNOR et al., 2002; NOLI & SCARAMPELLA, 2004). Die histologische Untersuchung ist relativ unspezifisch, Malassezien sind nicht immer zu identifizieren (MAUDLIN et al., 1997; NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

4.1.2.4. Therapie

Je nach Schweregrad der Erkrankung können eine systemische oder lokale Therapie alleine oder ergänzend in Kombination verwendet werden. Als systemische Behandlung gegen Hefepilze sind Itrakonazol und Ketokonazol die Medikamente mit der besten Wirksamkeit (BENSIGNOR, 2006; NEGRE et al., 2009). Die Gabe von Itrakonazol kann täglich erfolgen, als Pulstherapie an zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche oder als Pulstherapie mit täglicher Gabe über sieben Tage und an den darauffolgenden sieben Tagen Pause. Alle drei Vorgehensweisen zeigten eine Wirksamkeit auf der Haut (COLOMBO et al., 2001; PINCHBECK et al., 2002; BENSIGNOR, 2006). Die häufigsten Nebenwirkungen bei der Gabe von Itrakonazol sind Erbrechen und Anorexie

(PINCHBECK et al., 2002).

Für die lokale Therapie ist ein Shampoo mit 2%igem Mikonazol und 2%igem Chlorhexidin zur Behandlung der Malasseziendermatitis am Besten geeignet. Die Anwendung sollte 2x wöchentlich über einen Zeitraum von drei Wochen erfolgen (NEGRE et al., 2009). Der Inhaltsstoff Chlorhexidin zeigte in 3%iger Konzentration alleine eine Wirksamkeit gegen Malasseziden (JASMIN et al., 2003). Andere lokale Lösungen mit Enikonazol wurden bisher vor allem in der Behandlung der Dermatophytose getestet (DESPLENTER, 1989; HNILICA & MEDLEAU, 2002).

4.1.3. Sterile Entzündung

Eine sterile Entzündung kann durch unterschiedliche Faktoren ausgelöst werden. Eine primär sterile Entzündung liegt bei folgenden Krankheiten zugrunde: Sterile Pannikulitis, juvenile Zellulitis und bei dem sterilen Pyogranulom/Granulom. Auch eine Fremdkörperreaktion kann steril verlaufen. Insgesamt sind diese Erkrankungen relativ selten.

Sterile Pannikulitis:

Die sterile Pannikulitis ist eine entzündliche Erkrankung des subkutanen Fettgewebes (YAMAGISHI et al., 2007). Ursache und Pathogenese sind nicht genau bekannt, allerdings wurden vorangegangene Injektionen (HENDRICK & DUNAGAN, 1991) und einige systemische Erkrankungen mit der Pannikulitis assoziiert. Zu diesen Erkrankungen gehören systemischer Lupus erythematodes (SLE), Pankreaserkrankungen, Neoplasien oder rheumatische Arthritis (MOREAU et al., 1982; HUGHES et al., 1996; TORRES, 1999; MELLANBY et al., 2003; GEAR et al., 2006; DENNIS et al., 2008). Die meisten Tiere entwickeln multifokale Läsionen und systemische Krankheitssymptome, Anorexie und Lethargie sind häufig. Die Läsionen ulzerieren häufig, und Fisteln können entstehen (SCOTT et al., 2001b; YAMAGISHI et al., 2007).

Juvenile Zellulitis:

Die juvenile Zellulitis ist eine granulomatöse und pustulöse Erkrankung mit unbekannter Ursache, die das Gesicht, die Pinnae und die submandibulären Lymphknoten betrifft. Am häufigsten wird es bei Welpen im Alter von unter vier Monaten gesehen (MASON & JONES, 1989; SCOTT et al., 2001b). Die initialen

Symptome sind meistens eine akute Schwellung im Gesichtsbereich, wobei Schnauze, Augenlider und Lippen betroffen sein können. In einer relativ kurzen Zeit von 24 bis 48 Stunden entstehen Papeln und Pusteln am Kinn, periokulär und im Maulbereich. Eine Lymphknotenschwellung tritt häufig auf (SCOTT et al., 2001b). In einigen Fällen können auch die Pfoten, das Abdomen und der Thorax, sowie Vulva, Präputium und Anus mitbetroffen sein (JEFFERS et al., 1995). Die Läsionen werden häufig krustig und können auch Fisteln ausbilden. Die betroffenen Hautareale sind oft schmerzhaft, aber in der Regel nicht juckend (SCOTT et al., 2001b). Allgemeinsymptome wie Lethargie, Anorexie zeigen etwa die Hälfte der Patienten (MASON & JONES, 1989; SCOTT et al., 2001b).

Steriles Pyogranulom/Granulom:

Das sterile Pyogranulom ist eine seltene idiopathische Erkrankung, die mit pyogranulomatösen Infiltraten der Haut einhergeht. Es ist keine Alters-, Geschlechts- oder Rasseprädisposition bekannt. Die Granulome entstehen vor allem im Kopfbereich an Nase und Ohrmuscheln, sowie an den Pfoten. Die Läsionen sind indolente haarlose Plaques, Knötchen oder Papeln. Die Diagnose wird gestellt durch Ausschluss von möglichen Differentialdiagnosen, sowie auslösenden Agentien wie Pilze, Bakterien und Fremdkörper (NOLI & SCARAMPELLA, 2004; CORNEGLIANI et al., 2005).

4.1.3.1. Diagnose

Eine definitive endgültige Diagnose kann nur über die Histologie von Hautbiopsien und gleichzeitige Kultur gestellt werden (O'KELL et al., 2010). Durch die Anamnese und die Ergebnisse der Zytologie können wertvolle Hinweise gesammelt werden. Die Zytologie als alleiniges Diagnostikum ist nicht ausreichend, aber sehr wichtig zum Ausschluss von Differentialdiagnosen und sekundären Infektionen (POST, 1983; HUTCHINGS, 2003; GEAR et al., 2006). Das zytologische Bild wird von einer pyogranulomatösen Entzündung dominiert. Es finden sich neutrophile Granulozyten, Makrophagen und keine Mikroorganismen (HUTCHINGS, 2003).

4.1.3.2. Therapie

Die Therapie der Wahl ist der Einsatz von Glukokortikoiden in immunsuppressiver Dosierung, welche bei den meisten Patienten eine gute Wirkung zeigt (WHITE et al., 1989; JEFFERS et al., 1995; YAMAGISHI et al.,

2007). Eine chirurgische Exzision stellt keine erfolgreiche Therapie dar, und die meisten Tiere brauchen trotz allem Glukokortikoide, um einen Rückfall zu verhindern (YAMAGISHI et al., 2007). Im Falle einer juvenilen Zellulitis wird angeraten, die initiale Therapie eher aggressiver durchzuführen, da somit eine spätere Narbenbildung reduziert werden kann (SCOTT et al., 2001b). Wenn eine sekundäre bakterielle Infektion vorliegt, muss diese zusätzlich mit den entsprechenden Antiinfektiva behandelt werden (REIMANN et al., 1989; SCOTT et al., 2001b). Alternativ gibt es Medikamente die ergänzend eingesetzt werden können, um therapieresistente oder hartnäckige Fälle in Remission zu bringen und um einen kortisonsparenden Effekt zu erzielen. Tetrazykline und Niacinamid (ROTHSTEIN et al., 1997) oder der Einsatz von Vitamin E bei der Pannikulitis (PATERSON, 1995) können positive Resultate liefern.

4.2. Otitis

Anatomisch besteht das Ohr aus drei Teilen: das Innenohr, das Mittelohr und das äußere Ohr. Das Innenohr besteht aus der Cochlea und den drei Bogengängen (*Canalis semicircularis*). Das Mittelohr besteht aus der mit Luft gefüllten Paukenhöhle (*Cavum tympani*) und einer Ausbuchtung, der *Bulla tympanica*. In der Paukenhöhle sind die drei Gehörknöchelchen Steigbügel, Hammer und Amboss zu finden. Die Bulla ist mit einem einschichtigen Plattenepithel ausgekleidet. Das Mittelohr ist zusätzlich durch die Eustachische Röhre mit dem Nasopharynx verbunden. Das äußere Ohr, bestehend aus Pinna, vertikalem und horizontalem Gehörgang, wird durch das Trommelfell vom Mittelohr abgegrenzt. Die Auskleidung des äußeren Gehörganges besteht aus einer Epidermis und einer Dermis, die Talg- und Zeruminaldrüsen enthält (FRASER, 1961; GRIFFIN, 1986; VAN DER GAAG, 1986). Die Auskleidung kann gewissermaßen als Erweiterung der Epidermis des Körpers angesehen werden. Eine Otitis geht somit häufig mit weiteren dermatologischen Krankheiten einher (MURPHY, 2001).

4.2.1. Otitis externa

Die Otitis externa ist eine Entzündung des Epithels des äußeren Gehörganges (*Meatus acusticus externus*). Sie ist ein sehr häufiger Vorstellungsgrund in der Kleintierpraxis, deren Therapie eine große Herausforderung darstellen kann (MURPHY, 2001). Die Prävalenz liegt bei 5 bis 20 % bei Hunden, bei Katzen ist sie mit 2 bis 10 % insgesamt niedriger (SCOTT, 1980; DICKSON & LOVE,

1983; MACY & SEIM, 1985; AUGUST, 1986a; LUND et al., 1999).

4.2.1.1. Ätiologie

Die Otitis ist eine multifaktorielle Erkrankung mit teils komplizierter Ätiologie (AUGUST, 1988). Grundsätzlich ist es wichtig anzumerken, dass eine rezidivierende Ohrenentzündung immer eine zugrundeliegende Ursache hat, die behoben werden muss. Für die Entstehung einer Otitis gibt es unterschiedliche Faktoren, die die Erkrankung auslösen oder aufrechterhalten können. AUGUST hat ein Schema erstellt, das die einzelnen Faktoren in verschiedene Gruppen unterteilt (AUGUST, 1988). Es gibt primäre Ursachen, prädisponierende Faktoren und komplizierende Faktoren.

Eine primäre Ursache ist unmittelbarer Auslöser für die Entzündung im Gehörgang (AUGUST, 1988). Zu ihnen gehören Parasiten, Fremdkörper, Hypersensitivitätsreaktionen, Allergien, Keratinisierungsstörungen und Autoimmunerkrankungen (ROSSER, 1993; MURPHY, 2001). Die häufigste Ursache von chronisch rezidivierenden Otitiden ist, dass die auslösenden Faktoren nicht erkannt und abgestellt werden, denn nur so ist es möglich, einen langfristigen Therapieerfolg zu erreichen (MURPHY, 2001). Der am häufigsten im Gehörgang vorkommende Parasit, vor allem bei der Katze, ist die Ohrmilbe *Otodectes cynotis*. *Demodex canis*, *Sarcoptes scabiei* oder *Notoedres cati* kommen auch als parasitäre Ursache in Frage (MURPHY, 2001). Die Milben können eine Überempfindlichkeitsreaktion hervorrufen. In solchen Fällen ist schon eine geringe Anzahl ausreichend, um Symptome hervorzurufen (WEISBROTH et al., 1974; POWELL et al., 1980). Wenn ein Fremdkörper die Ursache für die Ohrenentzündung ist, werden die Tiere meistens mit einer akut schmerzhaften, einseitigen Otitis vorgestellt (MURPHY, 2001).

Eine Allergie ist mit Abstand die häufigste Ursache für eine Otitis (ROSSER, 2004; SARIDOMICHELAKIS et al., 2007). Die meisten Tiere zeigen zusätzlich zu der Ohrensymptomatik an anderen Stellen vom Körper Juckreiz (SARIDOMICHELAKIS et al., 2007). Allerdings gilt es zu beachten, dass bei ca. 3 bis 5 % der umweltallergischen Hunde (GRIFFIN & DEBOER, 2001) und bei bis zu 25 % der Hunde mit einer Futtermittelhypersensitivität eine Otitis das einzige klinische Symptom sein kann. Eine allergische Kontaktdermatitis kann auch eine primäre Ursache zur Entstehung einer Otitis sein (MURPHY, 2001;

ROSSER, 2004).

Primäre Keratinisierungsstörungen, wie z.B. idiopathische Seborrhoe oder Endokrinopathien, wie z.B. Hypothyreose, Hyperadrenokortizismus oder Sexualhormonimbilanzen können einen Einfluss auf die Zusammensetzung und Produktion des Zerumens, sowie auf die Keratinisierung im Gehörgang haben. Durch die Veränderungen im Milieu kommt es häufig zu einer sekundären Infektion und somit zur Entstehung einer Otitis (MURPHY, 2001; ROSSER, 2004).

Autoimmune Erkrankungen, wie Pemphigus foliaceus (PF), Pemphigus erythematosus (PE), diskoidaler Lupus erythematosus (DLE), kutane Vaskulitis, bullöses Pemphigoid oder Schleimhautpemphigoid kommen insgesamt relativ selten vor, und eine Otitis ist meistens nur ein Teilsymptom, das Tier zeigt ausgeprägte dermatologische oder systemische Symptome (ROSSER, 2004). In der Studie von SARIDOMICHELAKIS et al. wurde bei einem Hund (1 %) mit Otitis ein Pemphigus foliaceus als Ursache diagnostiziert (SARIDOMICHELAKIS et al., 2007).

Prädisponierende Faktoren erhöhen das Risiko, an einer Otitis zu erkranken, aber sie sind nicht allein für das Entstehen verantwortlich (ROSSER, 1993; MURPHY, 2001). So ist es z.B. bei allergischen Hunden mit prädisponierenden Faktoren wahrscheinlicher, dass sie als einziges Symptome eine Otitis entwickeln (GRIFFIN, 1998). Zu den prädisponierenden Faktoren zählen anatomische Besonderheiten (Hängeohren, sehr enge Gehörgänge, viele Haare im Gehörgang), übermäßige Feuchte (durch häufiges Baden) oder iatrogene Faktoren (Trauma, reizende Substanzen) (MURPHY, 2001; ROSSER, 2004; SARIDOMICHELAKIS et al., 2007). Diese Faktoren tragen dazu bei, dass sich das Mikroklima und auch die Beschaffenheit der Epidermis im Gehörgang verändert und Keime sich besser vermehren können. Die Kontrolle der prädisponierenden Faktoren muss immer Teil des therapeutischen Plans sein (ROSSER, 2004).

Erreger, wie Bakterien und Hefen, Otitis media und strukturelle Veränderungen durch eine chronische Entzündung gehören zu der Gruppe der komplizierenden Faktoren. Sie sind allein nicht in der Lage, eine Entzündung auszulösen, aber verzögern oder verhindern häufig einen Therapieerfolg, wenn sie nicht adäquat

behandelt werden (MURPHY, 2001; ROSSER, 2004). Keime wie Bakterien und Hefen finden sich auch in einem gesunden Gehörgang in geringer Zahl. Wenn sich die Bedingungen und das Milieu durch primäre oder prädisponierende Faktoren verändern, wird eine Vermehrung der Keime und damit eine Entzündung begünstigt.

Bei chronischen Otitiden reagiert die Epidermis mit Hyperplasie durch Akanthose und Hyperkeratose. Die Talgdrüsen werden größer, die Ausführungsgänge dilatieren, und die Sebumsekretionsrate steigt an (FRASER, 1961; FERNANDO, 1967; VAN DER GAAG, 1986). Durch die starke Veränderung der Auskleidung des Gehörgangs kann der Erfolg der Therapie stark verzögert werden (MURPHY, 2001).

4.2.1.2. Klinik

Die klinische Symptomatik hängt stark von der Ausprägung der Erkrankung ab. Die häufigsten Symptome sind Kopfschütteln, Juckreiz am Ohr oder Kopf und Schmerzäußerungen (ROSSER, 2004). Zusätzlich kann es sekundär zu Selbsttrauma durch das Kratzen und damit einhergehende Rötungen und Schwellungen kommen. Wenn das Tier häufig mit dem Kopf schüttelt, kann dies durch Anschlagen der Ohren zu Othämatomen führen. Bei einer chronischen Otitis kann es durch Kalzifizierung der Gehörgänge zu Stenosen kommen, wobei man in diesen Fällen mit einer medikamentellen Therapie keinen Erfolg mehr herbeiführen kann (ROSSER, 2004).

4.2.1.3. Diagnose

Die Diagnose Otitis externa ist relativ einfach und schnell zu stellen. Sie beruht auf der Anamnese, der klinischen Symptomatik in Kombination mit einer otoskopischen und zytologischen Untersuchung (MURPHY, 2001; ROSSER, 2004). Durch eine ausführliche Anamnese lassen sich häufig sehr wertvolle Informationen erheben, die wichtig für die korrekte Herangehensweise sein können und dem Tier, Besitzer und Tierarzt viel Zeit sparen können (MURPHY, 2001; ROSSER, 2004). Eine klinische Untersuchung sowie eine komplette dermatologische Untersuchung sind bei einem sonst augenscheinlich gesunden Hund indiziert, da sie zusätzliche Hinweise auf die zugrundeliegende Ursache und Schwere der Erkrankung liefern können (ROSSER, 2004). Die otoskopische Untersuchung ist unerlässlich. Sie sollte, wenn es der Schweregrad der

Entzündung zulässt, beim ersten Besuch und bei jeder Kontrolluntersuchung durchgeführt werden, um den Therapieerfolg in Kombination mit der Klinik beurteilen zu können (MURPHY, 2001). Die wichtigsten Merkmale, auf die der Untersucher achten sollte, sind Menge und Beschaffenheit des Zerumens, Struktur des Gehörgangepithels, Vorliegen eines Fremdkörpers und der Zustand des Trommelfells. Wenn das Trommelfell nicht einsehbar ist, dann sollte dies bei der Medikamentenwahl berücksichtigt werden (MURPHY, 2001; MORRIS, 2004). Farbe und Konsistenz vom Zerumen lassen in manchen Fällen Rückschlüsse auf die beteiligten Keime zu, ersetzen jedoch nicht die zytologische Untersuchung (SCOTT, 1980; GRIFFIN, 1981; AUGUST, 1986a). Die zytologische Untersuchung ist ein unerlässliches diagnostisches Mittel für Therapie und Prognose im Rahmen des Managements einer Otitis. Sie gibt innerhalb kürzester Zeit Aufschluss darüber, ob und welche Keime an der Infektion beteiligt sind. Anhand der Ergebnisse kann unmittelbar mit der korrekten Therapie begonnen werden. Aufgrund der zunehmenden Resistenzen und der schlechten Resistenzlage von vor allem gramnegativen Stäbchen wird bei Vorliegen von stäbchenförmigen Bakterien eine bakterielle Untersuchung mit Antibiogramm empfohlen.

Wenn man die entsprechende Ausrüstung und Erfahrung hat, ist eine Untersuchung mittels Videotoskop Mittel der Wahl. Hierbei bekommt man eine hervorragende Übersicht des Gehörganges, und die Beurteilung des Trommelfells ist möglich. Diese Untersuchung findet in der Regel unter Allgemeinanästhesie statt, bietet die Möglichkeit, das Ohr zu spülen, und kann somit eine wertvolle Methode im Rahmen der Therapie einer Otitis externa und media sein (ANGUS & CAMPBELL, 2001).

4.2.1.4. Therapie

Die erfolgreiche Therapie einer Otitis externa umfasst mehrere Faktoren. Zum einen muss die Ursache gefunden und behandelt werden und zum anderen müssen sekundäre Infektionen therapiert werden. Dieser Abschnitt befasst sich ausschließlich mit der Behandlung der sekundären Infektionen und verweist für die Therapie der Grunderkrankungen auf weiterführende Literatur.

Vor Beginn der Therapie ist es wichtig, den Besitzer über die Dauer, die Kosten, die Erfolgchancen und das langfristige Management aufzuklären (CHESTER,

1988). Die Wahl der Medikamente stützt sich auf die Befunde der otoskopischen und zytologischen Untersuchung. Bei Vorliegen von stäbchenförmigen Bakterien oder mehrfach vorbehandelten chronischen Otitiden wird empfohlen, eine bakteriologische Untersuchung mit Antibiogramm anfertigen zu lassen (MURPHY, 2001). Eine Besonderheit bei der Interpretation von Antibiogrammen der Ohrtupferproben und der Wahl von topischen Ohrenmedikamenten ist, dass die Ergebnisse der Resistenztests auf Serumkonzentrationen beruhen, und dass die Konzentrationen, die im Ohr erreicht werden, die Serumkonzentrationen um ein vielfaches überschreiten können. Wenn ein Keim laut Antibiogramm resistent auf das verwendete Medikament ist, das Tier aber eine klinische Besserung zeigt, kann die Behandlung unverändert fortgeführt werden (MORRIS, 2004; ZAMANKHAN MALAYERI et al., 2010). Es ist somit auch vertretbar, bei stäbchenförmigen Bakterien auf der Zytologie eine empirische Therapie bis zum Vorliegen der Befunde der bakteriologischen Untersuchung zu beginnen (MORRIS, 2004; ZAMANKHAN MALAYERI et al., 2010). Aufgrund der Resultate einer Studie von OLIVEIRA et al. ist es möglicherweise angebracht, beide Ohren getrennt voneinander zu beproben, da die Empfindlichkeiten der Keime aus beiden Ohren bei 68 % der Tiere unterschiedlich waren (OLIVEIRA et al., 2008).

Bei einer Otitis externa ist die topische Therapie die Therapie der Wahl. Bei einer systemischen Gabe von Antiinfektiva würde die Konzentration, die im Gehörgang erreicht wird, bei intaktem Epithel nicht ausreichen (MORRIS, 2004). Es gibt verschiedene Arzneimittel, die für die Behandlung von Ohreninfektionen zugelassen sind, und als fertige Präparate auf dem Markt erhältlich sind. Die meisten Präparate enthalten eine Kombination aus einem oder mehreren Wirkstoffgruppen, wie Antibiotika, Antimykotika und Steroide. Manche von ihnen enthalten zusätzlich Trägerstoffe oder Stabilisatoren (WILCKE, 1988). Vor Anwendung der erhältlichen Formulierungen sollte man eine mögliche Ototoxizität der Inhaltsstoffe ausschließen, insbesondere wenn das Trommelfell bei der otoskopischen Untersuchung nicht einsehbar war. Einige der Trägerstoffe, wie z.B. Propylenglykol und Glycerin wurden als Auslöser von Irritationen beschrieben (WILCKE, 1988). Fluorochinolone haben eine gute Wirkung gegen gramnegative und grampositive Bakterien, ein geringes ototoxisches Potential und werden oft angewendet (RUSSELL et al., 2001). Polymyxin B wurde in vitro und

in vivo untersucht und die Ototoxizität von Polymyxin B-haltigen Präparaten ist gut dokumentiert (WRIGHT et al., 1987; JINN et al., 2001; RUSSELL et al., 2001; ROLAND, 2003). Es gibt aber Hinweise, dass die ototoxische Wirkung dem in diesen Präparaten oft ebenfalls enthaltenen Propylenglykol zuzuschreiben ist (ROLAND, 2003). Antimykotische Wirkstoffe wie Clotrimazol, Miconazol oder Nystatin zeigten in einer Studie mit Meerschweinchen kein ototoxisches Potential (TOM, 2000). Steroide können bei fast jeder Ohrenentzündung von Vorteil sein, um die klinische Symptomatik zu verbessern. Besonders nützlich ist die antiinflammatorische, antiproliferative, antiexsudative und antipruritische Wirkung. Systemische Steroide können in besonders schweren Fällen nötig sein und zeigen hier teilweise exzellente Wirkung (MORRIS, 2004). Bei einer hochgradig chronischen Otitis, die mit Kalzifizierung der Gehörgänge einhergeht, ist eine chirurgische Therapie die einzige Möglichkeit, dem Tier eine entsprechende Lebensqualität zu gewährleisten (ROSSER, 2004).

4.2.2. Otitis media

Eine Otitis media ist eine Entzündung des Mittelohres mit Beteiligung der *Bulla tympanica* und des Trommelfells (MURPHY, 2001). Otitis media beim Hund ist relativ häufig. Es wird vermutet, dass das Mittelohr bei 16 % der akuten und bei 60 bis 80 % der chronischen Fälle von Otitis externa beteiligt ist (LITTLE et al., 1991; COLE et al., 1998; ROSSER, 2004).

4.2.2.1. Ätiologie

Am häufigsten entsteht eine Otitis media als Folge einer chronischen Otitis externa durch ein rupturiertes Trommelfell (MORRIS, 2004; ROSSER, 2004). In seltenen Fällen kann sich eine Otitis media auch durch eine aufsteigende Infektion vom Nasopharynx durch die Eustachische Röhre entwickeln (SCOTT et al., 2001a; ROSSER, 2004). Dies ist häufiger bei Katzen der Fall.

4.2.2.2. Klinik

Die klinische Symptomatik kann ähnlich wie bei einer Otitis externa sein. Zusätzlich können die Tiere neurologisch bedingte Auffälligkeiten wie Horner Syndrom, Kopfschiefhaltung oder Konjunktivitis sicca zeigen. Bei Beteiligung des Temporomandibulargelenks können Schmerzen beim Essen, Kauen oder bei der Palpation auftreten (GOTTHELF, 2004).

4.2.2.3. Diagnose

Die Diagnose einer Mittelohrentzündung ist eine größere Herausforderung als die Diagnose der Otitis externa und die nötigen Untersuchungen sind meist kostspieliger und invasiver (MURPHY, 2001). Eine otoskopische Untersuchung kann dem Untersucher Hinweise geben, allerdings kann das Trommelfell, wie eine Studie gezeigt hat, intakt sein (COLE et al., 1998). Besser geeignet sind bildgebende Verfahren, wie Computertomographie oder Magnetresonanztomographie (GOTTHELF, 2004).

4.2.2.4. Therapie

Die optimale Therapie einer Mittelohrentzündung ist die Kombination aus topischer und systemischer Medikation (BRUYETTE & LORENZ, 1993). Hierbei werden ausreichend hohe Medikamentenkonzentrationen erreicht, da das Mittelohr gut durchblutet ist (MORRIS, 2004). Um den Erfolg der Therapie zu maximieren, sollte das Ohr vor Beginn der Therapie unter Allgemeinanästhesie gespült werden, da ansonsten die Gefahr besteht, dass Keime im Mittelohr zurückbleiben und für eine rezidivierende Infektion sorgen (SCOTT et al., 2001a; MORRIS, 2004). Es kann eine Myringotomie (Perforation des Trommelfells) nötig sein, die gegebenenfalls bis zum Abschluss der Therapie wiederholt werden muss (GOTTHELF, 2004).

4.3. Analbeutelentzündung

Die Analbeutel sind Anhangsorgane der Haut und mit keratinisiertem mehrschichtigem Plattenepithel ausgekleidet. Sie dienen als Sammelraum für das Sekret von apokrinen Drüsen und Talgdrüsen, welche in der Wand eingelagert sind (BACHA & BACHA, 2000). Sie sind Ausbuchtungen des Enddarms und liegen zwischen dem *Musculus sphincter ani externus* und *internus*. Die Ausführungsgänge münden in die *Zona cutanea* (EVANS & CHRISTENSEN; KÖNIG & LIEBICH, 2002).

4.3.1. Ätiologie

Die häufigsten nicht neoplastischen Veränderungen der Analbeutel sind Verstopfungen, Entzündungen und Abszesse (HALNAN, 1976; HEDLUND & FOSSUM, 2007). Analbeutelprobleme sind ein häufiger Vorstellungsgrund, und die Prävalenz reicht von 2 bis 12 % (HALNAN, 1976). Die Ursachen einer Problematik können vielfältig sein, z.B. Durchfallerkrankungen, Allergien,

Übergewicht oder eine Überproduktion von Drüsensekret (NOLI & SCARAMPELLA, 2004).

4.3.2. Klinik

Die Symptome können bei einer Analbeutelentzündung relativ unspezifisch sein. Häufig zeigen die Tiere Belecken der Analgegend, Schlittenfahren, Schmerzen bei Kotabsatz und Beißen des Schwanzes (HEDLUND & FOSSUM, 2007). Diese Symptome können auch für das Vorliegen einer Überempfindlichkeitsreaktion, Neoplasie im Analbereich, Fremdkörper, Perianalfisteln, Vaginitis, Proktitis oder einer Endoparasitose sprechen (VAN DUIJKEREN, 1995).

4.3.3. Diagnose

Die Diagnose wird anhand der klinischen Symptomatik sowie der rektalen Untersuchung und Palpation der Analbeutel gestellt. Es gibt kein pathognomonisches Symptom für die Analbeutelentzündung, und es gilt verschiedene Faktoren zu beachten (VAN DUIJKEREN, 1995). Die Diagnose eines Analbeutelabszesses kann wiederum einfacher sein, wobei auch hier differentialdiagnostisch Perianalfisteln und Neoplasien ausgeschlossen werden müssen (ROBSON et al., 2003). Zusätzlich kann die zytologische Untersuchung des Sekretes weitere Hinweise geben, ist aber nicht sehr aussagekräftig. Das Analbeutelsekret von gesunden und kranken Hunden wurde in einigen Studien untersucht. Die Definition der kranken Hunde war sehr variabel, und die Einschlusskriterien waren nicht einheitlich. Allgemein lässt sich sagen, dass in keiner der Studien ein signifikanter Unterschied zwischen den Befunden von gesunden oder kranken Hunden aufgefallen ist. Die Befunde waren vielfältig. Auf allen Proben wurden extrazelluläre Bakterien gefunden (PAPPALARDO et al., 2002). Es waren viele Epithelzellen (LAKE et al., 2004) und auch Entzündungszellen vorhanden. Intrazelluläre Bakterien und mononukleäre Leukozyten kamen häufiger bei Tieren vor, die eine Erkrankung aufwiesen, allerdings nicht ausschließlich (PAPPALARDO et al., 2002; ROBSON et al., 2003; JAMES et al., 2010). Hefen wurden verhältnismäßig selten gefunden und Erythrozyten nur bei kranken Tieren (ROBSON et al., 2003; LAKE et al., 2004). Die Konsistenz oder Farbe lieferte auch keine Hinweise, die von diagnostischer Bedeutung gewesen wären (PAPPALARDO et al., 2002; ROBSON et al., 2003; LAKE et al., 2004).

4.3.4. Therapie

In den meisten Fällen wird eine Analbeutelentzündung symptomatisch therapiert. Wenn andere Symptome der Haut vorliegen, sollte nach einer zugrundeliegenden Ursache geforscht werden, da es häufig einen Zusammenhang mit z.B. einer Allergie geben kann (JAMES et al., 2010). Die Therapie ist meistens eine Kombination aus Entleerung des Sekrets, gründlicher Spülung der Analbeutel mit physiologischer Kochsalzlösung und Instillation eines lokalen Medikaments. Gut geeignet sind kommerziell erhältliche Ohrentropfen, die sowohl ein Antibiotikum und Antimykotikum mit einem Entzündungshemmer kombinieren. In manchen Fällen kann eine systemische Therapie nötig sein.

4.4. Autoimmunkrankheiten

4.4.1. Pemphigus

Pemphigus ist eine autoimmune Erkrankung, die mit der Entstehung von Vesikeln oder Pusteln einhergeht. Bei Hund und Katze sind fünf Formen beschrieben: Pemphigus foliaceus, Pemphigus erythematodus, Panepidermaler pustulöser pemphigus (PPP), Pemphigus vulgaris (PV) und der paraneoplastische Pemphigus (PNP) (ROBINSON et al., 1999). Insgesamt sind Autoimmunerkrankungen relativ selten. Die Inzidenz liegt bei etwa 2 % (ROSENKRANTZ, 2004). Pemphigus foliaceus ist beim Hund mit ca. 30 % die am häufigsten vorkommende Form (WERNER et al., 1983). Bei der Katze ist die Erkrankung seltener.

4.4.1.1. Ätiologie

Die auslösende Ursache der Pemphiguserkrankung ist in den meisten Fällen nicht bekannt. Es werden unterschiedliche Auslöser für die Entstehung von Pemphigus diskutiert. Umweltfaktoren wie Sonnenlicht erscheinen möglich (PASCAL et al., 1995; IWASAKI & MAEDA, 1997; IWASAKI & YAMAKITA-YOSHIDA, 2003) und die Folge einer Arzneimittelreaktion wird diskutiert (MASON & DAY, 1987; NOLI et al., 1995; STANLEY, 1999; SCOTT et al., 2001b; WHITE et al., 2002). Der Pathomechanismus beruht auf der Zerstörung von Zellverbindungen zwischen den Keratinozyten durch Autoantikörper. Die Zerstörung der Verbindungen hat eine Akantholyse der Zellen zur Folge was bedeutet, dass die Epithelzellen sich aus ihrem Verband lösen und abrunden (ROSENKRANTZ, 2004). Die Entstehung der Autoantikörper wird möglicherweise durch eine abnorme Immunsystemregulation oder abnorme Antigenstimulation

hervorgerufen (ROSENKRANTZ, 2004).

4.4.1.2. Klinik

Die klinische Symptomatik präsentiert sich Tierarten-übergreifend auf ähnliche Weise (OLIVRY, 2006). Bei den meisten Tieren beginnt die Symptomatik im Gesichtsbereich, und hierbei sind vor allem die Schnauze, dorsaler Nasenrücken und die Ohren betroffen. Am Körper ist häufig der Rumpf betroffen (MUELLER et al., 2006). Das Verteilungsmuster der Läsionen ist meistens symmetrisch (IHRKE et al., 1985a). Bei einem Drittel der Hunde mit Pemphigus foliaceus sind die Ballen (IHRKE et al., 1985b) und in selteneren Fällen auch die Krallen mitbetroffen (GUAGUERE & DEGORCE-RUBIALES, 2004). Die häufigsten Läsionen sind Pusteln oder Bläschen und daraus resultierende Krusten, Erosionen oder Ulzerationen. Je nach Dauer der Erkrankung ist das klinische Bild auch mit Alopezie oder Lichenifikationen vergesellschaftet (ROSENKRANTZ, 2004). Juckreiz und sekundäre Infektionen sind häufig (MUELLER et al., 2006). Allgemeinsymptome wie Fieber, Anorexie und Gewichtsverlust können vorkommen (IHRKE et al., 1985a). Die Katze wird häufig mit gelblichen Krusten im Gesichtsbereich präsentiert. Charakteristisch sind zusätzlich weißlich-käsige Beläge an den Krallen (CACIOLO et al.; PREZIOSI et al., 2003). Eine genetische Prädisposition beim Akita Inu und beim Chow Chow ist beschrieben (IHRKE et al., 1985a; ROSENKRANTZ, 2004; OLIVRY, 2006). Das durchschnittliche Alter der betroffenen Tiere kann stark variieren und liegt im Mittel bei sechs Jahren (IHRKE et al., 1985a; MUELLER et al., 2006). Bei der Katze ist keine Rasseprädisposition bekannt (OLIVRY, 2006), allerdings wird die Krankheit häufig bei Europäisch Kurzhaarkatzen beschrieben (PREZIOSI et al., 2003).

Beim Pemphigus erythematosus sind die Läsionen nur auf das Gesicht begrenzt, und es zeigt sich keine Generalisierung. Der Pemphigus vulgaris ist eine schwerere Form, hierbei werden die Schleimhäute der Mundhöhle, Lippen, Nase, Genitalien und Augen mitbetroffen (ROSENKRANTZ, 2009).

4.4.1.3. Diagnose

Um das Vorliegen eines Pemphigus sicher zu diagnostizieren, ist die Entnahme einer Biopsie mit anschließender histologischer Untersuchung das Mittel der Wahl. Das klinische Bild und die Durchführung einer zytologischen

Untersuchung können vorab wertvolle Hinweise liefern. Typischerweise findet man auf der Zytologie akantholytische Zellen, nicht degenerierte neutrophile Granulozyten und eosinophile Granulozyten (COWELL et al., 2008). Vor einer Biopsieentnahme sollten Sekundärinfektionen behandelt werden. Optimalerweise werden Primärläsionen wie Vesikel oder Pusteln biopsiert. Diese sind jedoch sehr fragil und häufig nicht mehr intakt. Die richtige Auswahl der Entnahmelokalisationen und Entnahmetechnik sind sehr wichtig für die Interpretation (YAGER, 2009). Akantholytische Keratinozyten können auch bei einer eitrigen bakteriellen Infektion (KUHL et al., 1994) oder einer Dermatophyteninfektion (PARKER & YAGER, 1997) vorliegen, hierbei aber in der Regel in geringerer Anzahl (PARKER & YAGER, 1997). Allerdings sollten diese beiden wichtigsten Differentialdiagnosen vor Beginn der Therapie unbedingt ausgeschlossen werden (OLIVRY, 2006).

4.4.1.4. Therapie

Die immunsuppressive Therapie ist für das Management von Autoimmunerkrankungen weitverbreitet. Die Anwendung von Glukokortikoiden ist die häufigste und initial auch die Therapieform der Wahl (ROSENKRANTZ, 2004; OLIVRY, 2006). Bei den Tieren, die nur lokal begrenzte Läsionen aufweisen, kann in seltenen Fällen eine topische Therapie ausreichend sein. Bei Vorliegen einer sekundären Infektionen müssen entsprechend geeignete Antiinfektiva zusätzlich eingesetzt werden (GOMEZ et al., 2004; ROSENKRANTZ, 2004). Prednisolon ist das am häufigsten eingesetzte Glukokortikoid, es wird in einer immunsuppressiven Dosierung angewandt. Alternativ können Methylprednisolon oder Dexamethason eingesetzt werden. Das langfristige Ziel der Pemphigustherapie ist es, die Dosierung so weit wie möglich zu reduzieren. Wenn die Therapie gut anschlägt, kann nach 10 bis 14 Tagen mit der Dosisreduktion begonnen werden und über einen Zeitraum von etwa 30 bis 40 Tagen langsam durchgeführt werden (ROSENKRANTZ, 2004). Die häufigsten Nebenwirkungen der Glukokortikoide sind Polyurie, Polydipsie, Polyphagie, Muskelatrophie, Hautatrophie und die Anfälligkeit für bakterielle Haut- und Blaseninfektionen sowie die Gefahr der Erkrankung an einer Demodikose oder Dermatophytose (ROSENKRANTZ, 2004). Es wird empfohlen, eine Urin- und Blutuntersuchung halbjährlich durchzuführen.

Alternative Therapeutika, die bei schwierigeren, therapieresistenten Fällen zusätzlich angewandt werden können sind Azathioprin, Cyclophosphamid oder Chlorambucil (IHRKE et al., 1985a; ROSENKRANTZ, 2004). In weiteren Fällen können Tetrazykline und Niacinamid, sowie Zyklosporin und Takrolimus von Vorteil sein und einen kortisonsparenden Effekt haben (OLIVRY et al., 2003; ROSENKRANTZ, 2004; MUELLER et al., 2006). Bei Katzen ist eine Glukokortikoidmonotherapie in einer Dosierung von 4 bis 5 mg (Milligramm)/kg (Kilogramm)/d (day) meistens ausreichend, um die Tiere in Remission zu bringen (PREZIOSI et al., 2003).

Die Prognose muss je nach Schweregrad und insbesondere je nach Ansprechen auf die initiale Therapie gestellt werden. Pemphigus foliaceus hat eine deutlich bessere Prognose als Pemphigus vulgaris. Diese Form ist die aggressivere Erkrankung und benötigt eine aggressivere Form der Therapie, und es muss mit stärkeren Nebenwirkungen gerechnet werden (ROSENKRANTZ, 2004). Es gibt unterschiedliche Daten zur Überlebensrate. GOMEZ et al. beschrieben eine Überlebensrate von 39,5 % nach einer Zeit von sechs Jahren. 92 % der verstorbenen Hunde wurden nach einem Jahr der Therapie euthanasiert und 87 % von ihnen aufgrund von Medikamentennebenwirkungen (GOMEZ et al., 2002). ROSENKRANTZ et al. analysierten retrospektiv 31 Fälle über einen Zeitraum von ein bis fünf Jahren. 71 % der Hunde lebten nach diesem Zeitraum noch. Vier der neun verstorbenen Hunde wurden nach einem Jahr aufgrund von schlechtem Ansprechen auf die Therapie euthanasiert, weil die Medikamente vom Besitzer abgesetzt wurden und sie einen Rückfall erlitten. Die restlichen fünf Hunde verstarben aufgrund anderer unabhängiger Gründe. Eine weitere retrospektive Studie mit 91 Hunden ergab eine Überlebensrate von 87 %. 52 % von ihnen wurden komplett und 35 % teilweise in Remission gebracht (MUELLER et al., 2006).

4.5. Infektionskrankheiten

4.5.1. Leishmaniose

4.5.1.1. Ätiologie

Die Leishmaniose ist eine Infektionskrankheit, die von einem Protozoon, *Leishmania infantum* verursacht wird. Der übertragene Vektor der Leishmanien

ist eine Sandmücke der Art *Phlebotomus*. Gewebemakrophagen phagozytieren die Promastigoten (infektiöse Form) und diese entwickeln sich zu Amastigoten. Die Amastigoten vermehren sich in den Makrophagen, führen zu dessen Untergang und werden somit freigesetzt. Durch die erneute Phagozytose durch weitere Makrophagen wird der Infektions- und Vermehrungszyklus aufrecht erhalten (CHANCE & EVANS, 1999). Sobald sich eine Infektion etabliert hat, persistiert sie in der Regel in Geweben, die reich an Monozyten/Makrophagen sind. Die Sandmücken kommen vor allem in wärmeren Regionen wie z.B. Spanien, Italien, Griechenland und in Südamerika vor. Daher ist die Verbreitung der Erkrankung dort sehr groß. Es wurden allerdings auch in Deutschland schon autochthone Fälle beschrieben (NAUCKE et al., 2008). Es ist keine Rasse-, Geschlechts-, oder Altersprädisposition bekannt (ABRANCHES et al., 1991; BRANDONISIO et al., 1992; FISA et al., 1999; ALVAR et al., 2004; SANCHEZ-ROBERT et al., 2005). Besonders häufig tritt die Erkrankung bei Hunden auf, welche das Hauptreservoir darstellen, jedoch sind Fälle bei Katzen beschrieben (MARTIN-SANCHEZ et al., 2007).

4.5.1.2. Klinik

Die klinische Symptomatik kann sehr unterschiedlich sein, da viele verschiedene Pathomechanismen eine Rolle spielen und inwieweit Organe mitbetroffen sind oder wie kompetent das Immunsystem des betroffenen Tieres ist (BANETH et al., 2008). Die Erkrankung kann potentiell fast jedes Organ in Mitleidenschaft ziehen. Die häufigsten klinischen Symptome sind Läsionen der Haut und generalisierte Lymphadenomegalie (CIARAMELLA et al., 1997; KOUTINAS et al., 1999). Gewichtsverlust, Anorexie, Polyurie und Polydipsie, Nasenbluten, Erbrechen, Durchfall, Lahmheit, Muskelatrophie oder Onychogryphose sind Symptome, die man im Rahmen einer Leishmaniose sehen kann (SLAPPENDEL, 1988; CIARAMELLA et al., 1997; KOUTINAS et al., 1999; BANETH et al., 2008). Die Hautläsionen können sich in unterschiedlicher Form präsentieren. Eine exfoliative oder ulzerative Dermatitis ist beschrieben. Hierbei sind vor allem das Gesicht, die Ohren und Ohrränder und die Gliedmaßen betroffen. Die Läsionen können lokalisiert oder generalisiert auftreten, mit Krusten oder Papeln oder knotig verändert sein (ORDEIX et al., 2005). In selteneren Fällen kommt es unter anderem zu einer Depigmentierung, Pannikulitis oder Hyperkeratose der Nase und Ballen oder einem Erythema multiforme (BLAVIER et al., 2001;

PAPADOGIANNAKIS et al., 2005). Sekundäre Infektionen sind eine häufige Komplikation. Der Zeitpunkt der klinischen Manifestation kann zwischen einigen Wochen bis hin zu Monaten oder Jahren nach der Infektion sein. Dieser hängt maßgeblich vom Immunsystem des Wirtes und der Leishmanienmenge ab. In vielen Fällen kommt es durch eine ständige Antigenstimulation und Antikörperproduktion zur chronischen Hypergammaglobulinämie und dadurch zu Komplikationen wie Glomerulonephritiden, Vaskulitiden, Polyarthritiden, Uveitiden und Meningitiden oder sogar zur Bildung von Autoantikörpern gegen Thrombo- und Erythrozyten (ALVAR et al., 2004).

4.5.1.3. Diagnose

Die Diagnose der Leishmaniose wird mit Hilfe von Signalement, Anamnese, der klinischen Untersuchung und speziellen diagnostischen Tests gestellt. Eine der wichtigsten Fragen der Anamnese sollte sein, ob die Besitzer mit dem Tier im Ausland waren und ob eine ausreichende Reiseprophylaxe durchgeführt wurde. Weiterhin können Informationen zur Einnahme von regelmäßigen Medikamenten die eine Wirkung auf das Immunsystem haben von Bedeutung sein. In der Diagnostik gibt es einige direkte und indirekte Nachweisverfahren (MAIA & CAMPINO, 2008). Die einfachste und schnellste Methode ist die zytologische Untersuchung. Es können Abklatschpräparate der Haut auf Leishmanien untersucht werden. Typischerweise wird sich eine gemischte Entzündungsreaktion mit Makrophagen inklusive der phagozytierten Leishmanien zeigen (THRALL, 2000). Die Leishmanien sind klein und oval und ca. 2 µm breit und 3 µm lang. Das Zytoplasma färbt sich hellblau an und sie haben einen relativ großen roten Kern. Im rechten Winkel zu dem Kern ist der dunkellila stäbchenförmige Kinetoplast, der wie eine Verlängerung des Kerns aussieht (THRALL, 2000; MAIA & CAMPINO, 2008). In manchen Fällen und großer Leishmanienzahl kann man sie auch extrazellulär finden, bevor sie von weiteren Makrophagen phagozytiert werden. FERRER und ALVAR et al. rechneten der zytologischen Untersuchung von Knochenmark und Lymphknoten eine Sensitivität von 60 - 75 % und 30 - 50 % zu (FERRER, 1999; ALVAR et al., 2004). ROSYPAL et al. konnten bei 93 % der Proben aus Knochenmark und Lymphknoten von natürlich infizierten Hunden Leishmanien finden (ROSY PAL et al., 2005). Weitere Möglichkeiten des direkten Erregernachweises sind z.B. die histologische Untersuchung oder Polymerase Kettenreaktion (PCR) aus den verschiedenen

Gewebe. Das am häufigsten angewendete indirekte Nachweisverfahren ist die Antikörpertiterbestimmung (PALTRINIERI et al., 2010).

4.5.1.4. Therapie

Die Therapie und das Management der Leishmaniose kann zu einer großen Herausforderung werden. Das Immunsystem spielt eine entscheidende Rolle in der Entwicklung und Ausprägung der Symptome und beim Erfolg der Therapie (AMUSATEGUI et al., 1998b). Das Ziel der Leishmaniosetherapie ist die Remission der klinischen Symptome und die Verhinderung eines Rezidives. Mit den bisher verfügbaren Medikamenten ist es nicht möglich, eine vollständige Erregerelimination zu erreichen, sondern es wird nur die Menge an Leishmanien reduziert (AMUSATEGUI et al., 1998a). Im Folgenden werden nur die am häufigsten verwendeten Therapeutika besprochen. Diese umfassen: Megluminantimonat, Allopurinol und Miltefosin.

Antimonate, wie das Megluminantimonat, hemmen die Glykolyse und die Fettsäureoxidation und führen somit einen Energieverlust der Leishmanien herbei, welches zu ihrem Tod führt. Das Medikament hat eine sehr kurze Halbwertszeit und ist nach etwa sechs bis neun Stunden zu 85 bis 95 % über die Nieren ausgeschieden (TASSI et al., 1994; VALLADARES et al., 1996). Die Wirksamkeit in einer Dosierung von 100 mg/kg/d ist bewiesen und das Medikament wird gut vertragen. Die tägliche Gabe erfolgt in der Regel über einen Zeitraum von mindestens vier Wochen. Die häufigsten Nebenwirkungen sind lokale Reaktionen an der Injektionsstelle und in seltenen Fällen Fieber, Anorexie, Erbrechen und Durchfall (SLAPPENDEL & TESKE, 1997; DENEROLLE & BOURDOISEAU, 1999).

Allopurinol ist ein Hemmer der Xanthinoxidase. In den Leishmanien wird das Allopurinol umgebaut und in die RNA eingebaut, wo es die Proteinsynthese stört, und zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Parasitenvermehrung führt. Es ist kein besonders wirksames Medikament, aber bei der Gabe von 5 bis 20 mg/kg/BID (bis in die) führt es zu einer moderaten klinischen und labordiagnostischen Besserung (CAVALIERO et al., 1999; VERCAMMEN et al., 2002; PENNISI et al., 2005; SASANELLI et al., 2007; OLIVA et al., 2010). Bei Patienten mit Proteinurie, kann Allopurinol eine zunehmende Verschlechterung der Nieren verlangsamen (PLEVRAKI et al., 2006).

Miltefosin bewirkt eine Störung des Phospholipidmetabolismus, der Signalübertragung und der Membranbiosynthese der Leishmanien, welches zu ihrem Untergang führt (CROFT et al., 1987). In einer Dosierung von 2 mg/kg/d für 28 Tage zeigt das Medikament eine gute Wirkung und eine starke Reduzierung der Parasitenmenge (MANNA et al., 2009; MATEO et al., 2009; MIRO et al., 2009). Die Kombination mit Allopurinol steigert die Wirkung von Miltefosin (MANNA et al., 2009; MIRO et al., 2009). Die häufigsten Nebenwirkungen von Miltefosin sind Erbrechen oder Durchfall (MATEO et al., 2009; MIRO et al., 2009).

Auch Megluminantimonat kann in Kombination mit Allopurinol verwendet werden und in manchen Fällen wird eine längere klinische Remission erreicht (DENEROLLE & BOURDOISEAU, 1999).

4.6. Neoplasien

Die Zytologie wird regelmäßig zur Diagnose von Hauttumoren eingesetzt. Die zuverlässige und korrekte Interpretation bedarf einer speziellen Ausbildung im Rahmen der Spezialisierung für Onkologie. Es würde in diesem Rahmen zu weit führen auf die einzelnen Hautneoplasien und ihr zytologisches Bild einzugehen.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Vorbereitungsphase

1.1. Probengewinnung

Im Rahmen der dermatologischen Sprechstunde an der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München wurden Proben für zytologische Untersuchungen gewonnen. Von veränderten Stellen der Haut wurden Abklatschpräparate angefertigt. Ein Objektträger (Assistent® Elka Objektträger, Glaswarenfabrik Karl Hecht, GmbH & CO KG, Sondheim, Deutschland) wurde auf die Haut aufgedrückt und anschließend beschriftet (Entnahmelokalisation, Patientennummer und Datum). Bei Tieren mit einer Otitis, wurden die Proben aus den Gehörgängen entnommen. Eine assistierende Person fixierte das Tier fachgerecht, um Abwehrbewegungen und somit Verletzungen der Gehörgänge zu vermeiden. Die Ohrmuschel wurde von der Proben nehmenden Person an der Spitze festgehalten und senkrecht nach oben gezogen und mit der anderen Hand wurde ein herkömmlicher, unsteriler Wattetupfer (Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & CO KG, Sondheim, Deutschland) in den Gehörgang bis zu der Stelle eingeführt, an dem der Knorpel des vertikalen Gehörganges mit einem 75° (Grad) Winkel in den horizontalen Gehörgang übergeht (ANGUS, 2004). Hier wurde der Tupfer mehrmals vorsichtig rotiert und wieder herausgezogen. Das gewonnene Material wurde auf der Oberfläche eines Objektträgers abgerollt. Wenn beide Ohren betroffen waren, wurden Tupferproben beider Ohren auf den gleichen Objektträger aufgetragen und entsprechend beschriftet (links/rechts) (Abbildung 3). Die Proben wurden luftgetrocknet, mit einem Feuerzeug einige Sekunden hitzefixiert und mittels einer modifizierten Wrights Färbung angefärbt (Diff Quik, Medion Diagnostics AG, Düringen, Schweiz). Das Färbeset bestand aus einer Fixierlösung und zwei Farblösungen: Fixierlösung (Fast Green in Methanol), Farblösung I (Eosin in Phosphatpuffer und Natriumazid (Konservierungsmittel)) und Farblösung II (Thiazin in Phosphatpuffer).

Anschließend wurden die gefärbten, getrockneten Präparate in einem Präparatekasten (Assistent®) bis zur weiteren Analyse gesammelt und aufbewahrt. In diesem Kasten waren sie vor Umwelteinflüssen weitestgehend geschützt.

1.2. Auswahl der Präparate

Aus insgesamt 50 gesammelten Präparaten wurden nach sorgfältiger mikroskopischer Voruntersuchung, zehn für die Beurteilung geeigneten Präparate ausgewählt. Die wichtigsten Auswahlkriterien waren möglichst eindeutige Erkennbarkeit der zu beurteilenden Bakterien, Hefen und Entzündungszellen und wenig Artefakte, die potentiell mit z.B. Bakterien verwechselt werden könnten. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass die Anzahl der Bakterien, Hefen und Entzündungszellen insgesamt variierte.

Zum Abschluss der Vorbereitungsphase wurden auf die Objektträger jeweils drei Tropfen EUKITT® Mounting Medium entlang der horizontalen Mittellinie aufgetragen und ein Deckglas darauf platziert, ohne dass Luftbläschen entstanden. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um die Qualität der Präparate während der zahlreichen Untersuchungsdurchgänge aufrecht erhalten zu können, um möglichst einheitliche Voraussetzungen für jeden Untersucher zu gewährleisten.

Als letzter Schritt der Vorbereitung für die Hauptuntersuchungsphase wurden die Präparate verblindet und mit zwei unterschiedlichen, zufällig ausgewählten Nummern zwischen 1 und 100 beschriftet. Diese Nummern hatten zwei verschiedene Farben: die Farbe rot repräsentierte die Zahl für den ersten Durchgang und die Farbe blau die Zahl für den zweiten Durchgang.

1.3. Auswahl der Fotografien

Während der mikroskopischen Voruntersuchung der 50 Präparate, wurden insgesamt 260 Aufnahmen von unterschiedlichen, interessanten Arealen gemacht. Die Fotos wurden mit Hilfe einer integrierten digitalen Kamera (ColorView IIIu® Olympus Imaging Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) und entsprechendem Softwareprogramm (AnalySIS docu, Olympus Imaging Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) aufgenommen und bearbeitet. 18 Fotos (Abbildungen 4 – 21), die am geeignetsten erschienen, wurden für die Hauptuntersuchung ausgewählt. Die Kriterien für die Auswahl waren auch hier Eindeutigkeit, Qualität der Aufnahme und eine variierende Menge an Bakterien, Hefen und Entzündungszellen.

Um die Beurteilung der Fotos einfacher zu gestalten, wurden jeweils drei Fotos auf eine DIN (Deutsche Industrie-Norm) A 4 Seite farbig ausgedruckt. Um die Qualität zu bewahren, wurde jede Seite laminiert (Creative Laminator A4, Northbrook, Illinois, USA). Die Reihenfolge und Nummerierung der Fotos wurde

für beide Durchgänge unterschiedlich gestaltet, um eine Verblindung zu gewährleisten.

Bestandteil der Hauptuntersuchung waren somit zehn Präparate und 18 Fotos auf insgesamt zwölf laminierten DIN A 4 Seiten (sechs Seiten pro Durchgang) mit jeweils drei Fotos pro Seite.

Die mikroskopische Voruntersuchung, die Aufnahme der Fotos und die Auswahl der Präparate und der Fotos wurde von der gleichen Person durchgeführt.

2. Beurteilung

2.1. Untersucher und Gruppeneinteilung

Insgesamt nahmen 60 Personen an der Studie teil. Jeder wurde gebeten, zehn Präparate und 18 Fotografien zu evaluieren. Alle Teilnehmer sollten die Proben zweimal beurteilen, um die individuelle Reproduzierbarkeit der Ergebnisse untersuchen zu können. Die einzelnen Durchgänge mussten mindestens sechs Stunden auseinander liegen. Ein maximaler Zeitabstand wurde nicht festgelegt. Es wurden zwei Gruppen gebildet. Die Teilnehmer wurden aufgrund ihrer Erfahrung in der Beurteilung zytologischer Präparate einer der beiden Gruppen zugeteilt. Insgesamt wurden 29 Personen in die erfahrene, und 31 Personen in die unerfahrene Gruppe eingeschlossen.

Das Einschlusskriterium für die erfahrene Gruppe war die Beurteilung von mehr als zehn zytologischen Präparaten pro Woche. Die Teilnehmer waren Doktoranden der Veterinärdermatologie mit einigen Monaten Erfahrung, praktische Tierärzte, deren besonderes Interesse der Dermatologie galt bis hin zu Residents und Diplomates der Veterinärdermatologie und der klinischen Onkologie. In die zweite Gruppe wurden all diejenigen Personen eingeschlossen, die zehn oder weniger Präparate pro Woche evaluierten. Die unerfahrene Gruppe bestand aus Tierärzten, die an einer veterinärdermatologischen Fortbildung teilnahmen, aus Doktoranden der Veterinärmedizin mit mikroskopischer Erfahrung und Studenten, die im Rahmen der klinischen Rotation in der Abteilung für Dermatologie mitarbeiteten. Ein für beide Gruppen gültiges Einschlusskriterium war, dass die einzelnen Kategorien (Bakterien, Hefen, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten und Makrophagen) bekannt sein mussten und erkannt werden konnten.

2.2. Beurteilungsmethode

Die evaluierte Methode ist eine semiquantitative Beurteilungsmethode anhand derer verschiedene Zellen oder Mikroorganismen eingeteilt werden können. Für diese Studie wurden Kokken, Stäbchen, Malassezien, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten, sowie Makrophagen in jeweils fünf Stufen eingeteilt.

Die fünf Stufen waren folgende:

Negativ = Es sind keine Bakterien/Hefen/Entzündungszellen vorhanden

± = Es sind gelegentlich Bakterien/Hefen/Entzündungszellen vorhanden, allerdings muss das Präparat durchgemustert werden

++ = Es sind Bakterien/Hefen/Entzündungszellen in geringer Zahl vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

+++ = Es sind Bakterien/Hefen/Entzündungszellen in größerer Zahl vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

++++ = Es sind massenhaft Bakterien/Hefen/Entzündungszellen vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

2.3. Durchführung

Für die Beurteilung der Präparate wurde kein einheitliches Schema für die Durchmusterung vorgegeben, sondern die Untersucher wurden gebeten, die Proben in gewohnter Weise zu evaluieren. Denjenigen Teilnehmern, die aufgrund ihrer geringeren Erfahrung keine eigene Methode hatten, wurde ein Schema vorgeschlagen. Sie sollten das Präparat unter kleiner Vergrößerung (x40 bis x100) nach Arealen mit viel Material durchmustern, und eine oder mehrere Stellen mit entsprechend größerer Vergrößerung (x400 bis x1000) näher beurteilen, so dass eine gesamte Bewertung für das Präparat abgegeben werden konnte. Es wurde nicht vorgegeben mit welcher exakten Vergrößerung die Präparate letztlich beurteilt werden sollten, die verwendeten Mikroskope boten die Möglichkeiten x40, x100, x400 und x1000.

Die Teilnehmer konnten wählen, ob sie mit der Beurteilung der Präparate oder der Fotografien beginnen wollten. Ihnen wurde keine zeitliche Vorgabe für die Dauer der Beurteilung gemacht. Das ausgefüllte Formblatt vom ersten Durchgang war ihnen während dem zweiten Durchgang nicht zugänglich.

Insgesamt standen drei Mikroskope für die Durchführung der Beurteilung zur Auswahl, da die Untersuchungen an drei verschiedenen Orten durchgeführt wurden (Olympus BX 51 und BX 41, Olympus Imaging Europa GmbH, Hamburg, Germany und Leica DMLS PHACO, Leica GmbH, Wetzlar, Germany). Allerdings fanden beide Durchgänge für jeden einzelnen Beobachter jeweils am selben Mikroskop statt.

3. Dokumentation

Jedem Untersucher wurden pro Durchgang zwei Formblätter (siehe Anhang) ausgehändigt auf welchem persönliche Daten, die Erfahrungsstufe und die Ergebnisse der Beurteilung dokumentiert werden sollten. Zusätzlich wurde das Datum und die Uhrzeit notiert. Den Teilnehmern wurde es freigestellt, ob sie ihren richtigen Namen oder ein Synonym angaben.

Die Ergebnisse wurden in eine dafür erstellte Tabelle eingetragen. Die Identifikation der Präparate und Fotos erfolgte über individuell den Proben zugeteilten Nummern und somit gab es insgesamt vier unterschiedliche Tabellen. Zusätzlich zur Einteilung in die einzelnen Stufen (negativ - 4+) wurden die Teilnehmer gebeten, anzugeben, ob sich Bakterien intrazellulär befanden.

Die Erklärung der einzelnen Bewertungen in Worten war ebenfalls auf dem Formblatt abgedruckt.

4. Übereinstimmungskriterien

4.1. Individuelle Reproduzierbarkeit

Die Ergebnisse wurden gemäß einer stufenweisen Übereinstimmung bewertet. Die Beurteilungen der beiden Durchgänge wurden als übereinstimmend angesehen, wenn die Einschätzungen exakt miteinander übereinstimmten oder wenn (bei einem nicht negativen Befund) weniger als eine Stufe zwischen beiden Werten lag. Wenn in einem Durchgang die Bewertung negativ gewählt wurde und im zweiten Durchgang eine Bewertung von 1+ erfolgte, so wurde das also nicht als Übereinstimmung gewertet.

4.2. Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher

Um die Übereinstimmung der verschiedenen Untersucher zu bestimmen, wurde vor der Auswertung ein Mittelwert aller Bewertungen pro Kategorie errechnet.

Die einzelnen Beurteilungen jedes Untersuchers wurden anschließend jeweils mit dem Mittelwert der entsprechenden Kategorie und dem entsprechenden Durchgang verglichen und als Übereinstimmung gewertet, wenn die Beurteilung nicht mehr als 1 vom Mittelwert abwich. Wenn der Mittelwert zwischen 0 und 0,49 lag, wurde negativ als Übereinstimmung gewertet und wenn die Beurteilung zwischen 0,5 und 0,99 lag, wurde 1+ als Übereinstimmung bewertet. Wenn der Mittelwert eine ganze Zahl ergab, wurden die Aussagen wie bei der individuellen Reproduzierbarkeit bewertet und die Ergebnisse durften wiederum nicht mehr als eine Stufe vom Mittelwert abweichen, um als Übereinstimmung zu gelten. Die Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher wird im Folgenden als Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit bezeichnet.

5. Statistik

Für die Auswertung der Studie wurde eine deskriptive Statistik durchgeführt, sowie die Übereinstimmungen in Prozent berechnet. Eine prozentuale Übereinstimmung von $\geq 80\%$ wurde als reproduzierbar angesehen. Um die individuelle Reproduzierbarkeit der einzelnen Personen zu berechnen, wurden die Datenpaare beider Durchgänge der einzelnen Kategorien Kokken, Stäbchen, Malassezien, neutrophile und eosinophile Granulozyten, sowie Makrophagen mit einem Wilcoxon Vorzeichen Rang Test verglichen. Der Vergleich der Ergebnisse des ersten Durchgangs der verschiedenen Untersucher innerhalb einer Gruppe und der Ergebnisse der verschiedenen Gruppen miteinander wurde mittels dem Friedmann und dem Dunn Post Test verglichen. Beim Vergleich beider Gruppen wurden die Ergebnisse der erfahrenen Gruppe mit den Ergebnissen beider Teilgruppen der unerfahrenen Gruppe verglichen. Ein p – Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant erachtet.

IV. ERGEBNISSE

1. Untersucher

Es nahmen insgesamt 60 Untersucher an der Studie teil. 29 Personen (48,3 %) wurden der erfahrenen Gruppe und 31 Personen (51,7 %) der unerfahrenen Gruppe zugeteilt. Von den erfahrenen Untersuchern waren vier der Teilnehmer männlich (13,8 %) und 25 Teilnehmer weiblich (86,2 %). Bei den unerfahrenen Untersuchern nahmen vier Männer (12,9 %) und 27 Frauen (87,1 %) teil.

Die Fotografien wurden im ersten Durchgang von allen Teilnehmern der erfahrenen Gruppe beurteilt. 28 Personen (96,6 %) bewerteten alle 18 Fotos und eine Person (3,4 %) bewertete 14 Fotos (77,8 %). Im zweiten Durchgang wurden die Fotos von 25 Personen (86,2 %) bewertet und jeder evaluierte alle 18 Bilder.

In der unerfahrenen Gruppe wurden die Fotografien im ersten Durchgang von 28 Personen (90,3 %) bewertet. 27 von ihnen (87,1 %) beurteilten alle 18 Fotos und ein Teilnehmer (3,2 %) evaluierte 17 Fotos (94,4 %). Im zweiten Durchgang wurden die Fotos von 18 Personen (58,1 %) evaluiert und jeder bewertete alle 18 Fotos.

Die mikroskopische Untersuchung wurde im ersten Durchgang von 26 erfahrenen Personen (89,7 %) durchgeführt. 21 von ihnen (80,8 %) beurteilten alle zehn Präparate, zwei Personen (7,7 %) beurteilten neun Präparate, zwei Personen (7,7 %) fünf Präparate und ein Teilnehmer (3,8 %) bewertete vier Präparate. Im zweiten Durchgang wurden die Präparate von 25 Personen (86,2 %) evaluiert. 21 von ihnen (84 %) bewerteten zehn Präparate, zwei (8 %) neun Präparate, eine Person (3,4 %) fünf und eine Person (3,4 %) evaluierte vier Präparate.

In der unerfahrenen Gruppe wurden die Präparate im ersten Durchgang von 27 Personen (87,1 %) evaluiert. Hierbei bewerteten 21 Personen (77,8 %) zehn Präparate, zwei (7,4 %) bewerteten neun Präparate und vier Personen (14,8 %) fünf Präparate. Im zweiten Durchgang nahmen 18 Personen (58,1 %) teil. 14 von ihnen (77,8 %) bewerteten alle zehn Präparate, drei (16,7 %) neun und ein Teilnehmer (5,6 %) bewertete fünf Präparate.

Der Ausbildungsgrad der einzelnen Teilnehmer innerhalb einer Gruppe und auch die Anzahl und Art der akademischen Titel variierte. In der erfahrenen Gruppe

waren insgesamt sechs der Teilnehmer (20,7 %) Diplomates für Dermatologie, ein Teilnehmer (3,4 %) Diplomate für Innere Medizin, Onkologie und klinische Pathologie, drei Residents (10,3 %) und zehn Doktoranden (34,5 %) der Dermatologie, weiterhin nahmen zwei Doktoranden der Onkologie (6,9 %) teil. Insgesamt trugen 14 Personen (48,3 %) einen Dokortitel der Veterinärmedizin und bei zwei Teilnehmern (6,9 %) war der akademische Grad nicht bekannt.

Die unerfahrene Gruppe bestand aus 17 Studenten der Veterinärmedizin (54,8 %), acht Tierärzten ohne weitere Spezialisierung (25,8 %), einer Fachtierärztin für Kleintiere (3,2 %), drei Doktoranden der Veterinärmedizin (9,8 %) (eine der Histologie und zwei tätig in der Forschung für die Humanmedizin), einer Tierarzhelferin (3,2 %) und einer Tierärztin (3,2 %), die zu diesem Zeitpunkt ein Internship der Inneren Medizin absolvierte. Insgesamt zwei der Teilnehmer (6,5 %) hatten einen Dokortitel der Veterinärmedizin.

Der individuelle Erfahrungsgrad der unerfahrenen Teilnehmer wurde bei weniger als zehn Präparaten pro Woche festgelegt und von ihnen evaluierten 16 (51,6 %) Personen 0 - 2 Präparate pro Woche und 15 (48,4 %) 3 - 10 zytologische Präparate pro Woche. Alle erfahrenen Teilnehmer beurteilten mehr als zehn Präparate pro Woche.

2. Anzahl der Beurteilungen

2.1. Präparate

In der erfahrenen Gruppe wurden insgesamt 1439/1452 Beurteilungen im ersten und 1428/1428 Beurteilungen im zweiten Durchgang ausgewertet. Eine Beurteilung entspricht der Bewertung einer Kategorie auf einem Präparat. Im ersten Durchgang wurden bei vier Präparaten insgesamt 13 nicht eindeutige Angaben gemacht, die von der Bewertung ausgeschlossen wurden. Im zweiten Durchgang konnten alle Ergebnisse in der Auswertung berücksichtigt werden.

In der unerfahrenen Gruppe wurden im ersten Durchgang 1476/1488 und im zweiten Durchgang 1032/1032 Beurteilungen ausgewertet. Im ersten Durchgang wurden bei vier Präparaten insgesamt zwölf nicht eindeutige Angaben gemacht, die von der Bewertung ausgeschlossen wurden. Im zweiten Durchgang konnten alle Ergebnisse in der Auswertung berücksichtigt werden.

2.2. Fotografien

In der erfahrenen Gruppe wurden insgesamt 3097/3108 Beurteilungen im ersten und 2694/2700 Beurteilungen im zweiten Durchgang ausgewertet. Eine Beurteilung entspricht der Bewertung einer Kategorie auf einer Fotografie. Im ersten Durchgang wurden bei fünf Fotos insgesamt elf und im zweiten Durchgang bei drei Fotos insgesamt sechs nicht eindeutige Angaben gemacht, die von der Bewertung ausgeschlossen wurden.

In der unerfahrenen Gruppe wurden im ersten Durchgang 2949/3018 und im zweiten Durchgang 1944/1944 Beurteilungen ausgewertet. Im ersten Durchgang wurden bei zwölf Fotos insgesamt 69 ungenaue Angaben gemacht, die von der Auswertung ausgeschlossen wurden. Im zweiten Durchgang konnten alle Angaben ausgewertet werden.

3. Ergebnisse der prozentualen Auswertung

3.1. Individuelle Reproduzierbarkeit

3.1.1. Präparate

Die individuelle Reproduzierbarkeit, ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse einer Person in beiden Durchgängen. In der erfahrenen Gruppe beurteilten 21 Personen (84 %) alle zehn Präparate, Person 13 und 26 neun Präparate, Teilnehmer/in 28 fünf und Teilnehmer/in 29 vier Präparate. Die durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit aller Personen der erfahrenen Gruppe betrug $84,3 \pm 6,2$ %. Hierbei sind die Bewertungen auf alle Präparate und alle Kategorien bezogen.

Die in der erfahrenen Gruppe durchschnittlich pro Person erreichten Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgelistet.

In der unerfahrenen Gruppe beurteilten 13 Personen (72,2 %) alle zehn Präparate, Person 45, 53, 55 und 58 neun Präparate und Teilnehmer/in 37 beurteilte fünf Präparate. Die durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit aller Personen der unerfahrenen Gruppe betrug $82,6 \pm 6,9$ %. Hierbei sind die Bewertungen auf alle Präparate und alle Kategorien bezogen.

Tabelle 2 zeigt die in der unerfahrenen Gruppe durchschnittlich pro Person erreichten Ergebnisse.

Tabelle 1: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Person	Ergebnis \pm Standardabweichung (SA)
1	70,0 \pm 12,5
2	98,3 \pm 2,5
3	93,3 \pm 5,0
4	90,0 \pm 5,0
5	75,0 \pm 5,0
6	93,3 \pm 5,0
7	85,0 \pm 5,0
8	88,3 \pm 5,0
9	91,7 \pm 2,5
10	90,0 \pm 2,5
11	61,7 \pm 12,5
12	93,3 \pm 5,0
13	98,2 \pm 2,5
14	76,7 \pm 7,5
15	85,0 \pm 5,0
16	91,7 \pm 5,0
17	85,0 \pm 5,0
18	90,0 \pm 5,0
19	65,0 \pm 12,5
21	90,0 \pm 5,0

25	63,3 ± 7,5
26	88,9 ± 7,5
27	76,7 ± 10,0
28	83,3 ± 7,5
29	83,3 ± 7,5

Tabelle 2: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Person	Ergebnis ± SA
33	86,7 ± 7,5
34	86,7 ± 7,5
35	81,7 ± 7,5
36	66,7 ± 10,0
37	81,1 ± 7,5
45	77,8 ± 7,5
47	75,0 ± 10,0
48	76,7 ± 10,0
50	90,0 ± 5,0
51	80,0 ± 7,5
52	81,7 ± 7,5
53	81,5 ± 5,0
55	85,0 ± 5,0
56	86,7 ± 7,5
57	95,0 ± 2,5

58	87,0 ± 5,0
59	76,7 ± 7,5
60	90,0 ± 5,0

3.1.2. Fotografien

In der erfahrenen Gruppe beurteilten alle 25 Teilnehmer alle 18 Fotografien. Die durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit aller Personen der erfahrenen Gruppe betrug $92,1 \pm 4,7 \%$. Hierbei sind die Bewertungen auf alle Fotografien und alle Kategorien bezogen.

Die in der erfahrenen Gruppe durchschnittlich pro Person erreichten Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

In der unerfahrenen Gruppe beurteilten alle 18 Personen 18 Fotografien. Die durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit aller Personen der unerfahrenen Gruppe betrug $92,1 \pm 4,4 \%$. Hierbei sind die Bewertungen auf alle Fotografien und alle Kategorien bezogen.

Tabelle 4 zeigt die in der unerfahrenen Gruppe durchschnittlich pro Person erreichten Ergebnisse.

Tabelle 3: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Person	Ergebnis ± SA
1	90,7 ± 2,5
2	96,3 ± 2,5
3	88,9 ± 7,5
4	96,3 ± 2,5
5	90,7 ± 5,0
6	92,6 ± 5,0
7	94,4 ± 2,5

8	92,6 ± 5,0
9	97,2 ± 2,5
10	94,4 ± 5,0
11	84,3 ± 7,5
12	99,1 ± 2,5
13	86,1 ± 5,0
14	95,4 ± 5,0
15	95,4 ± 2,5
16	97,2 ± 2,5
17	91,7 ± 5,0
18	97,2 ± 2,5
19	81,0 ± 10,0
21	88,0 ± 5,0
25	79,6 ± 7,5
26	94,4 ± 5,0
27	88,0 ± 7,5
28	94,4 ± 5,0
29	96,1 ± 5,0

Tabelle 4: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Person	Ergebnis ± SA
30	96,3 ± 2,5
32	94,4 ± 2,5

33	90,7 ± 5,0
34	94,4 ± 5,0
35	92,6 ± 5,0
36	91,7 ± 5,0
37	84,7 ± 7,5
45	85,2 ± 7,5
47	91,7 ± 7,5
48	92,6 ± 2,5
50	94,4 ± 2,5
51	94,4 ± 5,0
52	99,1 ± 2,5
53	91,7 ± 5,0
55	90,7 ± 2,5
58	94,4 ± 2,5
59	93,5 ± 5,0
60	85,2 ± 5,0

3.1.3. Kategorien

3.1.3.1. Präparate

Die einzelnen Bewertungen der Untersucher beider Gruppen bezogen auf die Kategorien befinden sich im Anhang (Tabelle 5).

Tabelle 6 zeigt die in der erfahrenen Gruppe durchschnittlich erreichten Ergebnisse bei der Beurteilung der einzelnen Kategorien bezogen auf alle Präparate in beiden Durchgängen erzielt.

In der unerfahrenen Gruppe wurden die in Tabelle 7 dargestellten Ergebnisse in der Beurteilung der einzelnen Kategorien bezogen auf alle Präparate in beiden Durchgängen erzielt.

Tabelle 6: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	80,1 \pm 12,5
Stäbchen	87,2 \pm 2,5
Malassezien	86,2 \pm 5,0
Neutrophile Granulozyten	82,3 \pm 10,0
Eosinophile Granulozyten	93,2 \pm 0,3
Makrophagen	80,4 \pm 7,5

Tabelle 7: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	79,6 \pm 12,5
Stäbchen	93,8 \pm 2,5
Malassezien	76,9 \pm 7,5
Neutrophile Granulozyten	77,2 \pm 10,0
Eosinophile Granulozyten	91,5 \pm 2,5
Makrophagen	81,2 \pm 5,0

3.1.3.2. Fotografien

Die einzelnen Bewertungen der Untersucher bezogen auf die Kategorien befinden sich als Tabelle 8 im Anhang.

Tabelle 9 zeigt die in der erfahrenen Gruppe durchschnittlich erreichten

Ergebnisse bei der Beurteilung der einzelnen Kategorien bezogen auf alle Fotografien in beiden Durchgängen.

In der unerfahrenen Gruppe wurden die in Tabelle 10 dargestellten Ergebnisse in der Beurteilung der einzelnen Kategorien bezogen auf alle Fotografien in beiden Durchgängen erzielt.

Tabelle 9: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	85,5 \pm 7,5
Stäbchen	90,9 \pm 2,5
Malassezien	94,2 \pm 2,5
Neutrophile Granulozyten	92,3 \pm 5,0
Eosinophile Granulozyten	96,6 \pm 5,0
Makrophagen	94,0 \pm 2,5

Tabelle 10: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	87,3 \pm 5,0
Stäbchen	93,5 \pm 2,5
Malassezien	92,9 \pm 2,5
Neutrophile Granulozyten	92,7 \pm 5,0
Eosinophile Granulozyten	94,4 \pm 5,0
Makrophagen	91,7 \pm 2,5

3.2. Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher

3.2.1. Präparate

Die allgemeine Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit bezieht sich auf die Beurteilung aller Kategorien und Präparate im ersten Durchgang. Für die Beurteilung der Präparate ergab sich für die erfahrene Gruppe eine Reproduzierbarkeit von $81,6 \pm 14 \%$. Die unerfahrene Gruppe erreichte eine Reproduzierbarkeit von $81,0 \pm 14 \%$.

Die durchschnittliche Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate im ersten Durchgang für die erfahrene Gruppe zeigt Tabelle 11.

Die durchschnittliche Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate im ersten Durchgang für die unerfahrene Gruppe ist in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 11: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der erfahrenen Gruppe

Präparat	Ergebnis \pm SA
1	$92,8 \pm 7,5$
2	$80,1 \pm 12,5$
3	$84,3 \pm 15,0$
4	$75,0 \pm 17,5$
5	$86,8 \pm 12,5$
6	$72,9 \pm 15,0$
7	$84,8 \pm 17,5$
8	$89,1 \pm 12,5$
9	$74,7 \pm 17,5$
10	$75,4 \pm 12,5$

Tabelle 12: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der unerfahrenen Gruppe

Präparat	Ergebnis \pm SA
1	79,0 \pm 17,5
2	81,5 \pm 12,5
3	78,6 \pm 15,0
4	87,2 \pm 12,5
5	68,9 \pm 17,5
6	75,5 \pm 12,5
7	82,6 \pm 12,5
8	89,1 \pm 10,0
9	83,3 \pm 15,0
10	84,1 \pm 15,0

3.2.2. Fotografien

Für die Beurteilung der Fotografien ergab sich für die erfahrene Gruppe im ersten Durchgang eine Reproduzierbarkeit von $91,0 \pm 9,4 \%$. Die unerfahrene Gruppe erreichte eine Reproduzierbarkeit von $90,0 \pm 9,7 \%$.

Die durchschnittliche Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien im ersten Durchgang für die erfahrene Gruppe zeigt Tabelle 13.

Die durchschnittliche Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien im ersten Durchgang für die unerfahrene Gruppe zeigt Tabelle 14.

Tabelle 13: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der erfahrenen Gruppe

Fotografie	Ergebnis \pm SA
1	94,8 \pm 7,5
2	83,3 \pm 10,0
3	90,7 \pm 7,5
4	77,9 \pm 15,0
5	87,9 \pm 10,0
6	93,7 \pm 10,0
7	92,9 \pm 12,5
8	92,0 \pm 7,5
9	93,1 \pm 12,5
10	85,7 \pm 7,5
11	90,2 \pm 15,0
12	85,9 \pm 15,0
13	95,4 \pm 5,0
14	98,3 \pm 5,0
15	95,8 \pm 7,5
16	85,1 \pm 12,5
17	96,4 \pm 5,0
18	97,6 \pm 5,0

Tabelle 14: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der unerfahrenen Gruppe

Fotografie	Ergebnis \pm SA
1	93,2 \pm 10,0
2	87,8 \pm 12,5
3	92,1 \pm 10,0
4	75,9 \pm 15,0
5	89,1 \pm 7,5
6	91,9 \pm 7,5
7	98,1 \pm 2,5
8	96,4 \pm 5,0
9	92,1 \pm 15,0
10	89,9 \pm 7,5
11	89,9 \pm 15,0
12	71,6 \pm 17,5
13	94,0 \pm 5,0
14	93,0 \pm 7,5
15	97,6 \pm 5,0
16	82,1 \pm 17,5
17	93,5 \pm 5,0
18	91,9 \pm 10,0

3.2.3. Kategorien

3.2.3.1. Präparate

Die Untersuchung der durchschnittlichen Reproduzierbarkeit der Bewertungen

der einzelnen Kategorien im ersten Durchgang bezogen auf alle Präparate, ergab in der erfahrenen Gruppe die in Tabelle 15 aufgeführten Ergebnisse.

Die Ergebnisse der Untersuchung der durchschnittlichen Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Kategorien im ersten Durchgang bezogen auf alle Präparate in der unerfahrenen Gruppe zeigt Tabelle 16.

Tabelle 15: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	64,6 \pm 20,0
Stäbchen	89,4 \pm 10,0
Malassezien	86,4 \pm 12,5
Neutrophile Granulozyten	71,5 \pm 20,0
Eosinophile Granulozyten	93,9 \pm 5,0
Makrophagen	83,8 \pm 12,5

Tabelle 16: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	71,4 \pm 22,5
Stäbchen	90,3 \pm 10,0
Malassezien	79,5 \pm 12,5
Neutrophile Granulozyten	74,2 \pm 20,0
Eosinophile Granulozyten	94,1 \pm 5,0
Makrophagen	77,4 \pm 12,5

3.2.3.2. Fotografien

Die Untersuchung der durchschnittlichen Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Kategorien im ersten Durchgang bezogen auf alle Fotos ergab in der erfahrenen Gruppe die in Tabelle 17 aufgeführten Ergebnisse.

Die Ergebnisse der Untersuchung der durchschnittlichen Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Kategorien im ersten Durchgang bezogen auf alle Fotografien in der unerfahrenen Gruppe zeigt Tabelle 18.

Tabelle 17: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	82,3 \pm 15,0
Stäbchen	90,9 \pm 10,0
Malassezien	92,3 \pm 10,0
Neutrophile Granulozyten	90,2 \pm 12,5
Eosinophile Granulozyten	96,6 \pm 5,0
Makrophagen	93,4 \pm 5,0

Tabelle 18: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Kategorie	Ergebnis \pm SA
Kokken	80,3 \pm 15,0
Stäbchen	91,5 \pm 7,5
Malassezien	92,0 \pm 10,0
Neutrophile Granulozyten	89,6 \pm 12,5
Eosinophile Granulozyten	95,6 \pm 5,0

Makrophagen	91,1 ± 7,5
-------------	------------

4. Ergebnisse der deskriptiven Statistik

4.1. Individuelle Reproduzierbarkeit

4.1.1. Präparate

Im Folgenden werden die Mediane, Standardabweichungen und Konfidenzintervalle der Bewertungen der jeweiligen Durchgänge 1 und 2 der Präparate beider Gruppen, sowie der p-Wert der entsprechenden Kategorien dargestellt (Tabelle 19 und 20). Die Berechnung der Werte erfolgte mittels dem Wilcoxon Vorzeichen Rang Test.

Tabelle 19: Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

	Median 1 ± SA	Median 2 ± SA	Konfidenz- intervall 1	Konfidenz- intervall 2	P- Wert
Kokken	1,0 ± 1,3	1,0 ± 1,3	1,4 – 1,7	1,4 – 1,7	0,9058
Stäbchen	0,0 ± 1,4	0,0 ± 1,4	0,6 – 0,9	0,6 – 0,9	0,3231
Malassezien	0,0 ± 1,1	0,0 ± 1,1	0,5 – 0,7	0,6 – 0,8	0,1511
Neutrophile Granulozyten	1,0 ± 1,6	1,0 ± 1,6	1,4 – 1,8	1,4 – 1,8	0,4054
Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,3	0,0 ± 0,3	0,03 – 0,1	0,02 – 0,08	0,5138
Makrophagen	0,0 ± 0,8	0,0 ± 0,9	0,3 – 0,5	0,4 – 0,6	0,6274

Tabelle 20: Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

	Median 1 ± SA	Median 2 ± SA	Konfidenz- intervall 1	Konfidenz- intervall 2	P- Wert
Kokken	2,0 ± 1,2	2,0 ± 1,2	1,5 – 1,8	1,5 – 1,9	0,7918
Stäbchen	0,0 ± 1,0	0,0 ± 1,1	0,3 – 0,5	0,2 – 0,5	0,7683
Malassezien	0,0 ± 1,1	0,6 ± 1,1	0,5 – 0,8	0,4 – 0,8	0,9999
Neutrophile Granulozyten	1,0 ± 1,4	1,0 ± 1,5	1,2 – 1,5	1,2 – 1,6	0,7235
Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,3	0,0 ± 0,4	0,0 – 0,1	0,0 – 0,1	0,9399
Makrophagen	0,0 ± 0,8	0,0 ± 0,7	0,3 – 0,5	0,2 – 0,4	0,0317

4.1.2. Fotografien

Im Folgenden werden die Mediane, Standardabweichungen und Konfidenzintervalle der Bewertungen der jeweiligen Durchgänge 1 und 2 der Fotografien beider Gruppen, sowie der p-Wert der entsprechenden Kategorien dargestellt (Tabelle 21 und 22). Die Berechnung der Werte erfolgte mittels dem Wilcoxon Vorzeichen Rang Test.

Tabelle 21: Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

	Median 1 ± SA	Median 2 ± SA	Konfidenz- intervall 1	Konfidenz- intervall 2	p- Wert
Kokken	1,0 ± 1,5	1,0 ± 1,6	1,4 – 1,6	1,5 – 1,7	0,3212
Stäbchen	0,0 ± 1,1	0,0 ± 1,1	0,4 – 0,6	0,4 – 0,6	0,1362
Malassezien	0,0 ± 1,0	0,0 ± 1,0	0,3 – 0,5	0,4 – 0,6	0,2269
Neutrophile Granulozyten	2,0 ± 1,4	2,0 ± 1,4	1,5 – 1,8	1,5 – 1,8	0,4887

Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,5	0,0 ± 0,4	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,7007
Makrophagen	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,7	0,2 – 0,3	0,2 – 0,3	0,3319

Tabelle 22: Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

	Median 1 ± SA	Median 2 ± SA	Konfidenz- intervall 1	Konfidenz- intervall 2	p- Wert
Kokken	1,0 ± 1,4	1,0 ± 1,4	1,2 – 1,5	1,3 – 1,6	0,0007
Stäbchen	0,0 ± 1,1	0,0 ± 1,0	0,4 – 0,5	0,3 – 0,5	0,22
Malassezien	0,0 ± 1,0	0,0 ± 1,1	0,4 – 0,6	0,4 – 0,6	0,98
Neutrophile Granulozyten	1,0 ± 1,3	1,0 ± 1,3	1,2 – 1,4	1,4 – 1,6	0,0001
Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,5	0,0 ± 0,4	0,1 – 0,2	0,1 – 0,1	0,4304
Makrophagen	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,7	0,2 – 0,3	0,2 – 0,4	0,8586

4.2. Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher

4.2.1. Präparate

Im Folgenden werden die durchschnittlichen Mediane, Standardabweichungen und Konfidenzintervalle der Bewertungen der entsprechenden Kategorien der Präparate beider Gruppen dargestellt (Tabelle 23 und 24). Die Berechnung der Werte erfolgte mit dem Friedmann und Dunn Post Test.

Tabelle 23: Durchschnittliche Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

	Median ± SA	Konfidenzintervall
Kokken	1,5 ± 1,3	0,8 – 2,6
Stäbchen	1,5 ± 1,3	0,6 – 2,5
Malassezien	0,0 ± 1,1	0,0 – 1,5
Neutrophile Granulozyten	1,4 ± 1,7	0,4 – 2,8
Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,2	0,0 – 0,2
Makrophagen	0,0 ± 0,8	0,0 – 1,0

Tabelle 24: Durchschnittliche Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

	Median ± SA	Konfidenzintervall
Kokken	1,7 ± 1,2	0,9 – 2,6
Stäbchen	1,8 ± 1,2	0,9 – 2,6
Malassezien	0,1 ± 1,0	0,0 – 1,4
Neutrophile Granulozyten	0,8 ± 1,5	0,3 – 2,3
Eosinophile Granulozyten	0,0 ± 0,2	0,0 – 0,2
Makrophagen	0,1 ± 0,7	0,0 – 0,9

4.2.2. Fotografien

Im Folgenden werden die durchschnittlichen Mediane, Standardabweichungen und Konfidenzintervalle der Bewertungen der entsprechenden Kategorien der

Fotografien beider Gruppen dargestellt (Tabelle 25 und 26). Die Berechnung der Werte erfolgte mit dem Friedman und Dunn Post Test.

Tabelle 25: Durchschnittliche Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

	Median \pm SA	Konfidenzintervall
Kokken	1,1 \pm 1,4	0,7 – 2,3
Stäbchen	0,0 \pm 1,1	0,0 – 1,1
Malassezien	0,0 \pm 1,0	0,0 – 1,0
Neutrophile Granulozyten	1,4 \pm 1,4	0,9 – 2,3
Eosinophile Granulozyten	0,0 \pm 0,4	0,0 – 0,3
Makrophagen	0,0 \pm 0,6	0,0 – 0,6

Tabelle 26: Durchschnittliche Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

	Median \pm SA	Konfidenzintervall
Kokken	1,0 \pm 1,4	0,7 – 2,0
Stäbchen	0,0 \pm 1,0	0,0 – 0,9
Malassezien	0,0 \pm 1,0	0,0 – 1,0
Neutrophile Granulozyten	1,0 \pm 1,2	0,7 – 2,0
Eosinophile Granulozyten	0,0 \pm 0,4	0,0 – 0,3
Makrophagen	0,0 \pm 0,5	0,0 – 0,5

Beim Vergleich der erfahrenen mit den unerfahrenen Untersuchern hinsichtlich der Ergebnisse der einzelnen Kategorien ergab sich weder in der Beurteilung der Fotografien noch in der Beurteilung der Präparate ein signifikanter Unterschied.

V. DISKUSSION

Die Zytologie ist ein unverzichtbares diagnostisches Mittel in der dermatologischen Praxis, und es können innerhalb kürzester Zeit ohne einen großen Kostenaufwand wertvolle Informationen über vorliegende Infektionen oder zugrundeliegende Krankheiten erhoben werden. Die zytologischen Befunde werden häufig anhand von semiquantitativen Skalen eingeteilt und in Kombination mit der klinischen Präsentation für die Therapiekontrolle verwendet. Es gibt allerdings in der Literatur keine Studie, die die Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit entsprechender Beurteilungsmethoden ausführlich untersucht. Ziel dieser Studie war es, eine semiquantitative Beurteilungsmethode hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit in der Evaluierung zytologischer Präparate und deren Eignung für die Praxis zu untersuchen. Die Methode wurde zusätzlich anhand der Beurteilung von Fotografien bewertet.

Es konnten für die erfahrene und für die unerfahrene Gruppe, sowohl für die Beurteilung der Präparate am Mikroskop als auch für die Beurteilung der Fotografien reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Somit lässt sich sagen, dass diese semiquantitative Beurteilungsmethode für die dermatologische Diagnostik und Therapiekontrolle in der Praxis empfohlen werden kann.

1. Teilnehmer und Untersuchungsbedingungen

Die Anzahl der Untersucher und das Geschlecht der Personen waren in beiden Gruppen gleichmäßig verteilt, wobei das weibliche Geschlecht mit 86,2 % in der erfahrenen Gruppe und mit 87,1 % in der unerfahrenen Gruppe überrepräsentiert war. Diese Verteilung korreliert mit dem zunehmenden Frauenanteil in dem Berufsstand der Veterinärmedizin.

Viele der Studienteilnehmer nahmen im Rahmen einer zweitägigen dermatologischen Tagung an der Bewertung teil. Hierbei blieb einigen Untersuchern nicht die Zeit, beide Durchgänge zu beenden. Insbesondere in der unerfahrenen Gruppe schlossen nur 64,3 % der Untersucher, die den ersten Durchgang durchführten, den zweiten Durchgang in der Beurteilung der Fotografien ab und 66,6 % von ihnen beendeten die Beurteilung der Präparate am Mikroskop. Etwa die Hälfte der unerfahrenen Gruppe bestand aus Studenten, die

einen Teil ihrer Ausbildung in der Abteilung für Dermatologie absolvierten und beide Durchgänge beenden konnten. Von den erfahrenen Untersuchern war es den meisten Personen möglich, beide Durchgänge durchzuführen. Zum einen waren sie durch ihre Erfahrung schneller in der Beurteilung der Präparate und Fotografien. Zum anderen waren einige der Teilnehmer Mitarbeiter der Klinik, somit bestand die Möglichkeit, die Präparate und Fotografien zu beurteilen, länger als zwei Tage.

Einige Angaben der Teilnehmer mussten von der Auswertung ausgeschlossen werden, da sie unvollständig oder missverständlich waren. Ein Großteil der missverständlichen Angaben entfiel auf die Beurteilung der Entzündungszellen. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die drei zu beurteilenden Arten von Entzündungszellen auf dem Formblatt eine gemeinsame Spalte in der Tabelle hatten und, trotz des Hinweises, dass alle Entzündungszellen einzeln beurteilt werden sollten, einige Beurteilungen für alle Zellarten zusammenfassend abgegeben wurden. Vereinzelt wurden Felder nicht ausgefüllt oder mit einem Fragezeichen versehen. Diese Angaben wurden für die Gesamtauswertung nicht berücksichtigt. Einige der Teilnehmer gaben zwei Möglichkeiten oder Zwischenstufen als Ergebnis an (z.B. 1+ bis 2+). In diesen Situationen wurden die Bewertungen berücksichtigt und bei allen Angaben die kleinere Variante ausgewählt. Es ist daher möglich, dass die betroffenen Untersucher den höheren Wert als wahrscheinlicher angesehen haben, und die individuellen Ergebnisse geringfügig beeinflusst wurden.

In der unerfahrenen Gruppe wurden im Rahmen der Beurteilung der Fotografien häufiger ungenauere Angaben gemacht als bei der Beurteilung der Präparate am Mikroskop. Diese fehlerhaften Angaben kamen ausschließlich im ersten Durchgang vor. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die Teilnehmer vor Beginn des zweiten Durchgangs auf die ungenauen Angaben des ersten Durchgangs aufmerksam gemacht wurden und die Fehler somit im zweiten Durchgang vermieden. Die Häufung der ungenauen Angaben bei der Beurteilung der Fotografien könnte daher rühren, dass die meisten unerfahrenen Untersucher mit der Beurteilung der Fotografien begannen. Daher ist es auch hier möglich, dass die betroffenen Teilnehmer auf ihre formellen Fehler aufmerksam gemacht wurden und diese nachfolgend in der Auswertung der Präparate vermieden.

In der erfahrenen Gruppe wurden in der Beurteilung der Fotografien häufiger ungenaue Angaben dokumentiert als bei der Beurteilung der Präparate am Mikroskop. In dieser Gruppe wurden auch, mit Ausnahme von einer Person, alle ungenauen Angaben im ersten Durchgang gemacht.

Alle Präparate und Fotografien wurden im Vorfeld sorgfältig ausgewählt, und es wurde darauf geachtet, dass alle abgebildeten Kategorien möglichst eindeutig zu erkennen waren. Es gelang allerdings nicht ausnahmslos, Material ohne Färbeartefakte oder anderen Ungenauigkeiten zu selektieren. Die Qualität der Präparate verringerte sich durch die intensive Verwendung im Verlauf der Studie, und drei der zehn Präparate zerbrachen. Somit war es einigen Untersuchern nicht möglich, ihre Bewertung für alle Präparate abzugeben. Diese fehlenden Bewertungen mussten ebenso von der Auswertung ausgeschlossen werden. Die Qualität der Fotografien blieb über den gesamten Zeitraum der Studie unbeeinträchtigt.

Insgesamt waren die Untersuchungsbedingungen nicht für jeden Untersucher optimal. Die Bewertungen wurden an drei verschiedenen Standorten mit unterschiedlichen Mikroskopen durchgeführt. Es gab viele Faktoren, die Einfluss auf die Übereinstimmung der Bewertungen gehabt haben könnten, allerdings hatte derselbe Untersucher immer auch dasselbe Mikroskop zur Verfügung, und es wurden trotz der potentiellen Störfaktoren gute Ergebnisse erzielt, was zusätzlich für die Reproduzierbarkeit der Beurteilungsmethode spricht.

2. Untersuchungsmethode und Auswertung

Die Anwendung der semiquantitativen Skala für die Einteilung der verschiedenen Kategorien wurde jedem Untersucher kurz erklärt und erschien allen Teilnehmern verständlich. Die Ergebnisse wurden anhand einer stufenweisen Übereinstimmung ausgewertet, da es klinisch nicht relevant ist, ob ein Hund wenig oder sehr wenig (oder viel oder massenhaft) Malassezien im Ohr hat. Entscheidend bei dieser Einteilung war, dass nur eine Stufe zwischen den Bewertungen liegen durfte, um als Übereinstimmung zu gelten und, dass negative Proben auch im zweiten Durchgang immer negativ sein mussten.

Eine semiquantitative Skala wurde im Gegensatz zu einer quantitativen Skala gewählt, da zum einen eine Studie über verschiedene quantitative

Beurteilungsmethoden keine zufriedenstellenden Ergebnisse erzielen konnte (MUELLER et al., 2010), und zum anderen die in dieser vorliegenden Studie verwendete Skala bereits in vielen Kliniken angewendet wird.

PAPPALARDO et al. verwendeten eine ähnliche Einteilung für die Beurteilung von Analbeutelsekret von gesunden und kranken Hunden. NOBRE et al. teilten die Ergebnisse zytologischer Untersuchungen von Ohrensekret ebenfalls anhand einer semiquantitativen Skala ein, die, wie bei PAPPALARDO et al. von negativ bis +++ reichte. Hierbei wurde jedoch kein Augenmerk auf die Reproduzierbarkeit gelegt (NOBRE et al., 2001; PAPPALARDO et al., 2002).

Den Teilnehmern wurde es freigestellt, auf welche Art und Weise (z.B. Wahl der Vergrößerung) sie die einzelnen Präparate durchmustern. Die erfahrenen Teilnehmer waren angehalten, die Präparate so zu beurteilen, wie sie es in der alltäglichen Praxis gewohnt waren, um die Resultate praxisbezogen interpretieren zu können. Falls sich ein unerfahrener Teilnehmer nicht sicher war, wie er/sie vorgehen sollte, wurde ihm eine Untersuchungsmethode vorgeschlagen. Bei Anwendung der empfohlenen Methode, wurde das Präparat bei kleiner Vergrößerung durchgemustert, und interessante Areale wurden in größerer Vergrößerung detaillierter untersucht. Die beschriebene Methode und deren Anwendung wurde häufig im Rahmen von Studien erwähnt und als sehr geeignet angesehen (GINEL et al., 2002; ANGUS, 2004; TOMA et al., 2006). In einer kleineren Studie zur Evaluierung quantitativer Beurteilungsmethoden wurden insgesamt keine zufriedenstellenden Ergebnisse bezüglich der Reproduzierbarkeit erzielt, jedoch wurden mit der beschriebenen Methode ebenfalls die besten Resultate erreicht (MUELLER et al., 2010). Es gibt soweit bekannt keine Studie, die sich mit der Evaluierung einer semiquantitativen Beurteilungsmethode zytologischer Präparate befasst.

3. Erfahrungsgrad

In beiden Gruppen wurden zufriedenstellende Ergebnisse erzielt. Ein Nachteil dieser Studie war es, dass keine Aussage getroffen werden konnte, ob eine abgegebene Bewertung richtig oder falsch war, da kein Goldstandard festgelegt wurde. Für die Beurteilung der Fotografien hätte man möglicherweise einen Goldstandard festlegen können, da jeder Untersucher das gleiche Gesichtsfeld beurteilte. Für die Bewertung der Präparate war es allerdings nicht möglich, einen

Lösungsschlüssel zu definieren, ohne auch die zu beurteilenden Gesichtsfelder vorzugeben und einzugrenzen. Im Vergleich der Ergebnisse beider Gruppen konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die unerfahrene Gruppe war zusätzlich unterteilt in zwei Teilgruppen, die sich in der Anzahl der Beurteilung zytologischer Präparate pro Woche unterschieden und auch im Vergleich dieser beiden Teilgruppen miteinander und mit der erfahrenen Gruppe ergab sich kein Unterschied. Diese Ergebnisse lassen somit vermuten, dass der Erfahrungsgrad keinen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Beurteilungen hat, sondern eine größere Erfahrung wahrscheinlich lediglich die Geschwindigkeit der Beurteilung erhöht.

Das Hauptaugenmerk dieser Studie wurde nicht auf das Können der einzelnen Teilnehmer gelegt, sondern auf die Reproduzierbarkeit und Eignung der beurteilten Methode für die Praxis.

4. Individuelle Reproduzierbarkeit

Die individuelle Reproduzierbarkeit in der Evaluierung von Fotografien und zytologischen Präparaten in der dermatologischen Praxis wurde bisher noch nicht untersucht. Die individuelle Übereinstimmung wurde ausgewertet, wenn ein Untersucher an zwei Durchgängen teilgenommen hatte.

4.1. Präparate

Von der erfahrenen Gruppe beendeten 21 Personen zwei vollständige Durchgänge, fünf weitere Untersucher beurteilten ebenfalls in zwei Durchgängen die Präparate, allerdings nicht alle zehn. Ein Grund für die Beurteilung von weniger als zehn Präparaten war die zunehmende Verschlechterung der Qualität der Präparate und der Zeitmangel der Teilnehmer, so dass nicht mehr für alle Präparate ausreichende Bewertungen abgegeben werden konnten. In der unerfahrenen Gruppe konnten insgesamt 14 Personen beide Durchgänge vollständig abschließen, vier weitere bewerteten einen Teil der Präparate zweimal, und diese Ergebnisse wurden ebenfalls in die Auswertung eingeschlossen.

Die erfahrene Gruppe erreichte in der Beurteilung der Präparate eine durchschnittliche Übereinstimmung von 84,3 % und die unerfahrene Gruppe von durchschnittlich 82,6 %, bezogen auf alle Kategorien und alle Präparate.

Die Teilnehmer der erfahrenen Gruppe erreichten durchschnittlich eine

geringgradig höhere Übereinstimmung als die der unerfahrenen Gruppe, wobei der niedrigste individuelle Wert aus der erfahrenen Gruppe stammte.

Die Personen der erfahrenen Gruppe besitzen mehr Routine in der Beurteilung von zytologischen Präparaten und sind sicherer im Umgang mit dem Mikroskop, was eine mögliche Erklärung für die höheren Übereinstimmungen wäre. Einem erfahrenen Untersucher fällt es womöglich leichter, eine repräsentative Beurteilung über ein Präparat abzugeben, und er hat bessere Vergleichsmöglichkeiten aus dem Alltag. Die Routine und die Sicherheit der Anwendung einer Beurteilungsmethode lässt die Reproduzierbarkeit ansteigen.

Der unerfahrene Untersucher konzentriert sich wahrscheinlich nicht auf das Wesentliche, und eine Entscheidung über das gesamte Präparat zu treffen ist schwieriger. Zusätzlich hatten nicht alle Teilnehmer der unerfahrenen Gruppe eine gefestigte eigene Beurteilungsmethode. Vielleicht wurden die Gesichtsfelder in beiden Durchgängen unterschiedlich ausgewählt, was einen negativen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit gehabt haben könnte. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war jedoch so gering, dass auch individuelle Variationen als Grund für die Unterschiede denkbar wären und nicht die Routine der erfahrenen Untersucher.

Insgesamt konnte jedoch in beiden Gruppen eine zufriedenstellende Reproduzierbarkeit in der Beurteilung der Präparate erreicht werden.

4.2. Fotografien

In der erfahrenen Gruppe beendeten 25 Personen zwei vollständige Durchgänge. In der unerfahrenen Gruppe konnten insgesamt 18 Personen beide Durchgänge abschließen. Beide Gruppen erzielten eine Übereinstimmung von 92,1 %, bezogen auf alle Fotografien und Kategorien.

In den meisten Fällen wurden bei der Beurteilung der Fotografien höhere Übereinstimmungen erzielt im Vergleich zu der Beurteilung der Präparate. Es gab keinen Unterschied in der Höhe der Übereinstimmung zwischen den beiden Gruppen.

Eine Erklärung für die höhere Übereinstimmung der Fotografien im Vergleich zu den Präparaten allgemein könnte sein, dass jeder Untersucher in beiden Durchgängen das gleiche Gesichtsfeld beurteilte und somit eine höhere

Übereinstimmung erwartet werden konnte. Einige Teilnehmer gaben an, dass eine Schwierigkeit in der Beurteilung der Fotografien war, dass man die Schärfe und den Fokus einzelner Bereiche nicht verändern konnte, wie man dies im Umgang mit dem Mikroskop gewohnt war. Die Fokussierung ist in der Beurteilung von zytologischen Präparaten häufig eine wichtige Entscheidungshilfe, um z.B. Kokken von Melaningranula oder Färbeartefakten abgrenzen zu können (ANGUS, 2004). Diese fehlende Möglichkeit hatte allerdings keinen negativen Einfluß auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Die Teilnehmer der unerfahrenen Gruppe nahmen sich in vielen Fällen mehr Zeit für die Beurteilung der einzelnen Fotografien und erreichten möglicherweise dadurch eine hohe Übereinstimmung. Zudem konnte für beide Gruppen nicht sicher ausgeschlossen werden, dass sich die Teilnehmer an einzelne Fotografien erinnerten, obwohl der minimale Zeitabstand zwischen beiden Durchgängen immer eingehalten wurde.

4.3. Kategorien

Die Beurteilung der einzelnen Kategorien lag für beide Gruppen für die Präparate, im Bereich von 77,2 bis 93,8 % und für die Fotografien von 85,5 bis 96,6 %. Kokken erreichten mit Ausnahme der Beurteilung der Präparate durch die unerfahrene Gruppe die niedrigsten Übereinstimmungszahlen. Kokken haben eine symmetrische Form mit einer glatten Wand und einheitlicher Färbung. Es ist sehr leicht möglich, dass Färbeartefakte oder auch Melaningranula mit Kokken verwechselt wurden, wobei Artefakte und Debris meistens irregulär sind und unterschiedliche Größen aufweisen (ANGUS, 2004). Die zuverlässige Unterscheidung der Kokken von anderen Artefakten bedarf einer gewissen Routine und Erfahrung im Umgang mit dem Mikroskop. Die Übereinstimmung der Malassezien (76,9 %) und neutrophilen Granulozyten (77,2 %) der unerfahrenen Gruppe in der Beurteilung der mikroskopischen Präparate war niedriger als die Übereinstimmung der Kokken, aber im Vergleich mit der anderen Gruppe war die Übereinstimmung der Kokken mit 79,6 % immer noch verhältnismäßig niedrig. Insgesamt waren die Unterschiede in der Beurteilung der Präparate zwischen beiden Gruppen relativ klein. Nur in der Beurteilung der neutrophilen Granulozyten und Malassezien war die erfahrene Gruppe der unerfahrenen Gruppe deutlicher überlegen als in anderen Kategorien.

Die Übereinstimmung der eosinophilen Granulozyten war für beide Gruppen bei der Beurteilung der Fotografien und für die erfahrene Gruppe in der Beurteilung der Präparate am höchsten, wobei sie in der unerfahrenen Gruppe bei der Beurteilung der Präparate auch eine hohe Übereinstimmung von 91,5 % erreichten. Lediglich die Übereinstimmung der Stäbchen lag in der unerfahrenen Gruppe mit 93,8 % noch darüber. Die hohe Übereinstimmung der eosinophilen Granulozyten kann zum einen daran liegen, dass sie eine charakteristische Morphologie mit prominenten Granula aufweisen und somit leichter identifiziert werden können, oder, dass sie zusammen mit den Makrophagen und Stäbchen sowohl auf den Fotografien als auch auf den Präparaten am seltensten vertreten waren. Dadurch konnte eine Person, die sich in der Beurteilung unsicher war, durch eine konsequente negative Aussage leichter hohe Übereinstimmungszahlen erzielen als in den anderen Kategorien.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass für fast alle Kategorien in beiden Gruppen für Präparate und für die Fotografien zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden konnten. Lediglich in der unerfahrenen Gruppe bei der Beurteilung der Präparate erzielten Kokken, Malassezien und neutrophile Granulozyten Werte unter 80 % und wurden somit als weniger reproduzierbar gewertet.

Statistisch signifikante Unterschiede wurden in der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien in den Kategorien Kokken und neutrophile Granulozyten und bei der Beurteilung der Präparate für die Makrophagen festgestellt. Bei Betrachtung der einzelnen Mediane wurde jedoch deutlich, dass die statistische Signifikanz nicht mit einer klinischen Relevanz einherging. Bei der Größe der Datenmenge wird schon bei geringen Unterschieden schnell eine statistische Signifikanz erreicht.

5. Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersucher

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der verschiedenen Untersucher wurde bestimmt, indem jeweils die ersten Untersuchungsdurchgänge miteinander verglichen wurden. Aus der erfahrenen Gruppe konnten für die Evaluierung der Präparate Beurteilungen von 26 Personen, und aus der unerfahrenen Gruppe Beurteilungen von 27 Personen ausgewertet werden, sowie für die Fotografien von 29 Teilnehmern der erfahrenen Gruppe und von 28 Teilnehmern der unerfahrenen Gruppe.

Insgesamt gibt es wenige Studien, die die Reproduzierbarkeit unterschiedlicher Untersucher evaluiert. Soweit bekannt, gibt es keine Studie, die die Ergebnisse von mehr als zwei Untersuchern miteinander verglichen hat, sowie keine Studie, in der eine Beurteilungsmethode zusätzlich anhand von Fotografien untersucht wurde.

5.1. Präparate

GINEL et al. untersuchten die Mikroflora in den Ohren von Hund und Katze mit und ohne Otitis und erstellten Grenzwerte für die Keimflora von gesunden und kranken Ohren. Hierbei legte er fest, dass \leq zwei Malassezien pro Hauptgesichtsfeld bei Hunden und Katzen im Normalbereich liegen und \geq fünf Malassezien beim Hund, sowie \geq zwölf Malassezien bei der Katze pro Hauptgesichtsfeld als pathologisch anzusehen sind (GINEL et al., 2002). Für die Bakterien legte er Grenzwerte von \leq fünf Bakterien pro Hauptgesichtsfeld beim gesunden Hund, und \leq vier Bakterien pro Hauptgesichtsfeld bei der gesunden Katze fest. Bezogen auf die Bakterien sind laut GINEL et al. ≥ 25 Bakterien pro Hauptgesichtsfeld für den Hund und ≥ 15 Bakterien pro Hauptgesichtsfeld für die Katze als pathologisch anzusehen (GINEL et al., 2002). Es gibt weitere Studien, deren Grenzwerte geringfügig von den genannten abweichen (RAUSCH & SKINNER, 1978; ROSYCHUK, 1994). Im Rahmen der Studie von GINEL et al. beurteilten zwei Untersucher insgesamt 30 zytologische Präparate und zählten jeweils zehn Gesichtsfelder aus. Sie beurteilten Bakterien, Malassezien, Entzündungszellen sowie Keratinozyten, und ihre Ergebnisse wurden miteinander verglichen. Hierbei wurde eine Übereinstimmung von 87 % für die Malassezien und 81 % für die Bakterien erreicht. Für die weiteren Kategorien wurden hinsichtlich der Reproduzierbarkeit keine weiteren Angaben gemacht. GINEL et al. bewerteten die erhobenen Ergebnisse als klinisch akzeptabel und reproduzierbar.

TOMA et al. untersuchten die Unterschiede verschiedener Fixierungs- und Färbemethoden zytologischer Präparate und im Rahmen dieser Studie wurden 48 Proben wiederum von zwei Untersuchern beurteilt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Sie evaluierten Keratinozyten, Malassezien, Bakterien und neutrophile Granulozyten mit einer Übereinstimmung von 73 %, 47,1 %, 82,6 % und 14 %. In dieser Studie von TOMA et al. wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in der Beurteilung der beiden Untersucher festgestellt und somit wurden die Ergebnisse als nicht reproduzierbar angesehen. Es wurde jedoch kein

Schwerpunkt auf die klinische Relevanz gelegt (TOMA et al., 2006). In keiner der beiden Studien wurden die Übereinstimmungskriterien näher definiert.

In einer Studie von COLOMBO et al. zur Untersuchung über das Vorkommen von Malassezien in bräunlichen Belägen an dem Nagelfalz der Katze wurden die Proben von zwei Personen zytologisch untersucht. Allerdings wurde nicht erwähnt, ob die Ergebnisse reproduzierbar waren (COLOMBO et al., 2007).

LEHNER et al. untersuchten, ob die zytologischen Ergebnisse von zwei hintereinander genommenen Tupferproben bei Hunden mit Otitis reproduzierbar sind, und ob somit die Probennahme und Zytologie für die Diagnostik einer Otitis geeignet sind, sowie ob eine Tupferprobe ausreichend ist. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Proben gefunden und die Technik kann somit als geeignet und reproduzierbar angesehen werden. Im Rahmen dieser Studie wurde jede achte Probe zur Kontrolle ebenfalls von einer zweiten Person ausgewertet, jedoch war die Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse nicht Bestandteil der Untersuchung, und wurde nicht mit in die Auswertung einbezogen (LEHNER et al., 2010).

Die Ergebnisse der vorgelegten Untersuchung erzielten in den meisten Fällen höhere Übereinstimmungen der verschiedenen Untersucher, als in den vorherigen Studien genannt. Diese Feststellung sollte jedoch kritisch betrachtet werden, da die Übereinstimmungskriterien der anderen Studien nicht erwähnt worden sind. Die erfahrene Gruppe erreichte durchschnittlich eine Übereinstimmung von 81,6 % (72,9 % - 92,8 %) in der Beurteilung der Präparate und die unerfahrene Gruppe eine durchschnittliche Übereinstimmung von 81,0 % (68,9 % - 89,1 %). Diese Ergebnisse lassen sich jedoch nicht direkt mit denen aus der Literatur vergleichen, da in unserer Studie sowohl eine semiquantitative Skala verwendet, als auch eine stufenweise Übereinstimmung akzeptiert wurde. Der Grund für die Verwendung der stufenweisen Übereinstimmung lag darin, dass es weder diagnostische noch therapeutische oder prognostische Unterschiede für einen Patienten macht, ob wenig oder sehr wenig (oder viel oder massenhaft) Bakterien oder Hefen diagnostiziert werden. Nur für eine negative Beurteilung wurde eine genaue Übereinstimmung verlangt, da der Schritt von negativer Beurteilung zu wenigen Bakterien oder Hefen mit unterschiedlichen diagnostischen und therapeutischen Konsequenzen verbunden ist.

Die Diskussion der Ergebnisse bezogen auf die einzelnen Präparate in Zusammenhang mit der Tauglichkeit, Eindeutigkeit und Qualität ist schwierig. Gründe darzustellen, warum ein Präparat besonders gut oder besonders schlecht abgeschnitten hat, die auf die Qualität oder Eindeutigkeit zurückzuführen sind, ist in den meisten Fällen problematischer und stärker von individuellen Faktoren abhängig, als in der Beurteilung der Fotografien. In der erfahrenen Gruppe schnitten die Präparate mit der Nummer (Nr.) 1, 5 und 8 am Besten ab und die Präparate mit der Nr. 4, 6 und 9 am Schlechtesten. In der unerfahrenen Gruppe waren die Präparate 4, 8 und 10 die mit den höchsten und die Präparate 3, 5 und 6 die mit den niedrigsten Übereinstimmungen. In beiden Gruppen konnten bei insgesamt sechs Präparaten gute Ergebnisse erzielt werden (> 80 %).

Präparat Nr. 1 war eines der drei Präparate, die im Laufe der Untersuchungen zu Bruch gingen. In der erfahrenen Gruppe erzielte dieses Präparat jedoch die höchsten Übereinstimmungen. In der unerfahrenen Gruppe war es mit einer Übereinstimmung von 79 % auf Platz 7 von 10. Die im Verhältnis bessere Übereinstimmung der erfahrenen Gruppe kann zum einen daran liegen, dass ein größerer Teil der Untersucher die Präparate beurteilte, bevor der Objektträger zu Bruch ging, oder, dass sie aufgrund ihrer Erfahrung trotz der schlechteren Qualität eine gute Beurteilung abgeben konnten. Zusätzlich waren makroskopisch keine angefärbten Bereiche auf dem Objektträger zu erkennen, was ebenfalls die Auswahl geeigneter Bereiche für die Beurteilung erschwert haben könnte. Gegen Ende der Studie war dieses Präparat im schlechtesten Zustand und machte es einigen Untersuchern unmöglich eine Beurteilung abzugeben. Die beiden anderen zu Bruch gegangenen Präparate (Nr. 3 und 4) ließen sich weiterhin relativ gut beurteilen. Wichtig ist hierbei jedoch zu beachten, dass bei den zerbrochenen Präparaten die Anzahl der zu beurteilenden Gesichtsfelder künstlich eingeschränkt war, was jedoch in dieser Studie zu keiner höheren Reproduzierbarkeit geführt hat. Denkbar wäre gewesen, dass es durch eine begrenzte Auswahl an Gesichtsfeldern zu einer häufigeren Beurteilung des gleichen Gesichtsfeldes gekommen sein könnte, und somit zu einer höheren Übereinstimmung der Ergebnisse.

Das Präparat Nr. 8 erreichte in beiden Gruppen eine gute Übereinstimmung. Bei der mikroskopischen Untersuchung fiel auf, dass es sich in diesem Fall um ein übersichtliches Präparat handelte, und die einzelnen Areale gut einzustellen

waren. Es könnte sich allerdings auch um einen Zufall gehandelt haben, da es weitere Präparate gab, die scheinbar übersichtlich und eindeutig zu erkennen waren, aber schlechtere Ergebnisse erzielt haben. Weiterhin spielt es nicht nur eine Rolle die einzelnen Areale gut einstellen und die einzelnen Kategorien erkennen zu können, sondern insbesondere anhand von einigen Gesichtsfeldern eine Gesamteinschätzung bezogen auf die Menge abgeben zu können.

Ob manche Übereinstimmungen in der Beurteilung der Präparate höher gewesen wären, wenn die Qualität der Präparate besser oder die Untersuchungsbedingungen standardisierter gewesen wären, ist unklar. Die Präparate wurden sorgfältig ausgewählt. Weitere Faktoren, die die Beurteilung beeinflussen konnten, sind individuelle Vorlieben, die körperliche Verfassung und der Zeitdruck, unter dem der Untersucher das Präparat beurteilt. Abschließend lässt sich feststellen, dass in beiden Gruppen durchschnittlich zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden konnten und wechselnde Untersuchungsbedingungen die Gegebenheiten im Alltag widerspiegeln. Diese Tatsache verstärkt die Aussagekraft der Studie und insbesondere die Eignung der Methode für die Praxis.

5.2. Fotografien

Es gibt in der Literatur keine Studie, die eine Beurteilungsmethode für die Evaluierung zytologischer Präparate anhand der Bewertung von Fotografien untersucht. In der Beurteilung der Fotografien erreichte die erfahrene Gruppe durchschnittlich eine Übereinstimmung von 91,0 % (77,9 % - 98,3 %) und die unerfahrene Gruppe eine Übereinstimmung von 90,0 % (71,6 % - 98,1 %).

Im Vergleich zu den Ergebnissen der Beurteilung der Präparate wurde in beiden Gruppen eine höhere Übereinstimmung erzielt. Die besseren Resultate lassen sich ebenfalls durch die Beurteilung des gleichen Gesichtsfeldes aller Teilnehmer erklären. Die Wiedererkennung der Fotografien als Grund für die guten Ergebnisse kann ausgeschlossen werden, da ausschließlich Resultate aus dem ersten Durchgang verwendet wurden.

Für die Erläuterung und Diskussion der Ergebnisse pro Fotografie in Zusammenhang mit der Eindeutigkeit und der Qualität der einzelnen Aufnahmen spielen selbstverständlich subjektive Eindrücke des Einzelnen eine große Rolle und ein/e andere/r Betrachter/in würde die erhobenen Resultate möglicherweise unterschiedlich bewerten. Jedoch gab es in beiden Gruppen einige Parallelen, die

eventuell Rückschlüsse auf einzelne Fotografien zulassen.

In der erfahrenen Gruppe schnitten die Fotografien mit der Nr. 14, 17 und 18 am Besten und die Fotografien mit der Nr. 2, 4 und 16 am Schlechtesten ab. In der unerfahrenen Gruppe waren die Fotos Nr. 7, 8 und 15 die mit den höchsten, und die Fotos 4, 12 und 16, die mit den niedrigsten Übereinstimmungen. In beiden Gruppen konnten bei insgesamt elf Fotografien sehr gute Ergebnisse erzielt werden (> 90 %).

Zwei der drei Fotografien (4 und 16) schnitten in beiden Gruppen am Schlechtesten ab. Möglicherweise waren diese Fotografien nicht optimal für die Studie geeignet und dies führte zu Schwierigkeiten in der Beurteilung. Bei den Fotografien mit den höchsten Übereinstimmungen gab es keine Überschneidungen zwischen den Gruppen.

Bei Fotografie 4 könnte es mit Schwierigkeiten verbunden gewesen sein, einige der abgebildeten Zellen als neutrophile oder eosinophile Granulozyten anzusprechen, da das Zytoplasma nur bei einer Zelle deutlich rosa angefärbt war und es keine Möglichkeit der Fokussierung bei der Beurteilung der Fotografien gab. Zusätzlich waren einige Färbeartefakte zu sehen, die die Beurteilung erschwert haben könnten.

Auf Fotografie Nr. 16 waren ausschließlich Bakterien abgebildet und womöglich war es schwierig zu entscheiden, ob es sich nur um Stäbchen oder Kokken oder um eine Mischflora handelte. Das Foto erzielte jedoch mit einer Übereinstimmung von durchschnittlich 83,6 % in beiden Gruppen ein zufriedenstellendes Ergebnis.

Die erfahrene Gruppe erreichte bei Fotografie Nr. 2 und die unerfahrene Gruppe bei Fotografie Nr. 12 etwas geringere Übereinstimmungen. Bei Beurteilung der Fotografie 2 bestanden die Unterschiede vor allem in der Evaluierung der Kategorie der Bakterien. Es waren einige Färbeartefakte auf dem Foto abgebildet, welche zu unterschiedlichen Interpretationen und Entscheidungsschwierigkeiten geführt haben könnten. Auf Bild 12 waren mehrere Kategorien abgebildet und das gesamte Foto war ausgefüllt. Durch Überlagerungen wurde die Beurteilung möglicherweise zusätzlich erschwert. Nachvollziehbar wären ausserdem Schwierigkeiten in der Erkennung von Makrophagen oder weiteren Zellen zwischen der großen Menge an neutrophilen Granulozyten.

5.3. Kategorien

Die Beurteilung der einzelnen Kategorien lag für beide Gruppen für die Präparate im Bereich von durchschnittlich 64,6 bis 94,1 % und für die Fotografien von durchschnittlich 80,3 bis 96,6 %.

TOMA et al. und GINEL et al. beschrieben, dass die Abweichungen zwischen den einzelnen Untersuchern niedriger waren, wenn die zu beurteilende Kategorie in geringerer Menge vorkam (GINEL et al., 2002; TOMA et al., 2006). Dies konnten wir in unserer Studie ebenfalls feststellen. Eosinophile Granulozyten, Stäbchen und Makrophagen waren sowohl auf den Präparaten als auch auf den Fotografien am Seltensten vertreten. Die eosinophilen Granulozyten erzielten ausnahmslos in beiden Gruppen, für Fotografien und Präparate, die höchsten Übereinstimmungswerte. Die Kategorie der Stäbchen erzielte bei den Präparaten eine Übereinstimmung von durchschnittlich 89,9 % und war die zweitbeste Kategorie. Bei der Beurteilung der Fotografien war die Übereinstimmung der Stäbchen mit 91,2 % im Vergleich zu den anderen Kategorien nicht höher, aber ebenfalls sehr gut.

Der Grund für die besseren Resultate der genannten Kategorien könnte sein, wie bei der individuellen Reproduzierbarkeit bereits erwähnt, dass eine bei Unsicherheit konsequent negative Bewertung eine größere Chance auf eine Übereinstimmung hatte, als bei einer Kategorie die sehr häufig vertreten war. Eine weitere Erklärung für die hohe Übereinstimmung der eosinophilen Granulozyten wäre, dass sie durch ihre besondere Morphologie und farbintensive Granula besonders gut erkannt wurden.

Die Kategorie der Kokken schnitten auch im Vergleich der Untersucher miteinander am Schlechtesten ab. Durchschnittlich wurde eine Übereinstimmung von 68 % für die Beurteilung der Präparate und von 81,3 % für die Beurteilung der Fotografien erreicht.

Zusammenfassend kann auch für den Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Untersucher gesagt werden, dass für fast alle Kategorien in beiden Gruppen für Präparate und für die Fotografien zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden konnten. In der erfahrenen Gruppe erzielten Kokken und neutrophile Granulozyten bei der Beurteilung der Präparate, sowie in der unerfahrenen Gruppe die Kategorien der Kokken, Malassezien, neutrophile Granulozyten und

Makrophagen Resultate unter 80 %. Diese Werte wurden als weniger reproduzierbar angesehen. Bei der Beurteilung der Fotografien lagen alle Werte über 80 %.

In der statistischen Auswertung der Ergebnisse der verschiedenen Untersucher konnten weder für die Beurteilung der Präparate noch für die Beurteilung der Fotografien signifikante Unterschiede festgestellt werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die Evaluierung einer semiquantitativen Beurteilungsmethode zytologischer Präparate der Haut

Erkrankungen der Haut und der Ohren sind ein sehr häufiger Vorstellungsgrund in der Kleintierpraxis. Im Laufe vieler Krankheitsgeschehen treten Infektionen auf, deren Bestätigung oder Ausschluss eine zentrale Rolle in der dermatologischen Diagnostik darstellt. Die einfachste Methode, um Infektionserreger und beteiligte Zellen nachzuweisen, ist die Anfertigung und Beurteilung zytologischer Proben. Die zytologische Untersuchung ist eine der am häufigsten durchgeführten und wichtigsten Routineuntersuchungen der dermatologischen Praxis. Sie liefert innerhalb kürzester Zeit wertvolle Informationen und ermöglicht es dem Tierarzt, unmittelbar die korrekte Therapie oder weitere diagnostische Schritte einzuleiten. Die Anwendung dieser Untersuchung ist weit verbreitet, jedoch gibt es in der Literatur keine Studie, die sich mit der Evaluierung von Beurteilungsmethoden und deren Zuverlässigkeit für die Praxis befasst. Ziel dieser Studie war es, eine semiquantitative Beurteilungsmethode auf ihre Reproduzierbarkeit anhand der Evaluierung zytologischer Präparate und Fotografien zu untersuchen und festzustellen, ob sie für die Anwendung in der Praxis und insbesondere für die Therapiekontrolle geeignet ist.

Die Untersucher wurden in zwei Gruppen eingeteilt, die sich aufgrund ihrer Erfahrung in der Beurteilung zytologischer Präparate voneinander unterschieden. Die 29 Teilnehmer der erfahrenen Gruppe beurteilten mehr als zehn Präparate pro Woche, und die 29 Personen der unerfahrenen Gruppe beurteilten zehn oder weniger Präparate pro Woche. In der Vorbereitungsphase wurden aus insgesamt 50 Präparaten und 260 Fotografien zehn geeignete Präparate und 18 geeignete Fotografien für die Beurteilung ausgewählt. Alle Teilnehmer wurden gebeten, die Präparate und Fotografien zweimal mit einem Mindestabstand von sechs Stunden zu beurteilen. Die Beurteilung der Präparate und Fotografien erfolgte anhand einer semiquantitativen Skala, die von negativ bis 4+ reichte. Die zu beurteilenden Kategorien umfassten Kokken, Stäbchen, Malassezien, neutrophile und eosinophile Granulozyten sowie Makrophagen.

Für die Bestimmung der individuellen Reproduzierbarkeit wurden die Ergebnisse beider Beurteilungsdurchgänge einer Person miteinander verglichen und für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse verschiedener Untersucher, wurden alle Ergebnisse des ersten Durchgangs innerhalb einer Gruppe miteinander verglichen. Zusätzlich wurden die Ergebnisse beider Gruppen miteinander verglichen, um den Einfluss des Erfahrungsgrades einschätzen zu können. Als übereinstimmend wurde gewertet, wenn die einzelnen Bewertungen nicht mehr als eine Stufe auseinander lagen. Negative Bewertungen mussten immer negativ sein, um als Übereinstimmung gewertet zu werden. Es wurde eine prozentuale Übereinstimmung errechnet und eine deskriptive Statistik durchgeführt. Die Datenpaare des einzelnen Untersuchers wurden mit einem Wilcoxon Vorzeichen Rang Test verglichen. Ergebnisse der verschiedenen Untersucher innerhalb einer Gruppe und die beiden Gruppen miteinander wurden mittels dem Friedmann und Dunn Post Test verglichen. Ein p – Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant erachtet. Bei der Beurteilung der Präparate wurde in der erfahrenen Gruppe eine durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit von 84,3 % und in der unerfahrenen Gruppe von 82,6 % erreicht. Bei der Beurteilung der Fotografien wurde in beiden Gruppen eine durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit von 92,1 % erreicht. Im Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Untersucher innerhalb der Gruppen erreichte die erfahrene Gruppe eine durchschnittliche Reproduzierbarkeit von 81,6 % in der Beurteilung der Präparate, die unerfahrene Gruppe eine Übereinstimmung von 81,0 %. Bei der Beurteilung der Fotografien wurde in der erfahrenen Gruppe ein Wert von 91,0 % und in der unerfahrenen Gruppe ein Wert von 90,0 % erreicht. Eine prozentuale Übereinstimmung von mehr als 80 % wurde als zufriedenstellend und für die Klinik als ausreichend reproduzierbar erachtet. Es konnten somit in dieser Studie sowohl für die Beurteilung der Präparate als auch für die Beurteilung der Fotografien in beiden Gruppen reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. In der unerfahrenen Gruppe ergaben sich für die einzelnen Kategorien bei der Beurteilung der Präparate und Fotografien statistische Signifikanzen, welche allerdings keine Relevanz für die Klinik hatten. Die semiquantitative Beurteilungsmethode kann aufgrund der erhobenen Befunde für die Praxis und zur Therapiekontrolle empfohlen werden.

VII. SUMMARY

Evaluation of a semiquantitative method to assess cytological samples of the skin

Skin and ear diseases are common presenting complaints in small animal practice. They are often associated with bacterial and yeast infections which need to be confirmed or ruled out with appropriate tests. The easiest method to document cells and microorganisms is the cytological examination of skin specimens. Cytology is one of the most important and most frequently conducted tools in veterinary dermatology. It is quick, provides important information and enables the clinician to determine the next diagnostic or therapeutic steps. The use of cytology is widespread, but there are no studies evaluating their reliability and reproducibility in daily practice.

The aim of this study was to evaluate a semiquantitative cytology assessment method with cytological samples and photographs for its intra- and interobserver reproducibility and for its suitability in daily practice, particularly monitoring antimicrobial therapy.

The participants were divided into two groups based on their experience in evaluating cytological samples, those evaluating more than 10 cytology specimens weekly were considered experienced ($n = 29$) and those evaluating 10 specimens or less unexperienced ($n = 31$). Ten cytology glass slides and 18 photographs were selected for examination from a total of 50 slides and 260 photographs. All examiners were asked to evaluate the slides and photographs twice, with a minimum of six hours time between the two evaluations. Cocci, rods, yeast, neutrophilic and eosinophilic granulocytes and macrophages were evaluated using a semiquantitative scale. The scale ranged from negative to 4+. For the intraobserver reproducibility results of both evaluations of the same sample by each person were compared. For the interobserver reproducibility results of the first examination of each specimen and examiner were compared with one another. In addition, experienced and non-experienced clinicians were compared. If results were the same or only one grade apart they were considered reproducible. However, if one of the results was negative, the other one had to be negative as well for the result to be considered reproducible.

Descriptive statistics were calculated. For evaluation of intraobserver reproducibility, the data pairs of single examiners were analysed using a Wilcoxon-signed-ranks-test. The results of the first evaluation of each examiner within the same group and those of the experienced versus nonexperienced clinicians were compared with a Friedmann and Dunn Post Test. A p-value of < 0.05 was considered significant. A percentual agreement of more than 80 % was considered clinical acceptable and defined as reproducible.

The intraobserver reproducibility evaluating the slides in the experienced group was 84.3 %, in the unexperienced group it was 82.6 %. For the photographs the intraobserver reproducibility was 92.1 in both groups. The interobserver reproducibility evaluating the slides was 81.6 % in the experienced and 81.0 % in the unexperienced group, corresponding values for the photographs were 91.0 % and 90.0 % respectively.

In general, reproducible results were achieved in both groups for the evaluation of slides as well as photographs. Based on these results, this semiquantitative method can be recommended for the use in daily practice and for monitoring of therapy.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abranches P, Silva-Pereira MC, Conceicao-Silva FM, Santos-Gomes GM, Janz JG. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *J Parasitol* 1991; 77: 557-61.

Affolter VK, Moore PF. Histologic features of normal canine and feline skin. *Clin Dermatol* 1994; 12: 491-7.

Albanesi C, Scarponi C, Giustizieri ML, Girolomoni G. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 329-34.

Allaker RP, Lloyd DH, Simpson AI. Occurrence of *Staphylococcus intermedius* on the hair and skin of normal dogs. *Res Vet Sci* 1992; 52: 174-6.

Alvar J, Canavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol* 2004; 57: 1-88.

Amusategui I, Sainz A, Tesouro MA. Evolution of serum albumin/globulin ratio after antimonial therapy in canine leishmaniasis. *Ann N Y Acad Sci* 1998a; 849: 447-9.

Amusategui I, Sainz A, Tesouro MA. Effects of antimonial therapy for canine leishmaniasis on antibody titer. *Ann N Y Acad Sci* 1998b; 849: 444-6.

Angus JC, Campbell KL. Uses and indications for video-otoscopy in small animal practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 809-28.

Angus JC. Otic cytology in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004; 34: 411-24.

August JR. Diseases of the ear canal. In: *The Complete Manual of Ear Care* Lawrenceville, New Jersey: Veterinary Learning Systems Inc. 1986a:

August JR. Evaluation of the patient with otitis externa In: The Complete Manual of Ear Care Lawrenceville, New Jersey: Veterinary Learning Systems, Inc. 1986b:

August JR. Otitis externa. A disease of multifactorial etiology. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1988; 18: 731-42.

Auxilia ST, Hill PB. Mast cell distribution, epidermal thickness and hair follicle density in normal canine skin: possible explanations for the predilection sites of atopic dermatitis? . Veterinary Dermatology 2000; 11: (pages 247–54).

Bacha W, jr. , Bacha LM (2000) Color atlas of Veterinary Histology 2edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia

Baker BB, Maibach HI, Park RD, McFarland LZ, O'Brien TR. Epidermal cell renewal in the dog. Am J Vet Res 1973; 34: 93-4.

Bales CE, Durfee GR. Cytologic techniques. In: Diagnostic Cytology and Histopathological Basis. LG K, ed. Philadelphia: JP Lippincott 1992: 1451-515.

Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends Parasitol 2008; 24: 324-30.

Bassett RJ, Burton GG, Robson DC. Antibiotic responsive ulcerative dermatoses in German Shepherd Dogs with mucocutaneous pyoderma. Aust Vet J 2004; 82: 485-9.

Becker AB, Chung KF, McDonald DM, Lazarus SC, Frick OL, Gold WM. Mast cell heterogeneity in dog skin. Anat Rec 1985; 213: 477-80, 530-1.

Bensignor E, Jankowski F, Seewald W, Touati F, Deville M, Guillot J. Comparison of two sampling techniques to assess quantity and distribution of *Malassezia* yeasts on the skin of Basset Hounds. Vet Dermatol 2002; 13: 237-41.

Bensignor E. Oral itraconazole as a pulse therapy for the treatment of *Malasszia dermatitis*: a randomized, blinded, comparative trial *Pratique Medicale et Chirurgicale de L´animal de Compagnie* 2006; 41: 69-71.

Benyon RC. The human skin mast cell. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 375-87.

Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR. Antimicrobial activity of sphingosines. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 269-73.

Blavier A, Keroack S, Denerolle P, Goy-Thollot I, Chabanne L, Cadore JL, Bourdoiseau G. Atypical forms of canine leishmaniosis. *Vet J* 2001; 162: 108-20.

Bond R, Saijonmaa-Koulumies LE, Lloyd DH. Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites on healthy dogs. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 147-50.

Bond R, Anthony RM, Dodd M, Lloyd DH. Isolation of *Malassezia sympodialis* from feline skin. *J Med Vet Mycol* 1996; 34: 145-7.

Bond R, Howell SA, Haywood PJ, Lloyd DH. Isolation of *Malassezia sympodialis* and *Malassezia globosa* from healthy pet cats. *Vet Rec* 1997; 141: 200-1.

Bond R, Lloyd DH. Skin and mucosal populations of *Malassezia pachydermatis* in healthy and seborrheic Basset Hounds. *Veterinary Dermatology* 1997: 101-6.

Bond R. Pathogenesis of *Malassezia pachydermatis* In: *Advances in veterinary dermatology*. Thoday KL, Foil CS, Bond R, eds. Oxford: Blackwell Science 2001: 69-75.

Bond R, Curtis CF, Hendricks A, Ferguson EA, Lloyd DH. Intradermal test reactivity to *Malassezia pachydermatis* in atopic dogs. *Vet Rec* 2002; 150: 448-9.

Boon ME (1986) Routine Cytological staining techniques: Theoretical Background and Practice. Elsevier Science Ltd., Oxford

Borish L, Rosenwasser L. TH1/TH2 lymphocytes: doubt some more. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 161-4.

Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol Today* 1993; 14: 75-8.

Bowdish DM, Davidson DJ, Hancock RE. A re-evaluation of the role of host defence peptides in mammalian immunity. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6: 35-51.

Braff MH, Bardan A, Nizet V, Gallo RL. Cutaneous defense mechanisms by antimicrobial peptides. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 9-13.

Brandonisio O, Carelli G, Ceci L, Consenti B, Fasanella A, Puccini V. Canine leishmaniasis in the Gargano promontory (Apulia, South Italy). *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 273-6.

Breathnach SM. The skin immune system and psoriasis. *Clin Exp Immunol* 1993; 91: 343-5.

Brito EH, Fontenelle RO, Brilhante RS, Cordeiro RA, Soares Junior FA, Monteiro AJ, Sidrim JJ, Rocha MF. Phenotypic characterization and in vitro antifungal sensitivity of *Candida* spp. and *Malassezia pachydermatis* strains from dogs. *Vet J* 2007; 174: 147-53.

Brito EH, Fontenelle RO, Brilhante RS, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJ, Rocha MF. The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. *Vet J* 2009; 182: 320-6.

Bruyette DS, Lorenz MD. Otitis externa and otitis media: diagnostic and medical aspects. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1993; 8: 3-9.

Bullen JJ, Rogers HJ, Griffiths E. Role of iron in bacterial infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 1978; 80: 1-35.

Caciolo PL, Nesbit GH, Hurvitz AI. Pemphigus foliaceus in eight cats and results of induction therapy using azathioprine *Journal of the American Animal Hospital Association* 20: 572-7.

Cafarchia C, Gallo S, Capelli G, Otranto D. Occurrence and population size of *Malassezia* spp. in the external ear canal of dogs and cats both healthy and with otitis. *Mycopathologia* 2005; 160: 143-9.

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

Carlotti DN, Guaguere E, Pin D, Jasmin P, Thomas E, Guiral V. Therapy of difficult cases of canine pyoderma with marbofloxacin: a report of 39 dogs. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 265-70.

Cavaliero T, Arnold P, Mathis A, Glaus T, Hofmann-Lehmann R, Deplazes P. Clinical, serologic, and parasitologic follow-up after long-term allopurinol therapy of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 330-4.

Chan JK, Kung IT. Rehydration of air-dried smears with normal saline. Application in fine-needle aspiration cytologic examination. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 30-4.

Chance ML, Evans DA. The Leishmaniases - the agent. In: *Protozoal diseases* Gilles HM, ed. London Arnold 1999: 419-25.

Charach M. *Malassezia dermatitis*. *Can Vet J* 1997; 38: 311-4.

Chester DK. Medical management of otitis externa. *Vet Clin North Am Small*

Anim Pract 1988; 18: 799-812.

Chickering WR. Cytologic evaluation of otic exudates. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1988; 18: 773-82.

Christopher MM, Hotz CS, Shelly SM, Pion PD. Use of cytology as a diagnostic method in veterinary practice and assessment of communication between veterinary practitioners and veterinary clinical pathologists. J Am Vet Med Assoc 2008; 232: 747-54.

Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, Scalone A, Persechino A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. Vet Rec 1997; 141: 539-43.

Cole LK, Kwochka KW, Kowalski JJ, Hillier A. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. J Am Vet Med Assoc 1998; 212: 534-8.

Colombo S, Cornegliani L, Vercelli A. Efficacy of itraconazole as a combined continuous/pulse therapy in feline dermatophytosis: preliminary results in nine cases. Vet Dermatol 2001; 12: 347-50.

Colombo S, Nardoni S, Cornegliani L, Mancianti F. Prevalence of *Malassezia* spp. yeasts in feline nail folds: a cytological and mycological study. Vet Dermatol 2007; 18: 278-83.

Cornegliani L, Fondevila D, Vercelli A, Mantero G, Fondati A. PCR technique detection of *Leishmania* spp. but not *Mycobacterium* spp. in canine cutaneous 'sterile' pyogranuloma/granuloma syndrome. Vet Dermatol 2005; 16: 233-8.

Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, DeNicola DB (2008) Diagnostic Cytology an Hematology of the Dog an Cat, Third Edition edn. Elsevier Inc., St.Louis, Missouri. pp.1-19

Cox HU, Hoskins JD, Newman SS, Foil CS, Turnwald GH, Roy AF. Temporal study of staphylococcal species on healthy dogs. *Am J Vet Res* 1988; 49: 747-51.

Crespo MJ, Abarca ML, Cabanes FJ. Isolation of *Malassezia furfur* from a cat. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1573-4.

Crespo MJ, Abarca ML, Cabanes FJ. Otitis externa associated with *Malassezia sympodialis* in two cats. *J Clin Microbiol* 2000a; 38: 1263-6.

Crespo MJ, Abarca ML, Cabanes FJ. Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. *J Clin Microbiol* 2000b; 38: 2383-5.

Crespo MJ, Abarca ML, Cabanes FJ. Occurrence of *Malassezia* spp. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. *Med Mycol* 2002; 40: 115-21.

Croft SL, Neal RA, Pendergast W, Chan JH. The activity of alkyl phosphorylcholines and related derivatives against *Leishmania donovani*. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2633-6.

Dale JE. Canine dermatosis caused by *Candida parapsilosis*. *Vet Med Small Anim Clin* 1972; 67: 548-9.

Day MJ. Expression of major histocompatibility complex class II molecules by dermal inflammatory cells, epidermal Langerhans cells and keratinocytes in canine dermatological disease. *J Comp Pathol* 1996; 115: 317-26.

de Mora F, Garcia G, Ferrer L, Arboix M. Canine cutaneous mast cells dispersion and histamine secretory characterization. *Vet Immunol Immunopathol* 1993; 39: 421-9.

DeManuelle TC, Ihrke PJ, Brandt CM, Kass PH, Vulliet PR. Determination of skin concentrations of enrofloxacin in dogs with pyoderma. *Am J Vet Res* 1998;

59: 1599-604.

Denerolle P, Bourdoiseau G. Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). *J Vet Intern Med* 1999; 13: 413-5.

Dennis MM, O'Brien TD, Wayne T, Kiupel M, Williams M, Powers BE. Hyalinizing pancreatic adenocarcinoma in six dogs. *Vet Pathol* 2008; 45: 475-83.

Desplenter L. Dermatophytosis in small animals: topical treatment and environmental control with enilconazole. *Tijdschr Diergeneeskd* 1989; 114 Suppl 1: 33S-4S.

Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M, Vaneechoutte M, De Graef E, Snauwaert C, Cleenwerck I, Dawyndt P, Swings J, Decostere A, Haesebrouck F. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005; 55: 1569-73.

Dickson DB, Love DN. Bacteriology of the horizontal ear canal of dogs. *Journal of Small Animal Practice* 1983: 413-21.

Draize JH. The determination of the pH of the skin of man and common laboratory animals. *Journal of Investigative Dermatology* 1942; 5: 77-85.

Duarte EP, Melo MM, Hahn RC, Hamdan JS. Prevalence of *Malassezia* spp. in the ears of asymptomatic cattle and cattle with otitis in Brazil. *Med Mycol* 1999; 37: 159-62.

Duraiswamy N, Tse Y, Hammerberg C, Kang S, Cooper KD. Distinction of class II MHC+ Langerhans cell-like interstitial dendritic antigen-presenting cells in murine dermis from dermal macrophages. *J Invest Dermatol* 1994; 103: 678-83.

Emerson JL, Cross RF. The distribution of mast cells in normal canine skin. *Am J*

Vet Res 1965; 26: 1379-82.

Engelhardt W, Breves G (2005) Physiologie der Haustiere. Enke Stuttgart

Evans HE, Christensen GC Miller's Anatomy of the Dog 3rd edn. WB Saunders, Philadelphia

Evans JM, Lane DR, Hendy PG. The profile of small animal practice. J Small Anim Pract 1974; 15: 595-607.

Faergemann J. Epidemiology and ecology of pityriasis versicolor. Curr Top Med Mycol 1989; 3: 153-67.

Fazakerley J, Nuttall T, Sales D, Schmidt V, Carter SD, Hart CA, McEwan NA. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. Vet Dermatol 2009; 20: 179-84.

Feichter G, Dalquen P (2000) Zytopathologie. Springer, Berlin

Fernando SDA. Certain histopathologic features of the external auditory meatus of the cat and dog with otitis externa. Am J Vet Res 1967: 278-82.

Ferrer L (1999) Clinical aspects of canine leishmaniosis: an update International Canine Leishmaniasis Forum Barcelona, Spain. 6-10

Fisa R, Gallego M, Castillejo S, Aisa MJ, Serra T, Riera C, Carrio J, Gallego J, Portus M. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. Vet Parasitol 1999; 83: 87-97.

Fitzgerald JR. The Staphylococcus intermedius group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emerge of meticillin resistance. Vet Dermatol 2009; 20: 490-5.

Folkman J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes memorial Award lecture. *Cancer Res* 1986; 46: 467-73.

Foreman JC. Introduction to mast cells and basophils. In: *Immunopharmacology of Mast Cells and Basophils* London: Academic Press 1993: 1-4.

Fraser G. The histopathology of the external auditory meatus of the dog. *J Comp Pathol* 1961: 253-60.

Gear RN, Bacon NJ, Langley-Hobbs S, Watson PJ, Woodger N, Herrtage ME. Panniculitis, polyarthritis and osteomyelitis associated with pancreatic neoplasia in two dogs. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 400-4.

Giger U, Werner LL, Millichamp NJ, Gorman NT. Sulfadiazine-induced allergy in six Doberman pinschers. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186: 479-84.

Ginel PJ, Lucena R, Rodriguez JC, Ortega J. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Vet Dermatol* 2002; 13: 151-6.

Girao MD, Prado MR, Brilhante RS, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJ, Rocha MF. *Malassezia pachydermatis* isolated from normal and diseased external ear canals in dogs: a comparative analysis. *Vet J* 2006; 172: 544-8.

Goldman MJ, Anderson GM, Stolzenberg ED, Kari UP, Zasloff M, Wilson JM. Human beta-defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell* 1997; 88: 553-60.

Gomez SM, Morris DO, Goldschmidt MH (2002) Factors affecting mortality or survival in dogs with pemphigus foliaceus. A retrospective analysis of 43 dogs Annual Members' Meeting of the Academy for Veterinary Dermatology and the American College of Veterinary Dermatologists 43

Gomez SM, Morris DO, Rosenbaum MR, Goldschmidt MH. Outcome and complications associated with treatment of pemphigus foliaceus in dogs: 43 cases (1994-2000). *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 1312-6.

Goodman RE, Nestle F, Naidu YM, Green JM, Thompson CB, Nickoloff BJ, Turka LA. Keratinocyte-derived T cell costimulation induces preferential production of IL-2 and IL-4 but not IFN-gamma. *J Immunol* 1994; 152: 5189-98.

Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today* 1990; 11: 458-64.

Gotthelf LN. Diagnosis and treatment of otitis media in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004; 34: 469-87.

Graham-Mize CA, Rosser EJ, Jr. Comparison of microbial isolates and susceptibility patterns from the external ear canal of dogs with otitis externa. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 102-8.

Greene CE. Otitis externa. In: *Infectious diseases of the dog and cat* Philadelphia: WB Saunders 1998: 549-54.

Griffeth GC, Morris DO, Abraham JL, Shofer FS, Rankin SC. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Vet Dermatol* 2008; 19: 142-9.

Griffin C. Histopathology of the external ear. In: *The Complete Manual of Ear Care* Lawrenceville, New Jersey: Veterinary Learning Systems, Inc. 1986:

Griffin CE (1981) Otitis externa

Griffin CE. Otitis externa and media. In: *Current Veterinary Dermatology*. Griffin CE KK, Mac Donald JM (eds), ed. St. Louis: Mobsy Year Book 1993: 245-62.

Griffin CE. Etiology and pathogenesis of otitis. In: *Otology Medicine and Surgery*. Griffin CE, ed. Las Vegas: 1998: 3.

Griffin CE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 255-69.

Griffin JS, Scott DW, Erb HN. *Malassezia* otitis externa in the dog: the effect of heat-fixing otic exudate for cytological analysis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2007; 54: 424-7.

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ (2005) *Skin Diseases of the Dog and the Cat*. Blackwell Science. 406-10

Guaguere E, Degorce-Rubiales F. *Pemphigus foliaceus* confined to the nails in a Hungarian short-haired pointer (Abstract). *Veterinary Dermatology* 2004: 56.

Gueho E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-55.

Gueho E, Boekhout T, Ashbee HR, Guillot J, Van Belkum A, Faergemann J. The role of *Malassezia* species in the ecology of human skin and as pathogens. *Med Mycol* 1998; 36 Suppl 1: 220-9.

Guillot J, Bond R. *Malassezia pachydermatis*: a review. *Med Mycol* 1999; 37: 295-306.

Gupta S, Sodhani P, Chachra KL. Rehydration of air-dried cervical smears: a feasible alternative to conventional wet fixation. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 761-4.

Hall IA, Campbell KL, Chambers MD, Davis CN. Effect of trimethoprim/sulfamethoxazole on thyroid function in dogs with pyoderma. *J Am*

Vet Med Assoc 1993; 202: 1959-62.

Halliwell RE. The localization of IgE in canine skin: an immunofluorescent study. J Immunol 1973; 110: 422-30.

Halnan CR. The frequency of occurrence of anal sacculitis in the dog. J Small Anim Pract 1976; 17: 537-41.

Harvey RG, Noble WC, Ferguson EA. A comparison of lincomycin hydrochloride and clindamycin hydrochloride in the treatment of superficial pyoderma in dogs. Vet Rec 1993; 132: 351-3.

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.

Harvey RG, Harari J, Delauche AJ (2001) Ear diseases of the dog and cat. In: The Veterinary Press. Manson Publishing, London. 50-6

Hedlund CS, Fossum TW. Anal sac infection and impaction In: Small Animal Surgery Fossum TW, ed. St. Louis: Mosby 2007: 511-5.

Hendrick MJ, Dunagan CA. Focal necrotizing granulomatous panniculitis associated with subcutaneous injection of rabies vaccine in cats and dogs: 10 cases (1988-1989). J Am Vet Med Assoc 1991; 198: 304-5.

Hill PB. A review of mast cell biology. Veterinary Dermatology 1998; 9: 143-218.

Hill PB, Lo A, Eden CA, Huntley S, Morey V, Ramsey S, Richardson C, Smith DJ, Sutton C, Taylor MD, Thorpe E, Tidmarsh R, Williams V. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. Vet Rec 2006; 158: 533-9.

Hirai A, Kano R, Makimura K, Duarte ER, Hamdan JS, Lachance MA, Yamaguchi H, Hasegawa A. *Malassezia nana* sp. nov., a novel lipid-dependent yeast species isolated from animals. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 623-7.

Hnilica KA, Medleau L. Evaluation of topically applied enilconazole for the treatment of dermatophytosis in a Persian cattery. *Vet Dermatol* 2002; 13: 23-8.

Hollander DH. Letter: De gustibus non disputandum: an examination of papanicolaou staining. *Acta Cytol* 1975; 19: 404-6.

Holoymoen JI, Bjerkas I, Olberg IH, Mork AV. [Disseminated candidiasis (moniliasis) in a dog. A case report]. *Nord Vet Med* 1982; 34: 362-7.

Horobin RW. Fundamental mechanisms of cytological staining. In: *Standardization and Quantitation of Diagnostic in Cytology*. Boon ME, Kok LP, eds. Leyden: Coloumb Press 1986:

How KL, Hazewinkel HA, Mol JA. Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. *Gen Comp Endocrinol* 1994; 96: 12-8.

How KL, Hazewinkel HA, Mol JA. Photosynthesis of vitamin D in the skin of dogs cats and rats. *Vet Q* 1995; 17 Suppl 1: S29.

Hughes D, Goldschmidt MH, Washabau RJ, Kueppers F. Serum alpha 1-antitrypsin concentration in dogs with panniculitis. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 1582-4.

Hultner L, Moeller J, Schmitt E, Jager G, Reisbach G, Ring J, Dormer P. Thiol-sensitive mast cell lines derived from mouse bone marrow respond to a mast cell growth-enhancing activity different from both IL-3 and IL-4. *J Immunol* 1989; 142: 3440-6.

Huntley JF. Mast cells and basophils: a review of their heterogeneity and function. *J Comp Pathol* 1992; 107: 349-72.

Hutchings SM. Juvenile cellulitis in a puppy. *Can Vet J* 2003; 44: 418-9.

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

Ihrke PJ, Schwartzman RM, McGinley K, Horwitz LN, Marples RR. Microbiology of normal and seborrheic canine skin. *Am J Vet Res* 1978; 39: 1487-9.

Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Griffin CE. Pemphigus foliaceus in dogs: a review of 37 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1985a; 186: 59-66.

Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Griffin CE, Kallet AJ. Pemphigus foliaceus of the footpads in three dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1985b; 186: 67-9.

Ihrke PJ. An overview of bacterial skin disease in the dog. *Br Vet J* 1987; 143: 112-8.

Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Presland RB, Dale BA, Iizuka H. Translocation of profilaggrin N-terminal domain into keratinocyte nuclei with fragmented DNA in normal human skin and loricrin keratoderma. *Lab Invest* 1998; 78: 1245-53.

Iwasaki T, Maeda Y (1997) The effect of ultraviolet (UV) on the severity of canine pemphigus erythematosus (Abstract). American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology Annual Meeting. Nashville, TN. 86

Iwasaki T, Yamakita-Yoshida K (2003) Time course of autoantibodies and clinical signs in canine pemphigus foliaceus (Abstract) American Academy of

Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology Annual Meeting. Monterey, CA

Jadhav VJ, Pal M. Canine mycotic stomatitis due to *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 233-4.

James DJ, Griffin CE, Polissar NL, Neradilek MB. Comparison of anal sac cytological findings and behaviour in clinically normal dogs and those affected with anal sac disease. *Vet Dermatol* 2010;

James J. General and specific protein staining in cytology. In: *Standardization and Quantitation of Diagnostic Staining in Cytology*. Boon ME, Kok LP, eds. Leyden: Coloumb Press 1986: 49-51.

Jasmin P, Schroeder H, Briggs M, Last R, Sanquer A (2003) Assessment of the efficacy of a 3% chlorhexidine shampoo in the control of elevated cutaneous *Malassezia* populations and associated clinical signs (*Malassezia dermatitis*) in dogs. 19th Annual Congress of the ESVD ECVD. Tenerife. 170

Jeffers JG, Duclos DD, Goldschmidt MH. A dermatosis resembling juvenile cellulitis in an adult dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1995; 31: 204-8.

Jinn TH, Kim PD, Russell PT, Church CA, John EO, Jung TT. Determination of ototoxicity of common otic drops using isolated cochlear outer hair cells. *Laryngoscope* 2001; 111: 2105-8.

Jones CA. Papanicolaou staining of air-dried smears: value in rapid diagnosis. *Cytopathology* 1996; 7: 333-9.

Jorundsson E, Lumsden JH, Jacobs RM. Rapid staining techniques in cytopathology: a review and comparison of modified protocols for hematoxylin and eosin, Papanicolaou and Romanowsky stains. *Vet Clin Pathol* 1999; 28: 100-8.

Kadekaro AL, Kavanagh RJ, Wakamatsu K, Ito S, Pipitone MA, Abdel-Malek ZA. Cutaneous photobiology. The melanocyte vs. the sun: who will win the final round? *Pigment Cell Res* 2003; 16: 434-47.

Kellogg JA, Seiple JW, Klindedinst JL, Stroll E. Diff-Quik stain as a simplified alternative to Papanicolaou stain for determination of quality of endocervical specimens submitted for PCR detection of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2590-2.

Kennis RA, Rosser EJ, Jr., Olivier NB, Walker RW. Quantity and distribution of *Malassezia* organisms on the skin of clinically normal dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208: 1048-51.

Keppel KE, Campbell KL, Zuckermann FA, Greeley EA, Schaeffer DJ, Husmann RJ. 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. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 337-44.

Kitamura Y, Hatanaka K, Murakami M, Shibata H. Presence of mast cell precursors in peripheral blood of mice demonstrated by parabiosis. *Blood* 1979; 53: 1085-8.

König HE, Liebich HG (2002) *Anatomie der Haussäugetiere: Organe, Kreislauf- und Nervensystem*. Schattauer, Stuttgart

Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, Argyriadis D, Fytianou A, Plevraki KG. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J Am Anim Hosp Assoc* 1999; 35: 376-83.

Kowalski JJ. The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988; 18: 743-54.

Kral F, Uscavage JP. Cutaneous candidiasis in a dog. J Am Vet Med Assoc 1960; 136: 612-5.

Kruger TF, Ackerman SB, Simmons KF, Swanson RJ, Brugo SS, Acosta AA. A quick, reliable staining technique for human sperm morphology. Arch Androl 1987; 18: 275-7.

Kuhl KA, Shofer FS, Goldschmidt MH. Comparative histopathology of pemphigus foliaceus and superficial folliculitis in the dog. Vet Pathol 1994; 31: 19-27.

Lake AM, Scott DW, Miller WH, Jr., Erb HN. Gross and cytological characteristics of normal canine anal-sac secretions. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 2004; 51: 249-53.

Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An update of the defensive barrier function of skin. Yonsei Med J 2006; 47: 293-306.

Lehner G, Louis CS, Mueller RS. Reproducibility of ear cytology in dogs with otitis externa. Vet Rec 2010; 167: 23-6.

Liebich HG (1999) Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Schattauer, Stuttgart

Linek J. Mycotic endophthalmitis in a dog caused by *Candida albicans*. Vet Ophthalmol 2004; 7: 159-62.

Little CJ, Lane JG, Gibbs C, Pearson GR. Inflammatory middle ear disease of the dog: the clinical and pathological features of cholesteatoma, a complication of otitis media. Vet Rec 1991; 128: 319-22.

Lloyd DH, Garthwaite G. Epidermal structure and surface topography of canine skin. Res Vet Sci 1982; 33: 99-104.

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

Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Kolar LM, Klausner JS. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1336-41.

Macy DW, Seim HB (1985) Medical and surgical aspects of the ear - Parts I and II. 52nd Annual Meeting of the American Animal Hospital Association 120-37

Maia C, Campino L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet Parasitol* 2008; 158: 274-87.

Manna L, Vitale F, Reale S, Picillo E, Neglia G, Vescio F, Gravino AE. Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. *Vet J* 2009; 182: 441-5.

Mansfield PD, Boosinger TR, Attleberger MH. Infectivity of *Malassezia pachydermatis* in the external ear canal of dogs. *An Anim Hosp Assoc* 1990: 97-100.

Marchal T, Saint-Andre I, Magnol JP, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D. [Dendritic cells in dogs and cats: models of study in human pathology]. *Pathol Biol (Paris)* 1995; 43: 910-20.

Marone G, Casolaro V, Cirillo R, Stellato C, Genovese A. Pathophysiology of human basophils and mast cells in allergic disorders. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 50: S24-40.

Marsella R, Nicklin CF. Sulphido-leukotriene production from peripheral leukocytes and skin in clinically normal dogs and house dust mite positive atopic dogs. *Vet Dermatol* 2001; 12: 3-12.

Martin-Sanchez J, Acedo C, Munoz-Perez M, Pesson B, Marchal O, Morillas-Marquez F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. *Vet Parasitol* 2007; 145: 267-73.

Martin Barrasa JL, Lupiola Gomez P, Gonzalez Lama Z, Tejedor Junco MT. Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2000; 47: 191-6.

Mason IS, Jones J. Juvenile cellulitis in Gordon setters. *Vet Rec* 1989; 124: 642.

Mason IS, Lloyd DH (1993) Scanning electron microscopical studies of the living epidermis and stratum corneum in dogs. In: *Advances in Veterinary Dermatology*. Eds Ihrke PJ, Mason IS, White SD. Pergamon Oxford Press. 131-9

Mason IS, Mason K, Lloyd DH. A review of the biology of canine skin with respect to the commensals *Staphylococcus intermedius*, *Demodex canis* and *Malassezia pachydermatis*. *Veterinary Dermatology* 1996; 7: 119-32.

Mason IS, Kietzmann M. Cephalosporins – pharmacological basis of clinical use in veterinary dermatology (pages 187–192). *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 187-92.

Mason KV, Day MJ. A pemphigus foliaceus-like eruption associated with the use of ampicillin in a cat. *Aust Vet J* 1987; 64: 223-4.

Mateo M, Maynard L, Vischer C, Bianciardi P, Miro G. Comparative study on the short term efficacy and adverse effects of miltefosine and meglumine antimoniate in dogs with natural leishmaniosis. *Parasitol Res* 2009; 105: 155-62.

Maudlin EA, Scott DW, Miller WH, Smith A. *Malassezia dermatitis* in the dog: a retrospective histopathological and immunological study of 86 cases (1990-95). *Veterinary Dermatology* 1997; 8: 191-202.

Maynard L, Guaguere E, Medaille C. Clinical efficacy of cefalexin administered twice daily by oral route in the treatment of canine pyoderma. *Veterinary Dermatology* 2003; 14: 238.

McEwan NA. Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine keratinocytes in atopic dermatitis. *Res Vet Sci* 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. *Res Vet Sci* 2005; 78: 193-8.

McKellar QA, Rycroft A, Anderson L, Love J. Otitis externa in a foxhound pack associated with *Candida albicans*. *Vet Rec* 1990; 127: 15-6.

Medleau L, Hnilica K (2006) *Small animal dermatology: A color atlas and therapeutic guide*. Saunders, St. Louis

Meinkoth JH, Cowell RL. Sample collection and preparation in cytology: increasing diagnostic yield. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2002; 32: 1187-207, v.

Mellanby RJ, Stell A, Baines E, Chantrey JC, Herrtage ME. Panniculitis associated with pancreatitis in a cocker spaniel. *J Small Anim Pract* 2003; 44: 24-8.

Mendelsohn C, Rosenkrantz W, Griffin CE. Practical cytology for inflammatory skin diseases. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21: 117-27.

Menon GK. New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54 Suppl 1: S3-17.

Mildner M, Jin J, Eckhart L, Kezic S, Gruber F, Barresi C, Stremnitzer C,

Buchberger M, Mlitz V, Ballaun C, Sterniczky B, Fodinger D, Tschachler E. Knockdown of filaggrin impairs diffusion barrier function and increases UV sensitivity in a human skin model. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 2286-94.

Millington WR, Evans VR, Battie CN, Bagasra O, Forman LJ. Proopiomelanocortin-derived peptides and mRNA are expressed in rat heart. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 680: 575-8.

Miro G, Oliva G, Cruz I, Canavate C, Mortarino M, Vischer C, Bianciardi P. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Vet Dermatol* 2009; 20: 397-404.

Moeller J, Hultner L, Schmitt E, Dormer P. Partial purification of a mast cell growth-enhancing activity and its separation from IL-3 and IL-4. *J Immunol* 1989; 142: 3447-51.

Montagna W, Carlisle K. The architecture of black and white facial skin. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 929-37.

Moore PF, Rossitto PV, Danilenko DM, Wielenga JJ, Raff RF, Severns E. Monoclonal antibodies specific for canine CD4 and CD8 define functional T-lymphocyte subsets and high-density expression of CD4 by canine neutrophils. *Tissue Antigens* 1992; 40: 75-85.

Moreau PM, Fiske RA, Lees GE, Corrier DE. Disseminated necrotizing panniculitis and pancreatic nodular hyperplasia in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 422-5.

Moretti A, Posteraro B, Boncio L, Mechelli L, De Gasperis E, Agnetti F, Raspa M. Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 139-42.

Morris DO. Malassezia dermatitis and otitis. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1999a; 29: 1303-10.

Morris DO. Medical therapy of otitis externa and otitis media. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2004; 34: 541-55, vii-viii.

Morris JG. Ineffective vitamin D synthesis in cats is reversed by an inhibitor of 7-dehydrocholesterol-delta7-reductase. J Nutr 1999b; 129: 903-8.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. J Immunol 2005; 175: 5-14.

Mueller RS, Bettenay SV, Shipstone M. Cutaneous candidiasis in a dog caused by Candida guilliermondii. Vet Rec 2002; 150: 728-30.

Mueller RS, Krebs I, Power HT, Fieseler KV. Pemphigus foliaceus in 91 dogs. J Am Anim Hosp Assoc 2006; 42: 189-96.

Mueller RS, Stephan B. Pradofloxacin in the treatment of canine deep pyoderma: a multicentred, blinded, randomized parallel trial. Vet Dermatol 2007; 18: 144-51.

Mueller RS, Kloos I, Sauter-Louis C. Evaluation of four different cytological evaluation methods in veterinary dermatology. Veterinary Dermatology 2010; 21: 311-28.

Murphy KM. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. Clin Tech Small Anim Pract 2001; 16: 236-41.

Myles AD, Halliwell RE, Ballauf B, Miller HR. Mast cell tryptase levels in normal canine tissues. Vet Immunol Immunopathol 1995; 46: 223-35.

Nacht S, Yeung D, Beasley JN, Jr., Anjo MD, Maibach HI. Benzoyl peroxide:

percutaneous penetration and metabolic disposition. *J Am Acad Dermatol* 1981; 4: 31-7.

Nardoni S, Mancianti F, Corazza M, Rum A. Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia* 2004; 157: 383-8.

Naucke TJ, Menn B, Massberg D, Lorentz S. Sandflies and leishmaniasis in Germany. *Parasitol Res* 2008; 103 Suppl 1: S65-8.

Negre A, Bensignor E, Guillot J. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for *Malassezia* dermatitis in dogs. *Vet Dermatol* 2009; 20: 1-12.

Nell A, James SA, Bond CJ, Hunt B, Herrtage ME. Identification and distribution of a novel *Malassezia* species yeast on normal equine skin. *Vet Rec* 2002; 150: 395-8.

Nickoloff BJ, Turka LA. Immunological functions of non-professional antigen-presenting cells: new insights from studies of T-cell interactions with keratinocytes. *Immunol Today* 1994; 15: 464-9.

Noble WC (1981) *Microbiology of Human Skin*, 2nd edn. W.B. Saunders, London

Nobre MO, Castro AP, Nascente PS, Ferreiro L, Meireles MCA. Occurrence of *Malassezia pachydermatis* and other infectious agents as cause of external otitis in dogs from Rio Grande do sul state, Brazil (1996/1997). *Brazilian Journal of Microbiology* 2001; 32: 245-9.

Noli C, Koeman JP, Willemsse T. A retrospective evaluation of adverse reactions to trimethoprim-sulphonamide combinations in dogs and cats. *Vet Q* 1995; 17: 123-8.

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

Noli C, Scarpella F (2004) *Praktische Dermatologie bei Hund und Katze*. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover

Noli C. Structure and physiology of skin and hair. In: *A practical guide to Canine dermatology*. Guaguere E, Prelaud P, Craig M, eds. Italy: Kaliaxis 2008:

Norrby K, Jakobsson A, Sorbo J. Mast-cell-mediated angiogenesis: a novel experimental model using the rat mesentery. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1986; 52: 195-206.

O'Keefe EJ, Burke WA, Steinbaugh JR. Diff-Quik stain for Tzanck smears. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 148-9.

O'Kell AL, Inteworn N, Diaz SF, Saunders GK, Panciera DL. Canine sterile nodular panniculitis: a retrospective study of 14 cases. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 278-84.

Oliva G, Dvm XR, Crotti A, Maroli M, Castagnaro M, Gradoni L, Lubas G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E. Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2010; 236: 1192-8.

Oliveira LC, Leite CA, Brilhante RS, Carvalho CB. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. *Can Vet J* 2008; 49: 785-8.

Olivry T, Rivierre C, Murphy KM. Efficacy of cyclosporine for treatment induction of canine pemphigus foliaceus. *Vet Rec* 2003; 152: 53-4.

Olivry T. A review of autoimmune skin diseases in domestic animals: I - superficial pemphigus. *Vet Dermatol* 2006; 17: 291-305.

Ordeix L, Solano-Gallego L, Fondevila D, Ferrer L, Fondati A. Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses. *Vet Dermatol* 2005; 16: 187-91.

Pak HY, Yokota SB, Teplitz RL. Rapid staining techniques employed in fine needle aspirations. *Acta Cytol* 1983; 27: 81-3.

Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zatelli A, Zini E. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2010; 236: 1184-91.

Papadogiannakis EI, Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Vlemmas J, Lekkas S, Karameris A, Fytianou A. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 104: 227-37.

Pappalardo E, Martino PA, Noli C. Macroscopic, cytological and bacteriological evaluation of anal sac content in normal dogs and in dogs with selected dermatological diseases. *Vet Dermatol* 2002; 13: 315-22.

Paradis M, Abbey L, Baker B, Coyne M, Hannigan M, Joffe D, Pukay B, Trettien A, Waisglass S, Wellington J. Evaluation of the clinical efficacy of marbofloxacin (Zeniquin) tablets for the treatment of canine pyoderma: an open clinical trial. *Vet Dermatol* 2001; 12: 163-9.

Parker WM, Yager JA. Trichophyton dermatophytosis--a disease easily confused with pemphigus erythematosus. *Can Vet J* 1997; 38: 502-5.

Pascal A, Shiebert J, Ihrke P (1995) Seasonality and environmental risk factors for *Pemphigus foliaceus* in animals: a retrospective study of 83 cases presented to the Veterinary Medical Teaching Hospital, University of California Davis from 1976 and 1994 (abstract) American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology Annual Meeting. Santa Fe. 24-5

Paterson S. Sterile idiopathic pedal panniculitis in the German shepherd dog--clinical presentation and response to treatment of four cases. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 498-501.

Pearton DJ, Dale BA, Presland RB. Functional analysis of the profilaggrin N-terminal peptide: identification of domains that regulate nuclear and cytoplasmic distribution. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 661-9.

Pennisi MG, Reale S, Giudice SL, Masucci M, Caracappa S, Vitale M, Vitale F. Real-time PCR in dogs treated for leishmaniasis with allopurinol. *Vet Res Commun* 2005; 29 Suppl 2: 301-3.

Petersen AD, Walker RD, Bowman MM, Schott HC, 2nd, Rosser EJ, Jr. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 407-13.

Pinchbeck LR, Hillier A, Kowalski JJ, Kwochka KW. Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 1807-12.

Plant JD, Rosenkrantz WS, Griffin CE. Factors associated with and prevalence of high *Malassezia pachydermatis* numbers on dog skin. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201: 879-82.

Plevraki K, Koutinas AF, Kaldrymidou H, Roumpies N, Papazoglou LG, Saridomichelakis MN, Savvas I, Leondides L. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in Canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *J Vet Intern Med* 2006; 20: 228-33.

Plonka PM, Passeron T, Brenner M, Tobin DJ, Shibahara S, Thomas A, Slominski A, Kadarko AL, Hershkovitz D, Peters E, Nordlund JJ, Abdel-Malek Z, Takeda

K, Paus R, Ortonne JP, Hearing VJ, Schallreuter KU. What are melanocytes really doing all day long...? *Exp Dermatol* 2009; 18: 799-819.

Post K. Nodular panniculitis in a female toy poodle. *Can Vet J* 1983; 24: 152-3.

Powell MB, Weisbroth SH, Roth L, Wilhelmssen C. Reaginic hypersensitivity in *Otodectes cynotis* infestation of cats and mode of mite feeding. *Am J Vet Res* 1980; 41: 877-82.

Presland RB, Kimball JR, Kautsky MB, Lewis SP, Lo CY, Dale BA. Evidence for specific proteolytic cleavage of the N-terminal domain of human profilaggrin during epidermal differentiation. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 170-8.

Presland RB, Boggess D, Lewis SP, Hull C, Fleckman P, Sundberg JP. Loss of normal profilaggrin and filaggrin in flaky tail (ft/ft) mice: an animal model for the filaggrin-deficient skin disease ichthyosis vulgaris. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 1072-81.

Preziosi DE, Goldschmidt MH, Greek JS, Jeffers JG, Shanley KS, Drobatz K, Mauldin EA. Feline pemphigus foliaceus: a retrospective analysis of 57 cases. *Vet Dermatol* 2003; 14: 313-21.

Raabe P, Mayser P, Weiss R. Demonstration of *Malassezia furfur* and *M. sympodialis* together with *M. pachydermatis* in veterinary specimens. *Mycoses* 1998; 41: 493-500.

Rabanal RM, Ferrer L, Else RW. Immunohistochemical detection of canine leucocyte antigens by specific monoclonal antibodies in canine normal tissues. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 47: 13-23.

Rausch FD, Skinner GW. Incidence and treatment of budding yeasts in canine otitis externa. *Mod Vet Pract* 1978; 59: 914-5.

Reimann KA, Evans MG, Chalifoux LV, Turner S, DeBoer DJ, King NW, Letvin NL. Clinicopathologic characterization of canine juvenile cellulitis. *Vet Pathol* 1989; 26: 499-504.

Reinke SI, Stannard AA, Ihrke PJ, Reinke JD. Histopathologic features of pyotraumatic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 190: 57-60.

Robinson ND, Hashimoto T, Amagai M, Chan LS. The new pemphigus variants. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 649-71; quiz 72-3.

Robson DC, Burton GG, Lorimer MF. Cytological examination and physical characteristics of the anal sacs in 17 clinically normal dogs. *Aust Vet J* 2003; 81: 36-41.

Roessner A, Pfeifer U, Müller-Hermelink HK (2004) *allgemeine Pathologie*. Urban & Fischer, München

Roland PS. Characteristics of systemic and topical agents implicated in toxicity of the middle and inner ear. *Ear Nose Throat J* 2003; 82 Suppl 1: 3-8.

Rosenkrantz TS (2009) Autoimmune skin diseases in dogs and cats. 23rd Annual Congress of the ESVD-ECVD on Veterinary Dermatology Bled, Slovenia. 96-102

Rosenkrantz WS. Pemphigus: current therapy. *Vet Dermatol* 2004; 15: 90-8.

Rosser EJ, Jr. Diagnosis of food allergy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 259-62.

Rosser EJ, Jr. Causes of otitis externa. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004; 34: 459-68.

Rosychuk RA. Management of otitis externa. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994; 24: 921-52.

Rosypal AC, Troy GC, Duncan RB, Zajac AM, Lindsay DS. Utility of diagnostic tests used in diagnosis of infection in dogs experimentally inoculated with a North American isolate of *Leishmania infantum infantum*. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 802-9.

Roszel JF, MacVean DW, Monlux AW. Use of cytology for tumor diagnosis in private veterinary practice. *J Am Vet Med Assoc* 1978; 173: 1011-4.

Rothstein E, Scott DW, Riis RC. Tetracycline and niacinamide for the treatment of sterile pyogranuloma/granuloma syndrome in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33: 540-3.

Russell PT, Church CA, Jinn TH, Kim DJ, John EO, Jung TT. Effects of common topical otic preparations on the morphology of isolated cochlear outer hair cells. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 135-9.

Saijonmaa-Koulumies L, Parsons E, Lloyd DH. Elimination of *Staphylococcus intermedius* in healthy dogs by topical treatment with fusidic acid. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 341-7.

Sanchez-Robert E, Altet L, Sanchez A, Francino O. Polymorphism of *Slc11a1* (*Nramp1*) gene and canine leishmaniasis in a case-control study. *J Hered* 2005; 96: 755-8.

Saridomichelakis MN, Farmaki R, Leontides LS, Koutinas AF. Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Vet Dermatol* 2007; 18: 341-7.

Sasanelli M, Paradies P, de Caprariis D, Greco B, De Palo P, Palmisano D, Carelli G. Acute-phase proteins in dogs naturally infected with *Leishmania infantum* during and after long-term therapy with allopurinol. *Vet Res Commun* 2007; 31 Suppl 1: 335-8.

Schechter NM, Slavin D, Fetter RD, Lazarus GS, Fraki JE. Purification and identification of two serine class proteinases from dog mast biochemically and immunologically similar to human proteinases tryptase and chymase. Arch Biochem Biophys 1988; 262: 232-44.

Schmitt E, Fassbender B, Beyreuther K, Spaeth E, Schwarzkopf R, Rude E. Characterization of a T cell-derived lymphokine that acts synergistically with IL 3 on the growth of murine mast cells and is identical with IL 4. Immunobiology 1987; 174: 406-19.

Schulte E. Air drying as a preparatory factor in cytology: investigation of its influence on dye uptake and dye binding. Diagn Cytopathol 1986; 2: 160-7.

Schwartz LB. Mast cells: function and contents. Curr Opin Immunol 1994; 6: 91-7.

Scott D, Miller WH, Jr., C.E. G (1995) Muller&Kirk's Small Animal Dermatology. W.B. Saunders, Philadelphia

Scott DW. External ear disorders. J Am Anim Hosp Assoc 1980: 426-33.

Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). Can Vet J 1990; 31: 830-5.

Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears. In: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology Philadelphia: Saunders 2001a: 1203-35.

Scott DW, Miller WH, Griffin CE (2001b) Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. WB Saunders Company, Philadelphia

Selbitz H-J. Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: Medizinische Mikrobiologie,

Infektions- und Seuchenlehre: Mayr, A. 2002:

Sharkey LC, Dial SM, Matz ME. Maximizing the diagnostic value of cytology in small animal practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37: 351-72, vii.

Sharma VD, Rhodes HE. The occurrence and microbiology of otitis externa in the dog. *J Small Anim Pract* 1975; 16: 241-7.

Shelly SM. Cutaneous lesions. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 1-46.

Silverman JF, Frable WJ. The use of the diff-quick stain in the immediate interpretation of fine-needle aspiration biopsies. *Diagn Cytopathol* 1990; 6: 366-9.

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. *Vet Dermatol* 2005a; 16: 385-91.

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

Slappendel RJ. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. *Vet Q* 1988; 10: 1-16.

Slappendel RJ, Teske E. The effect of intravenous or subcutaneous administration of meglumine antimonate (Glucantime) in dogs with leishmaniasis. A randomized clinical trial. *Vet Q* 1997; 19: 10-3.

Smith CA, Rennick DM. Characterization of a murine lymphokine distinct from interleukin 2 and interleukin 3 (IL-3) possessing a T-cell growth factor activity and a mast-cell growth factor activity that synergizes with IL-3. *Proc Natl Acad*

Sci U S A 1986; 83: 1857-61.

Sonoda T, Ohno T, Kitamura Y. Concentration of mast-cell progenitors in bone marrow, spleen, and blood of mice determined by limiting dilution analysis. *J Cell Physiol* 1982; 112: 136-40.

Stahl J, Niedorf F, Kietzmann M. Characterisation of epidermal lipid composition and skin morphology of animal skin ex vivo. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 310-6.

Stanley JR. Pemphigus. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine V. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, eds. New York: McGraw-Hill 1999: 654-65.

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

Streilein JW, Bergstresser PR. Langerhans cells: antigen presenting cells of the epidermis. *Immunobiology* 1984; 168: 285-300.

Sugita T, Takashima M, Shinoda T, Suto H, Unno T, Tsuboi R, Ogawa H, Nishikawa A. New yeast species, *Malassezia dermatis*, isolated from patients with atopic dermatitis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1363-7.

Sugita T, Takashima M, Kodama M, Tsuboi R, Nishikawa A. Description of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and its detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4695-9.

Sugita T, Tajima M, Takashima M, Amaya M, Saito M, Tsuboi R, Nishikawa A. A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from a patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. *Microbiol Immunol* 2004; 48: 579-83.

Tassi P, Ormas P, Madonna M, Carli S, Belloli C, De Natale G, Ceci L, Marcotrigiano GO. Pharmacokinetics of N-methylglucamine antimoniate after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration in the dog. *Res Vet Sci* 1994; 56: 144-50.

Tater KC, Scott DW, Miller WH, Jr., Erb HN. The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003; 50: 370-4.

Thomas PS, Pennington DW, Schreck RE, Levine TM, Lazarus SC. Authentic 17 kDa tumour necrosis factor alpha is synthesized and released by canine mast cells and up-regulated by stem cell factor. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 710-8.

Thompson-Snipes L, Dhar V, Bond MW, Mosmann TR, Moore KW, Rennick DM. Interleukin 10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors. *J Exp Med* 1991; 173: 507-10.

Thrall M. Cytologic examination of cutaneous and subcutaneous lumps and lesions. *Veterinary Medicine* 2000: 224-41.

Tolleson WH. Human melanocyte biology, toxicology, and pathology. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2005; 23: 105-61.

Tom LW. Ototoxicity of common topical antimycotic preparations. *Laryngoscope* 2000; 110: 509-16.

Toma S, Cornegliani L, Persico P, Noli C. Comparison of 4 fixation and staining methods for the cytologic evaluation of ear canals with clinical evidence of ceruminous otitis externa. *Vet Clin Pathol* 2006; 35: 194-8.

Torres SM. Sterile nodular dermatitis in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999; 29: 1311-23.

Tsuji K, Nakahata T, Takagi M, Kobayashi T, Ishiguro A, Kikuchi T, Naganuma K, Koike K, Miyajima A, Arai K, et al. Effects of interleukin-3 and interleukin-4 on the development of "connective tissue-type" mast cells: interleukin-3 supports their survival and interleukin-4 triggers and supports their proliferation synergistically with interleukin-3. *Blood* 1990; 75: 421-7.

Tyler RD, Cowell RL, Meinkoth JH. Cutaneous and subcutaneous lesions: masses, cysts, ulcers and fistulous tracts. In: *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. St. Louis: Mosby 1999: 20-51.

Uchida Y, Mizutani M, Kubo T, Nakade T, Otomo K. Otitis externa induced with *Malassezia pachydermatis* in dogs and the efficacy of pimaricin. *J Vet Med Sci* 1992; 54: 611-4.

Valladares JE, Alberola J, Esteban M, Arboix M. Disposition of antimony after the administration of N-methylglucamine antimoniate to dogs. *Vet Rec* 1996; 138: 181-3.

van der Gaag I. The pathology of the external ear canal in dogs and cats. *Vet Q* 1986; 8: 307-17.

van Duijkeren E. Disease conditions of canine anal sacs. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 12-6.

Vercammen F, Fernandez-Perez FJ, del Amo C, Alunda JM. Follow-up of *Leishmania infantum* naturally infected dogs treated with allopurinol: immunofluorescence antibody test, ELISA and Western blot. *Acta Trop* 2002; 84: 175-81.

Webb AJ, Calhoun ML. The microscopic anatomy of the skin of mongrel dogs. *Am J Vet Res* 1954; 15: 274-80.

Weisbroth SH, Powell MB, Roth L, Scher S. Immunopathology of naturally

occurring otodectic otoacariasis in the domestic cat. *J Am Vet Med Assoc* 1974; 165: 1088-93.

Werner AH, Russell AD. Mupirocin, fusidic acid and bacitracin: activity, action and clinical uses of three topical antibiotics (pages 225–240). *Veterinary Dermatology* 1999; 10: 225-40.

Werner LL, Brown KA, Halliwell RE. Diagnosis of autoimmune skin disease in the dog: correlation between histopathologic, direct immunofluorescent and clinical findings. *Vet Immunol Immunopathol* 1983; 5: 47-64.

White SD, Rosychuk RA, Stewart LJ, Cape L, Hughes BJ. Juvenile cellulitis in dogs: 15 cases (1979-1988). *J Am Vet Med Assoc* 1989; 195: 1609-11.

White SD, Carlotti DN, Pin D, Bonenberger T, Ihrke PJ, Monet E, Nishifuji K, Iwasaki T, Papich MG. Putative drug-related pemphigus foliaceus in four dogs. *Vet Dermatol* 2002; 13: 195-202.

Wilcke JR. Otopharmacology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988; 18: 783-97.

Wilson JF (1985) A practitioner's approach to complete ear canal. In: *Dermatol Reports*. 1-8

Wittekind DH. On the nature of Romanowsky--Giemsa staining and its significance for cytochemistry and histochemistry: an overall view. *Histochem J* 1983; 15: 1029-47.

Woody BJ, Fox SM. Laying the groundwork for disease management. *Vet Med* 1986: 607-14.

Wright CG, Meyerhoff WL, Halama AR. Ototoxicity of neomycin and polymyxin B following middle ear application in the chinchilla and baboon. *Am J Otol* 1987;

8: 495-9.

Yager C. The skin as an immune organ. *Adv vet Dermatology* 1992; 2: 3-31.

Yager JA (2009) How to take a biopsy 23rd Annual Congress of the ESVD-ECVD on Veterinary Dermatology Bled, Slovenia. 179-81

Yamagishi C, Momoi Y, Kobayashi T, Ide K, Ohno K, Tsujimoto H, Iwasaki T. A retrospective study and gene analysis of canine sterile panniculitis. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 915-24.

Yang GC, Alvarez, II. Ultrafast Papanicolaou stain. An alternative preparation for fine needle aspiration cytology. *Acta Cytol* 1995; 39: 55-60.

Yurayart C, Chindamporn A, Suradhat S, Tummaruk P, Kajiwara S, Prapasarakul N. Comparative analysis of the frequency, distribution and population sizes of yeasts associated with canine seborrheic dermatitis and healthy skin. *Vet Microbiol* 2010;

Zamankhan Malayeri H, Jamshidi S, Zahraei Salehi T. Identification and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria causing otitis externa in dogs. *Vet Res Commun* 2010; 34: 435-44.

Zenisek A, Kral JA, Hais IM. Sun-screening effect of urocanic acid. *Biochim Biophys Acta* 1955; 18: 589-91.

Zucker-Franklin D, Grusky G, Hirayama N, Schnipper E. The presence of mast cell precursors in rat peripheral blood. *Blood* 1981; 58: 544-51.

IX. ANHANG

1. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 2: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 3: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 4: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 5: Durchschnittliche Übereinstimmungen (in Prozent) der einzelnen Personen für die Beurteilung der Präparate pro Kategorie (1 - 29 = erfahrene Gruppe, 30 - 60 = unerfahrene Gruppe, *Personen, die weniger als zehn Präparate beurteilten; K = Kokken, S = Stäbchen, Mal = Malassezien, N = neutrophile Granulozyten, E = eosinophile Granulozyten, M = Makrophagen)

Person	K	S	Mal	N	E	M
1	40 %	50 %	90 %	60 %	90 %	90 %
2	100 %	100 %	90 %	100 %	100 %	100 %
3	90 %	90 %	90 %	90 %	100 %	100 %
4	70 %	100 %	100 %	100 %	100 %	70 %
5	40 %	90 %	80 %	60 %	100 %	80 %
6	80 %	100 %	90 %	100 %	100 %	90 %
7	60 %	100 %	100 %	80 %	90 %	80 %

8	90 %	90 %	80 %	90 %	100 %	80 %
9	90 %	100 %	100 %	90 %	90 %	80 %
10	80 %	100 %	100 %	90 %	90 %	80 %
11	90 %	40 %	50 %	70 %	90 %	30 %
12	90 %	100 %	90 %	90 %	100 %	90 %
13	100 %*	88,9 %*	100 %*	100 %*	100 %*	100 %*
14	70 %	70 %	80 %	70 %	90 %	80 %
15	90 %	90 %	80 %	60 %	90 %	100 %
16	70 %	90 %	90 %	100 %	100 %	100 %
17	70 %	90 %	70 %	100 %	90 %	90 %
18	90 %	100 %	90 %	90 %	100 %	70 %
19	40 %	70 %	70 %	80 %	90 %	40 %
21	90 %	100 %	90 %	90 %	90 %	80 %
25	50 %	60 %	80 %	40 %*	50 %*	100 %*
26	66,7%*	100 %*	100 %*	77,8 %*	100 %*	88,9 %*
27	80 %	80 %	90 %	50 %	100 %	60 %
28	100 %*	80 %*	80 %*	80 %*	80 %*	80 %*
29	75 %*	100 %	75 %*	100 %*	100 %*	50 %*
33	100 %	80 %	90 %	80 %	90 %	80 %
34	90 %	90 %	80 %	90 %	100 %	70 %
35	80 %	90 %	80 %	70 %	100 %	70 %
36	70 %	50 %	70 %	40 %	90 %	80 %
37	80 %*	80 %*	60 %*	66,7 %*	100 %*	100 %*
45	77,8%*	88,9 %*	77,8 %*	77,8 %*	88,9 %*	55,6 %*

47	80 %	90 %	60 %	70 %	80 %	70 %
48	80 %	70 %	60 %	80 %	80 %	90 %
50	90 %	90 %	80 %	90 %	100 %	90 %
51	70 %	100 %	60 %	90 %	90 %	60 %
52	70 %	90 %	90 %	60 %	90 %	90 %
53	77,8%*	100 %*	77,8 %*	66,7 %*	77,8 %*	88,9 %*
55	90 %	80 %	80 %	80 %	80 %	100 %
56	70 %	100 %	100 %	80 %	90 %	80 %
57	100%	100 %	100 %	80 %	100 %	90 %
58	77,8%*	100 %*	77,8 %*	88,9 %*	100 %*	77,8 %*
59	50 %	100 %	60 %	80 %	90 %	80 %
60	80 %	90 %	80 %	100 %	100 %	90 %

Tabelle 6: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 7: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 8: Durchschnittliche Übereinstimmungen (in Prozent) der einzelnen Personen für die Beurteilung der Präparate pro Kategorie (1 - 29 = erfahrene Gruppe, 30 - 60 = unerfahrene Gruppe, *Personen, die weniger als zehn Präparate beurteilten; K = Kokken, S = Stäbchen, Mal = Malassezien, N = neutrophile Granulozyten, E = eosinophile Granulozyten, M = Makrophagen)

Person	K	S	Mal	N	E	M
1	94,4 %	94,4 %	94,4 %	100 %	94,4 %	94,4 %
2	94,4 %	88,9 %	100 %	94,4 %	100 %	100 %

3	72,2 %	83,3 %	100 %	88,9 %	100 %	88,9 %
4	88,9 %	94,4 %	100 %	100 %	94,4 %	100 %
5	72,2 %	88,9 %	94,4 %	94,4 %	100 %	94,4 %
6	88,9 %	88,9 %	100 %	88,9 %	94,4 %	94,4 %
7	83,3 %	88,9 %	100 %	100 %	100 %	94,4 %
8	83,3 %	94,4 %	94,4 %	94,4 %	100 %	88,9 %
9	100 %	94,4 %	100 %	88,9 %	100 %	100 %
10	94,4 %	94,4 %	100 %	83,3 %	94,4 %	100 %
11	50 %	83,3 %	83,3 %	100 %	100 %	88,9 %
12	100 %	100 %	94,4 %	100 %	100 %	100 %
13	77,8 %	83,3 %	83,3 %	94,4 %	94,4 %	83,3 %
14	83,3 %	94,4 %	100 %	94,4 %	100 %	100 %
15	100 %	94,4 %	100 %	94,4 %	94,4 %	88,9 %
16	94,4 %	88,9 %	100 %	100 %	100 %	100 %
17	88,9 %	88,9 %	88,9 %	88,9 %	100 %	94,4 %
18	100 %	100 %	94,4 %	94,4 %	100 %	94,4 %
19	66,7 %	83,3 %	66,7 %	87,5 %*	87,5 %*	94,1 %*
21	72,2 %	88,9 %	88,9 %	94,4 %	94,4 %	88,9 %
25	77,8 %	83,3 %	83,3 %	66,7 %	83,3 %	83,3 %
26	94,4 %	94,4 %	100 %	94,4 %	94,4 %	88,9 %
27	77,8 %	77,8 %	94,4 %	88,9 %	100 %	88,9 %
28	94,4 %	100 %	100 %	83,3 %	88,9 %	100 %
29	88,9 %	100 %	94,1 %*	93,8 %*	100 %*	100 %*
30	94,4 %	88,9 %	100 %	94,4 %	100 %	100 %

32	94,4 %	100 %	100 %	83,3 %	94,4 %	94,4 %
33	88,9 %	83,3 %	100 %	83,3 %	94,4 %	94,4 %
34	83,3 %	100 %	94,4 %	94,4 %	100 %	94,4 %
35	94,4 %	88,9 %	100 %	83,3 %	94,4 %	94,4 %
36	94,4 %	88,9 %	100 %	88,9 %	88,9 %	88,9 %
37	72,2 %	88,9 %	72,2 %	75 %*	100 %*	100 %*
45	66,7 %	88,9 %	83,3 %	94,4 %	88,9 %	88,9 %
47	88,9 %	94,4 %	83,3 %	100 %	94,4 %	88,9 %
48	88,9 %	100 %	88,9 %	100 %	100 %	77,8 %
50	94,4 %	94,4 %	100 %	100 %	83,3 %	94,4 %
51	88,9 %	100 %	94,4 %	94,4 %	94,4 %	94,4 %
52	100 %	94,4 %	100 %	100 %	100 %	100 %
53	88,9 %	88,9 %	88,9 %	100 %	94,4 %	88,9 %
55	88,9 %	100 %	100 %	88,9 %	77,8 %	88,9 %
58	88,9 %	100 %	88,9 %	100 %	100 %	88,9 %
59	88,9 %	88,9 %	94,4 %	100 %	100 %	88,9 %
60	66,7 %	94,4 %	83,3 %	88,9 %	94,4 %	83,3 %

Tabelle 9: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 10: Durchschnittliche individuelle Reproduzierbarkeit der Bewertungen und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) der einzelnen Kategorien der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 11: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 12: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Präparate und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 13: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 14: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen der einzelnen Fotografien und die durchschnittlichen Standardabweichungen (in Prozent) in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 15: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 16: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Präparate in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 17: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der erfahrenen Gruppe

Tabelle 18: Durchschnittliche Inter-Untersucher-Reproduzierbarkeit der Bewertungen einzelner Kategorien und durchschnittliche Standardabweichungen (in Prozent) der Fotografien in der unerfahrenen Gruppe

Tabelle 19: Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

Tabelle 20: Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

Tabelle 21: Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

Tabelle 22: Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

Tabelle 23: Durchschnittliche Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

Tabelle 24: Durchschnittliche Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Präparate

Tabelle 25: Durchschnittliche Ergebnisse der erfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

Tabelle 26: Durchschnittliche Ergebnisse der unerfahrenen Gruppe für die Beurteilung der Fotografien

2. Abbildungsverzeichnis

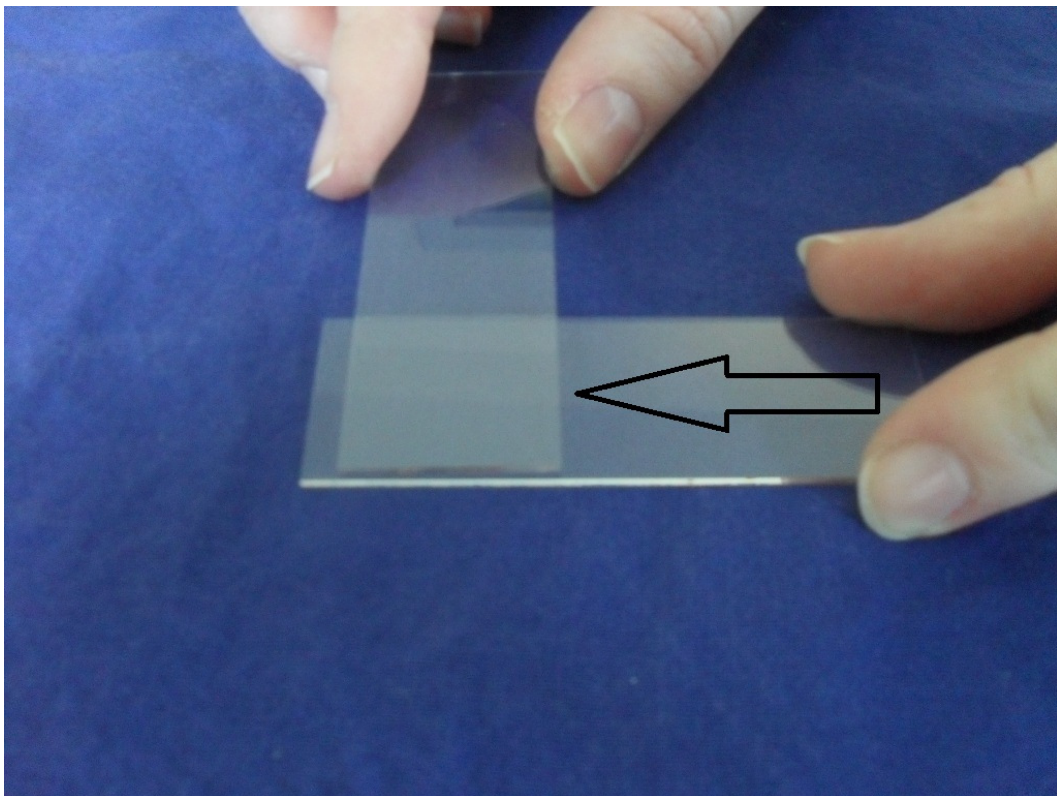


Abbildung 1: Ausstrichmethode „Slide over Slide“ für festeres Material

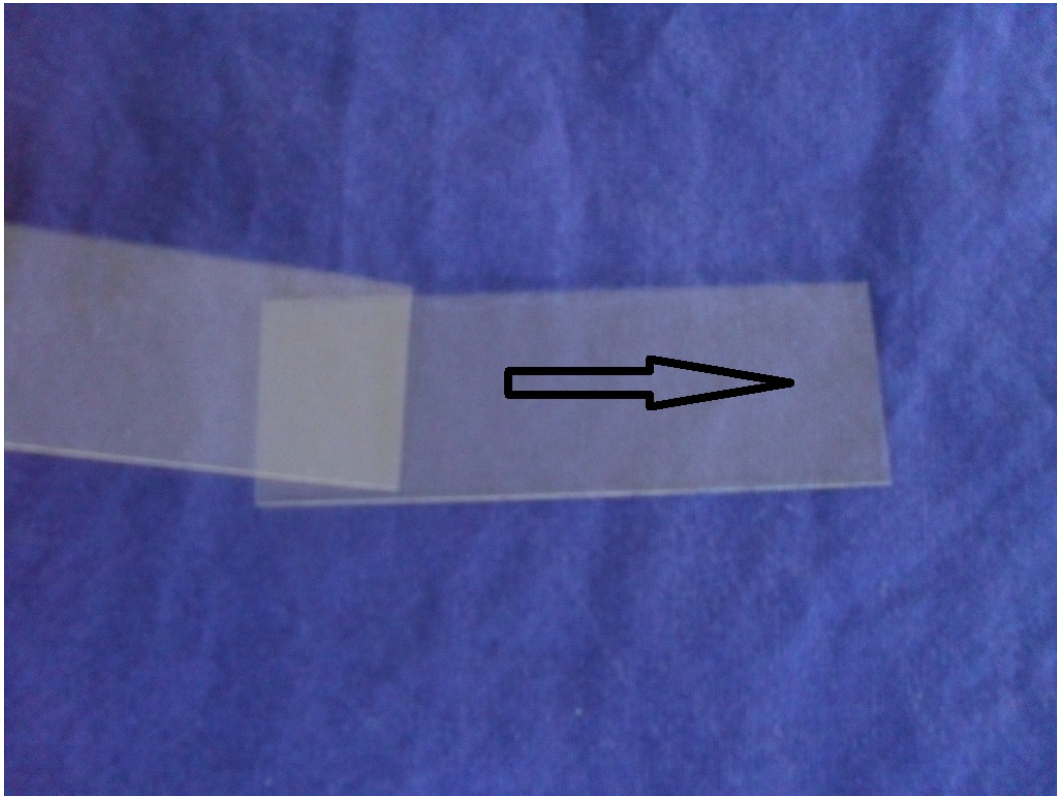


Abbildung 2: Ausstrichmethode für flüssigeres Material

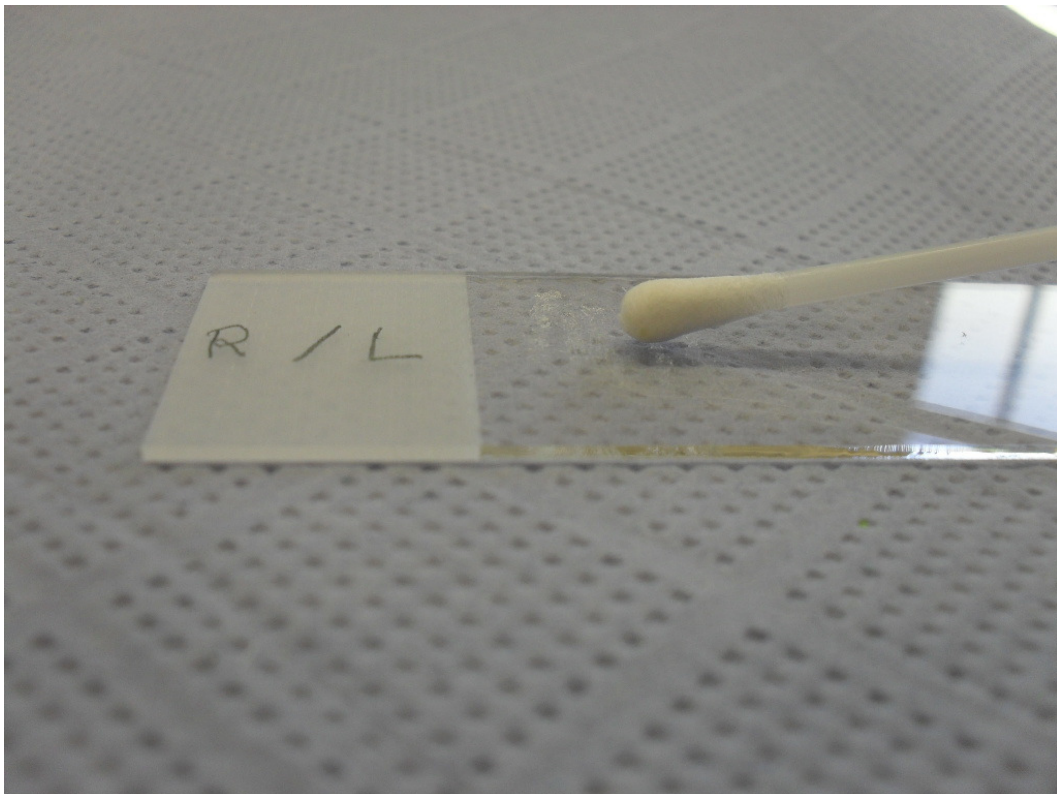


Abbildung 3: Ausstrich einer Ohrtupferprobe auf einen Objektträger

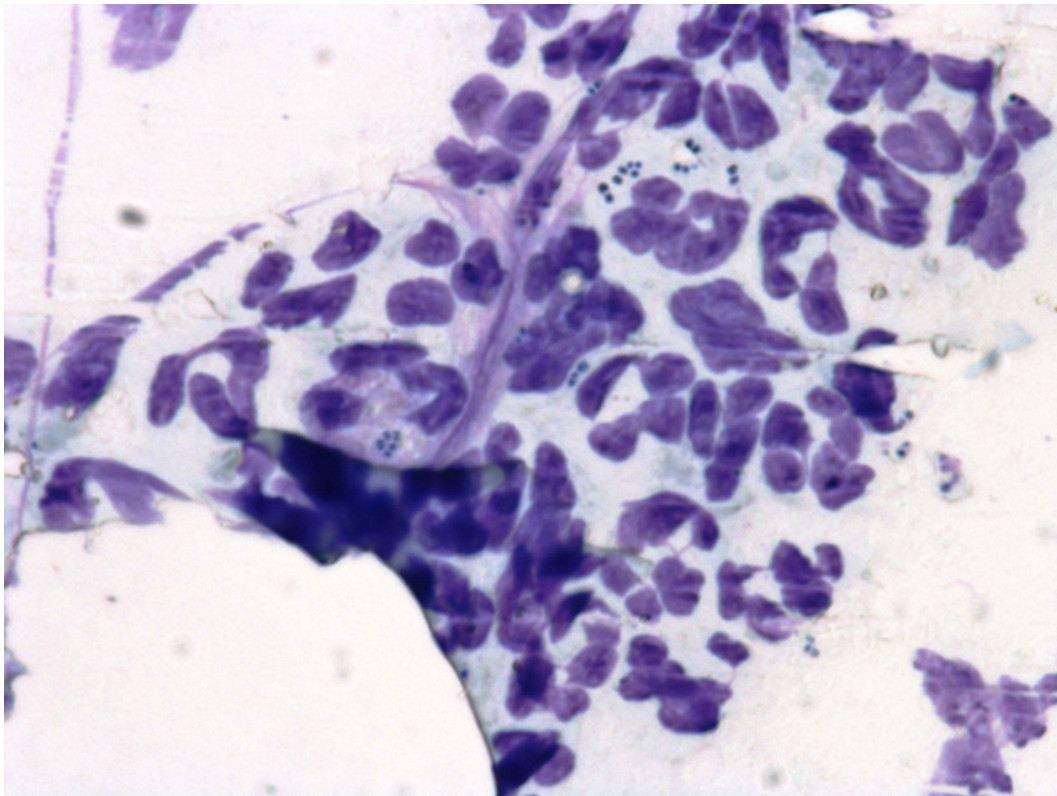


Abbildung 4: Foto Nr. 1 (neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

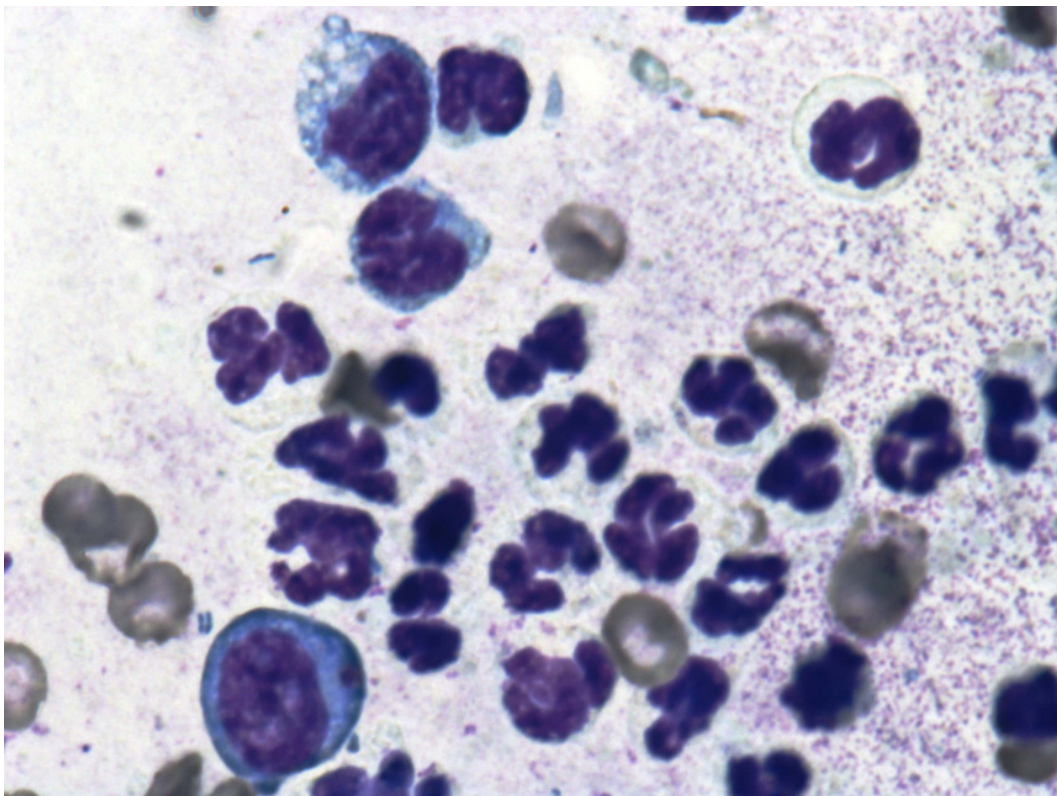


Abbildung 5: Foto Nr. 2 (neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Erythrozyten (1000fache Vergrößerung))

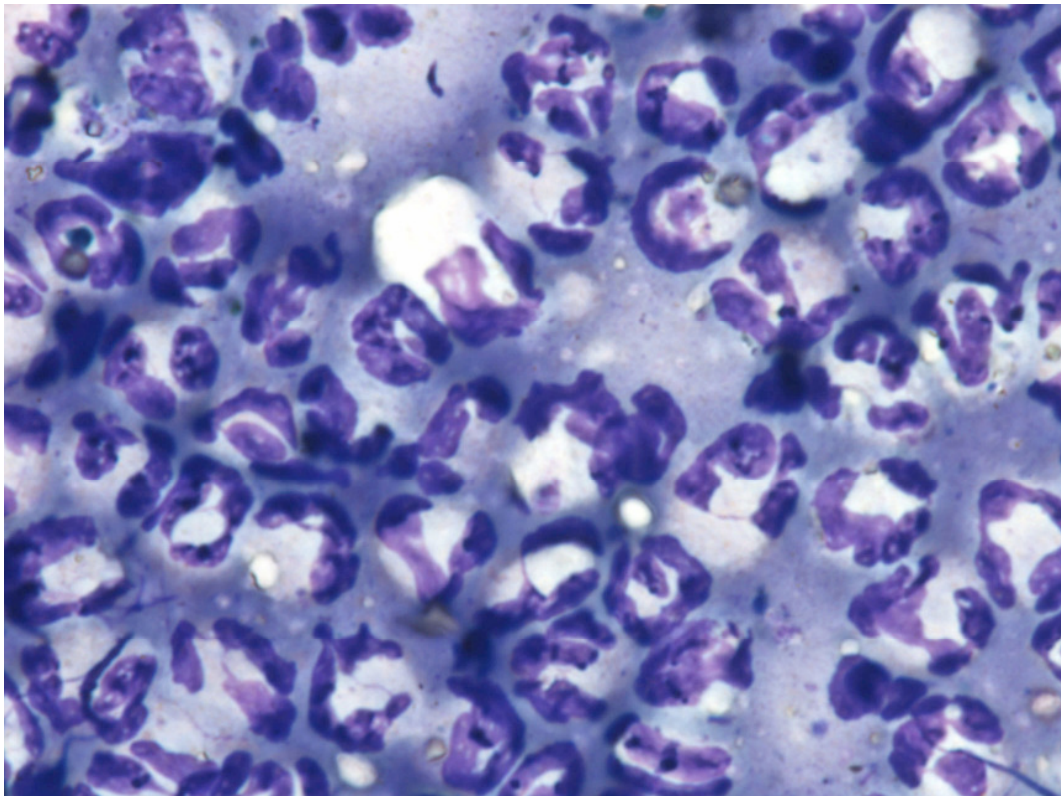


Abbildung 6: Foto Nr. 3 (neutrophile Granulozyten (1000fache Vergrößerung))

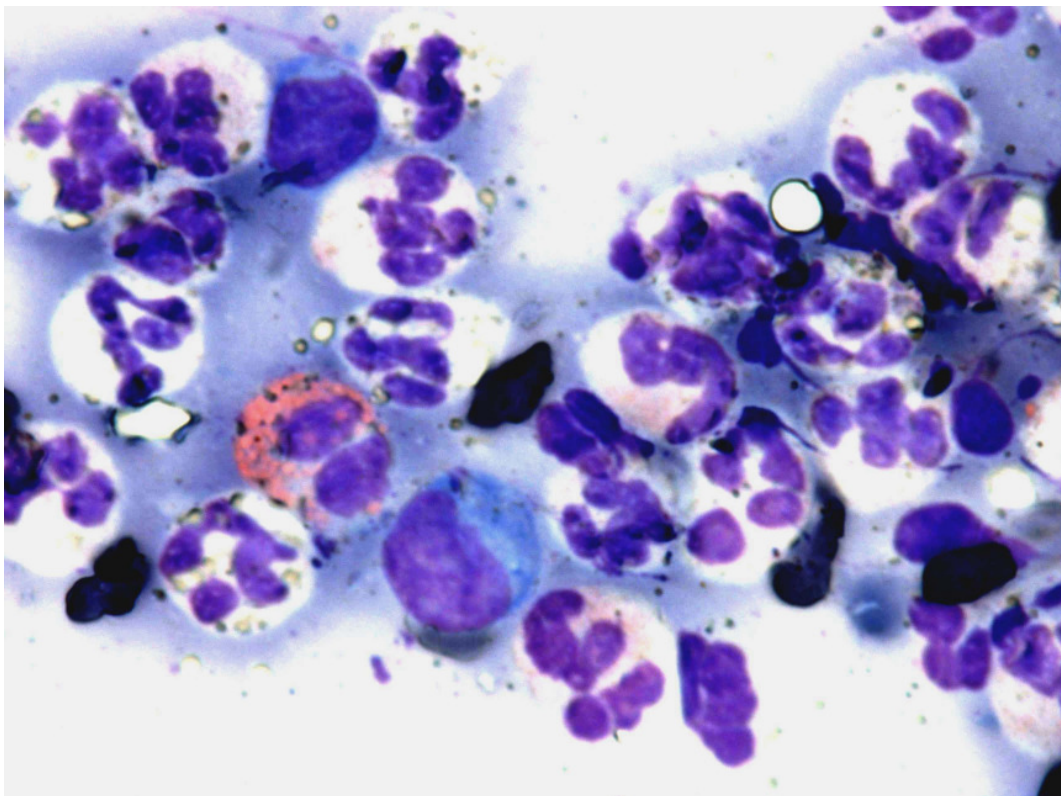


Abbildung 7: Foto Nr. 4 (neutrophile und eosinophile Granulozyten, Makrophagen (1000fache Vergrößerung))

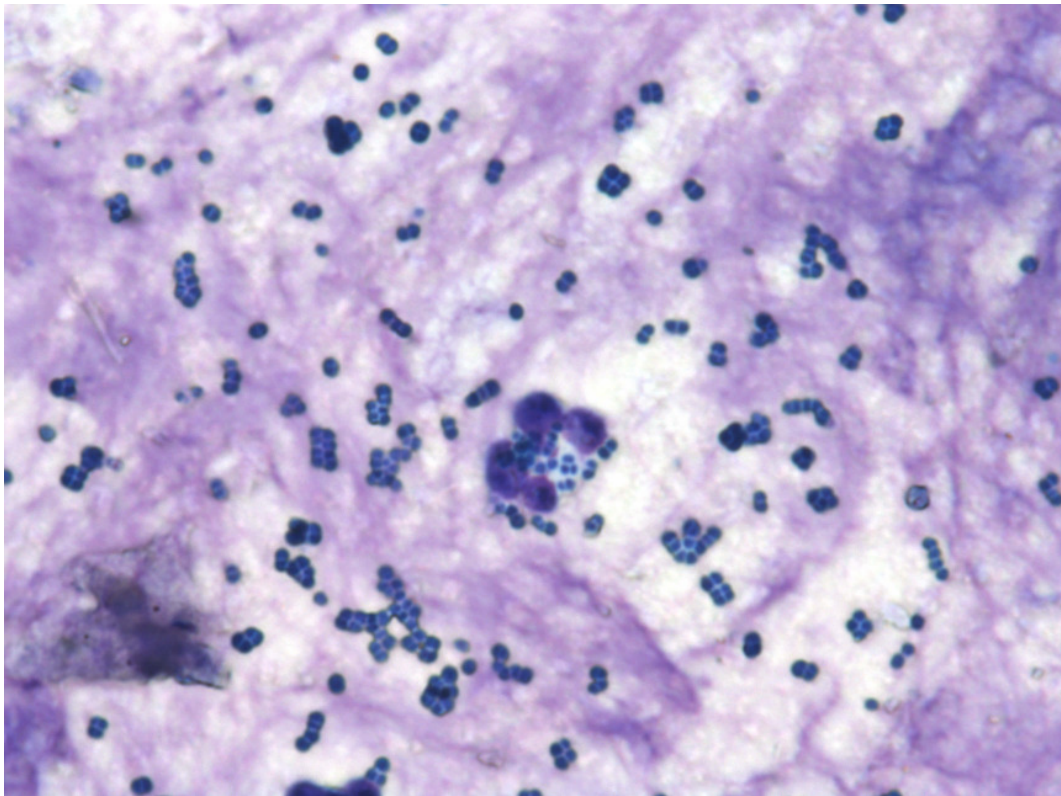


Abbildung 8: Foto Nr. 5 (neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

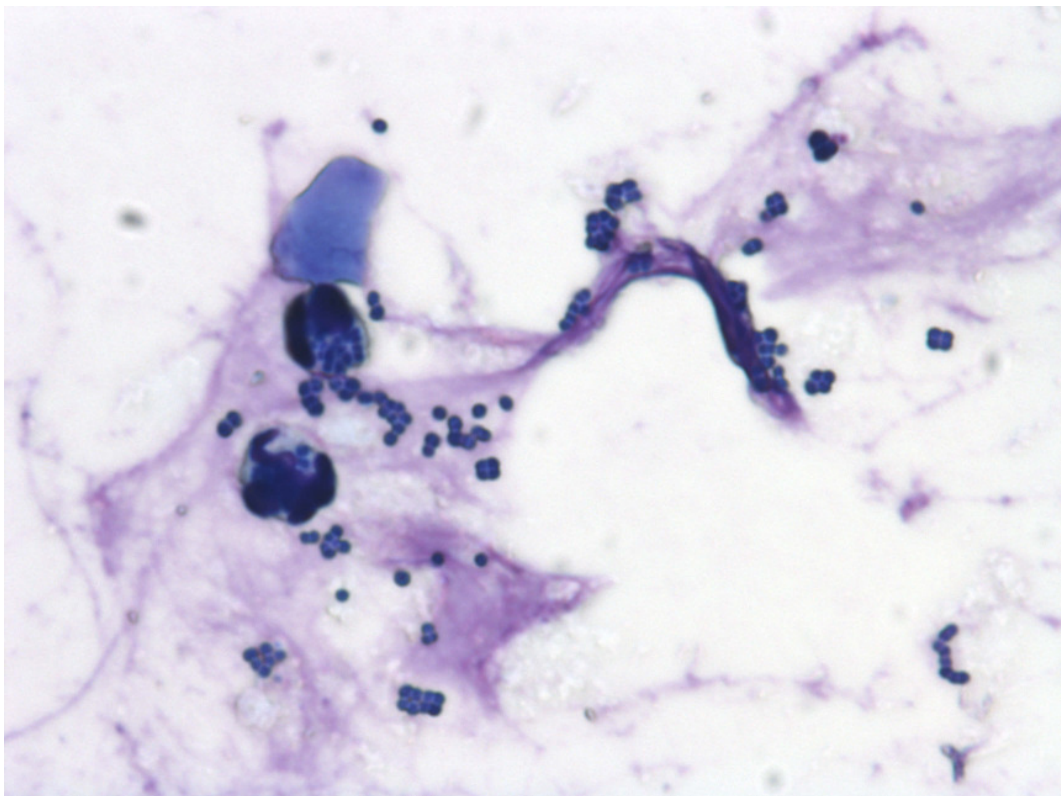


Abbildung 9: Foto Nr. 6 (neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

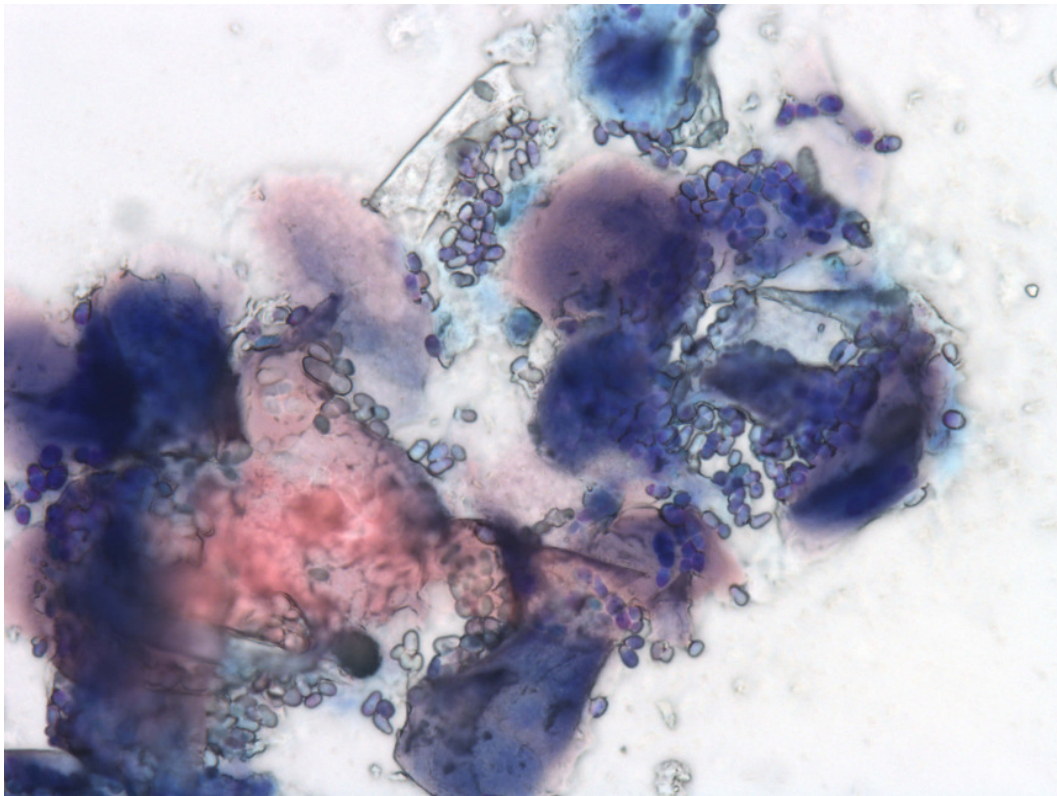


Abbildung 10: Foto Nr. 7 (Malassezien, Kerneozyten (400fache Vergrößerung))

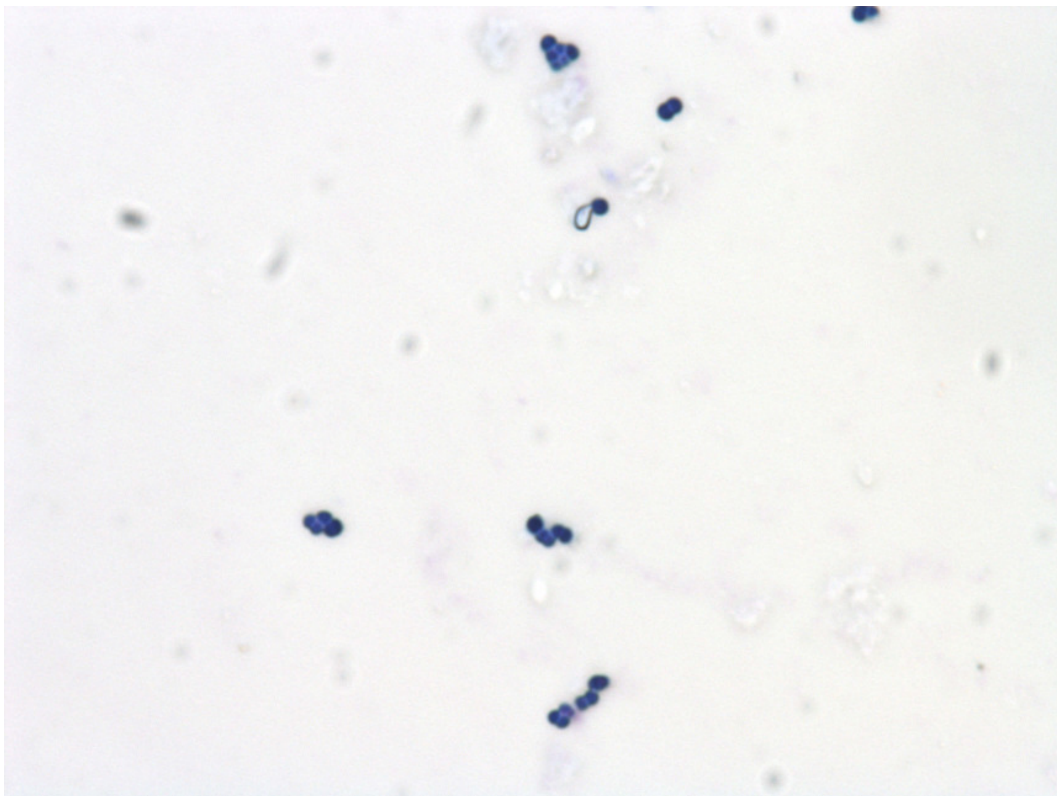


Abbildung 11: Foto Nr. 8 (Kokken (1000fache Vergrößerung))

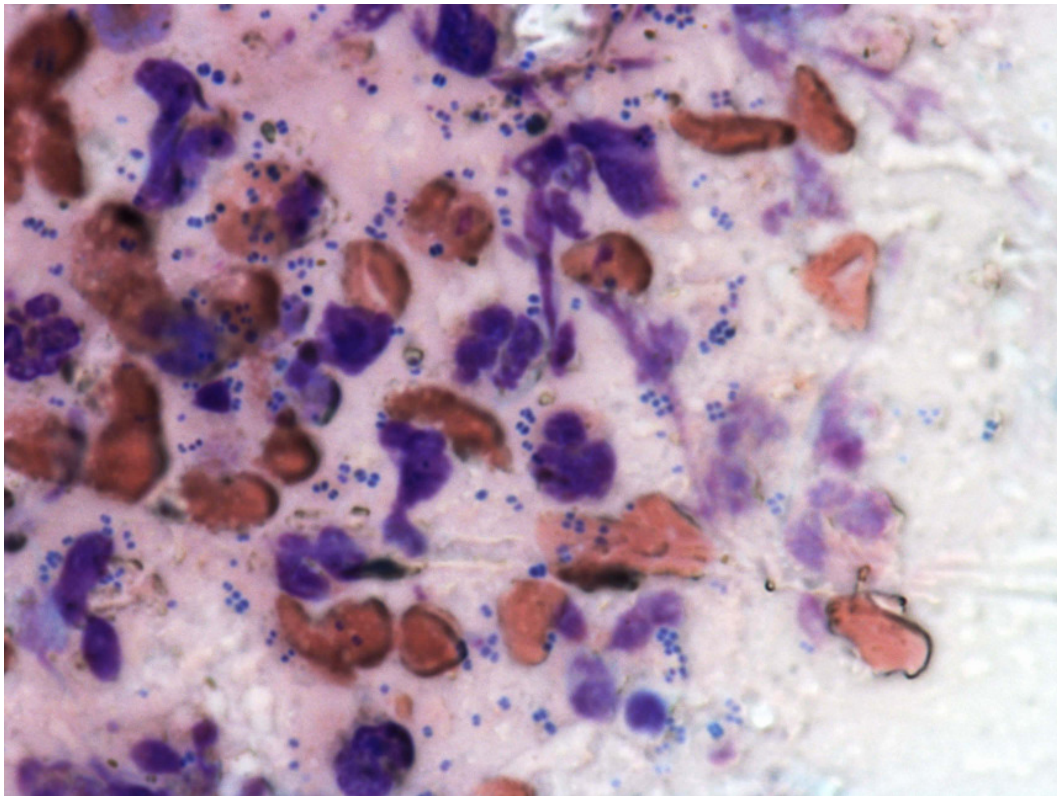


Abbildung 12: Foto Nr. 9 (Neutrophile Granulozyten, Kokken, Erythrozyten (1000fache Vergrößerung))

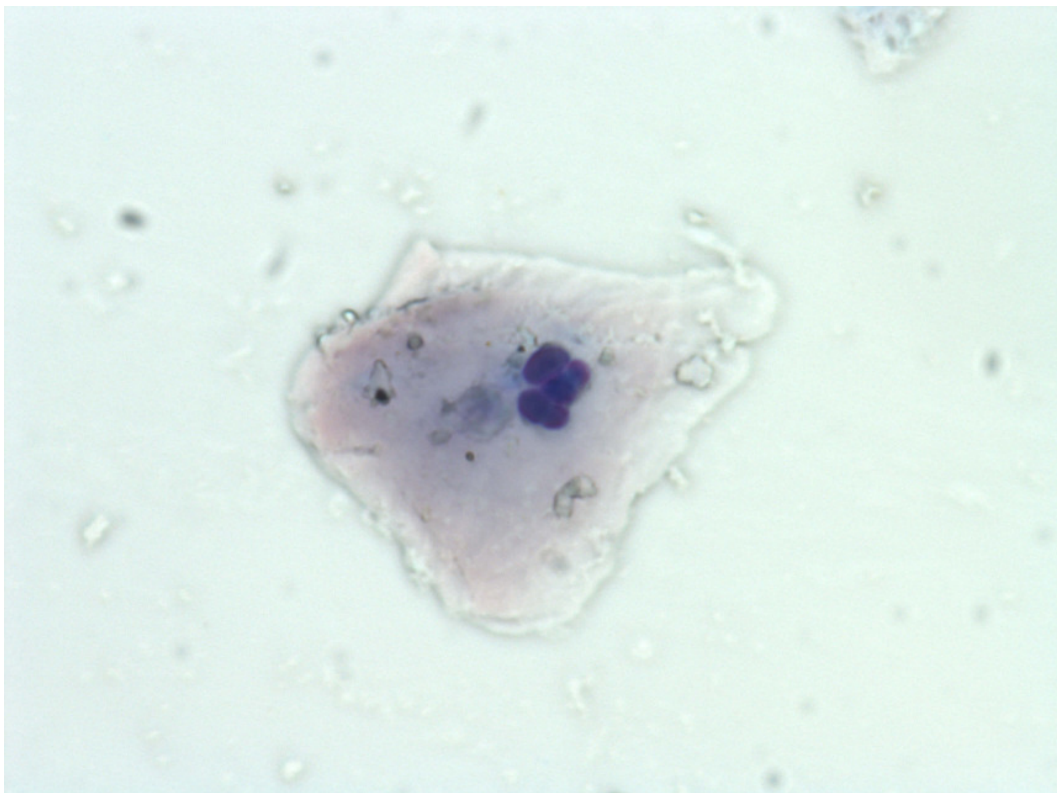


Abbildung 13: Foto Nr. 10 (Malassezien, Kerneozyt (1000fache Vergrößerung))

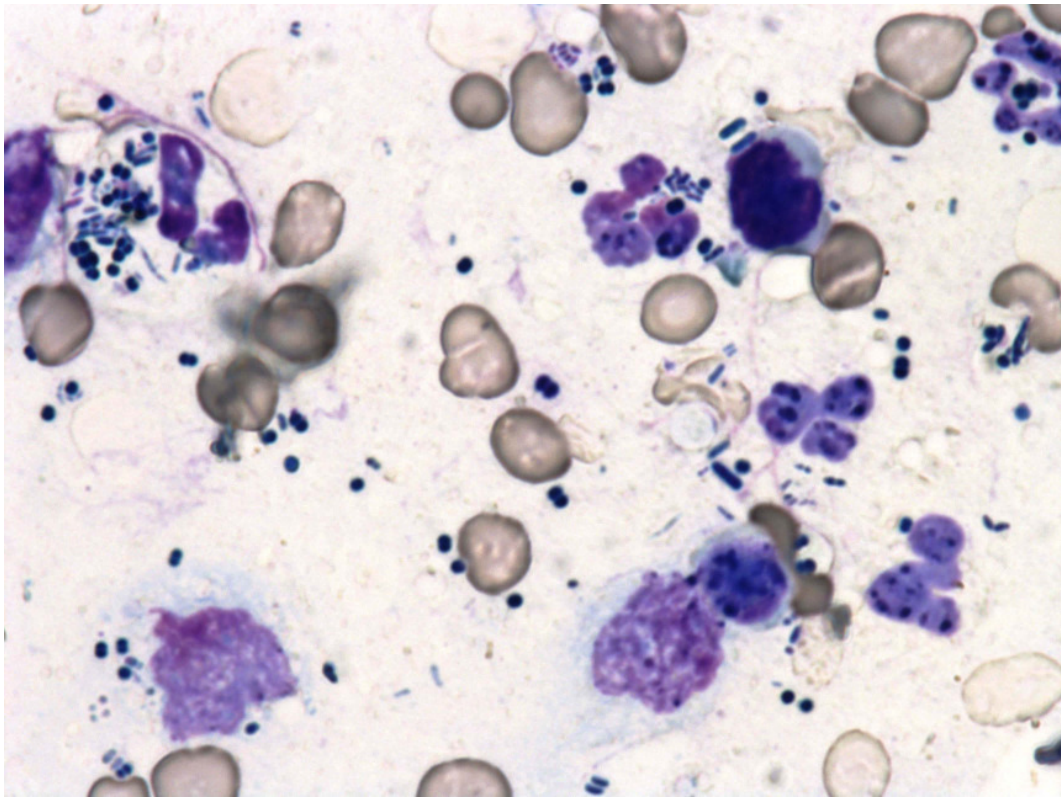


Abbildung 14: Foto Nr. 11 (Neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Erythrozyten, Kokken und Stäbchen (1000fache Vergrößerung))

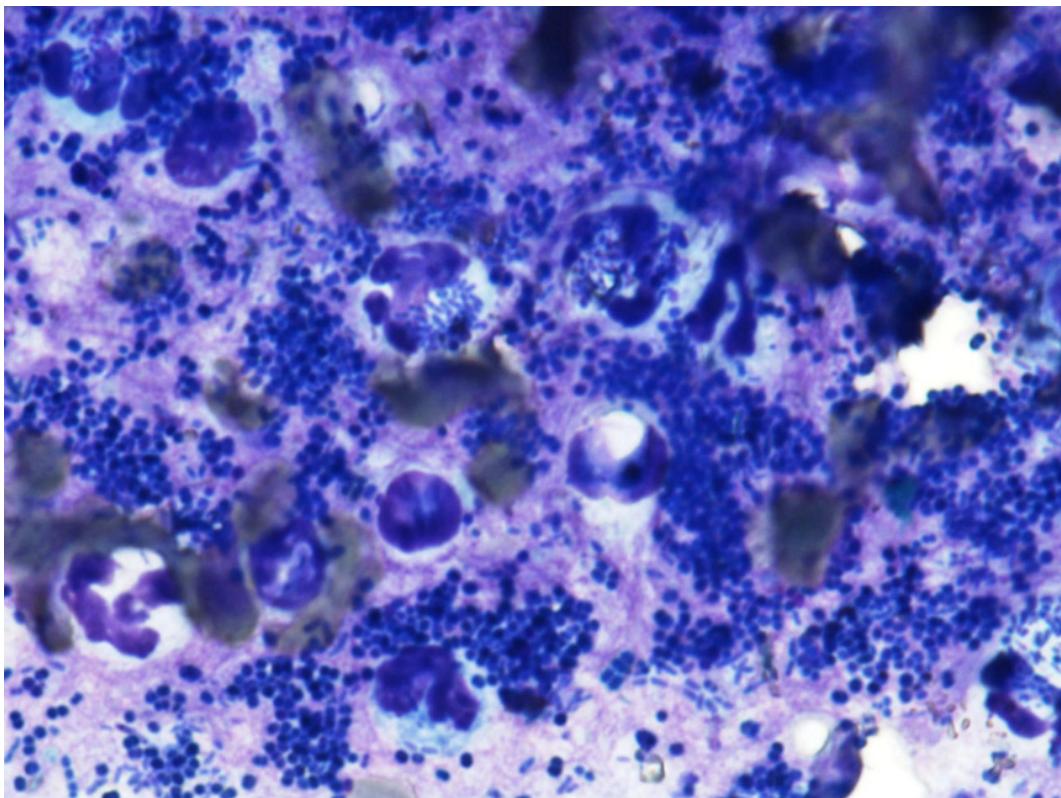


Abbildung 15: Foto Nr. 12 (Neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Kokken und Stäbchen (1000fache Vergrößerung))

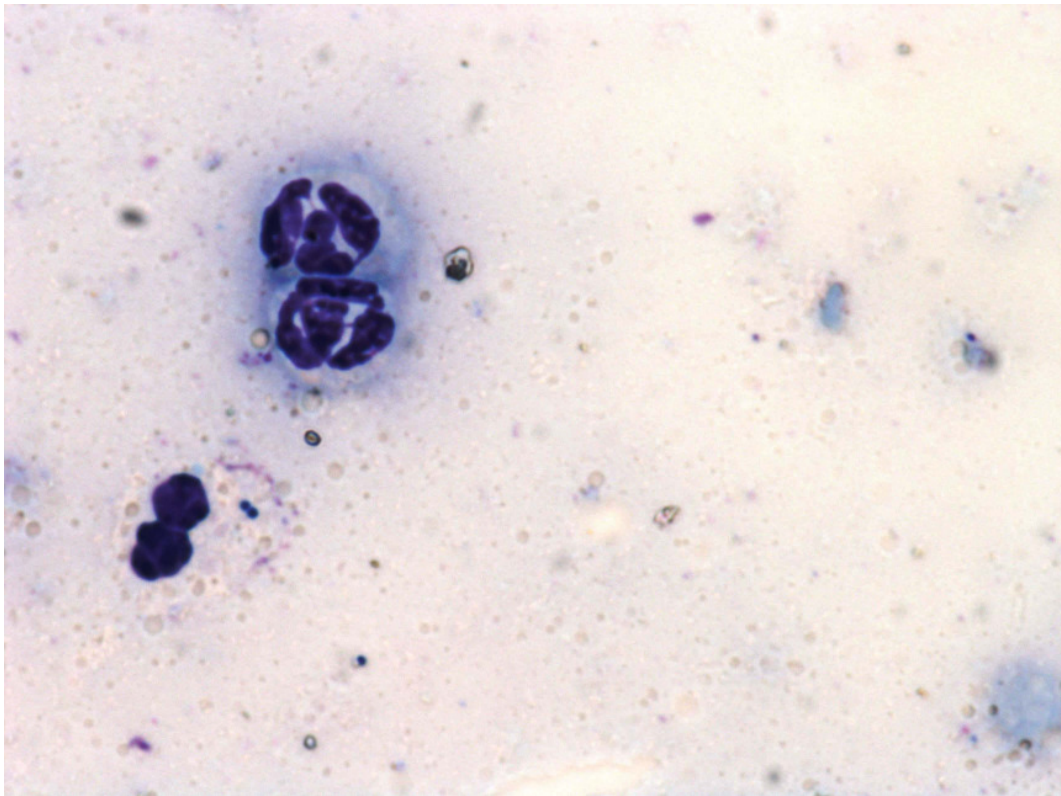


Abbildung 16: Foto Nr. 13 (Neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

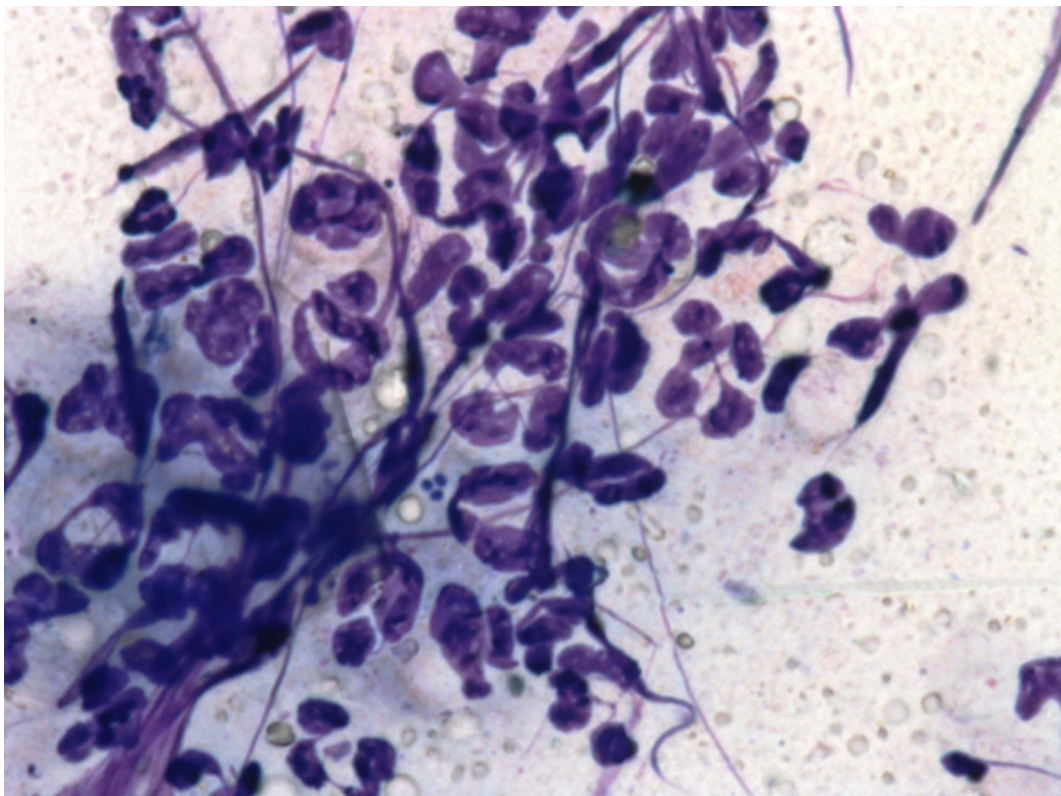


Abbildung 17: Foto Nr. 14 (Neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

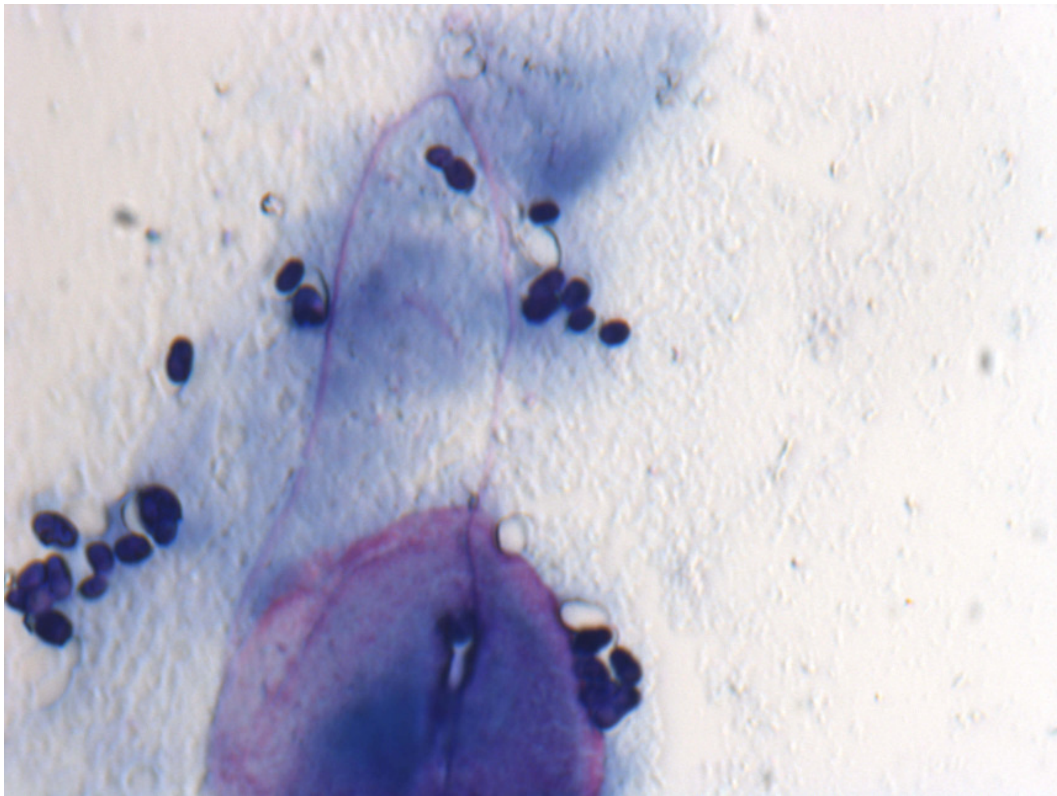


Abbildung 18: Foto Nr. 15 (Malassezien, Kerneozyt (1000fache Vergrößerung))

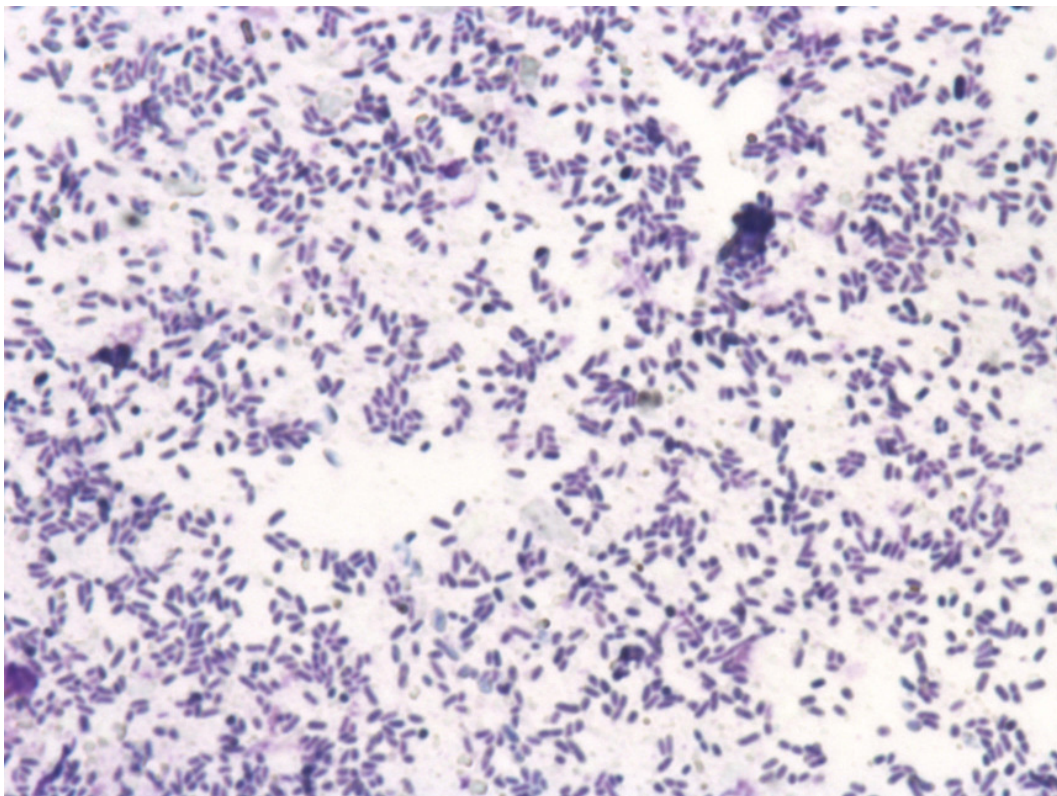


Abbildung 19: Foto Nr. 16 (Stäbchen (1000fache Vergrößerung))



Abbildung 20: Foto Nr. 17 (Malassezien, Kerneozyten (1000fache Vergrößerung))

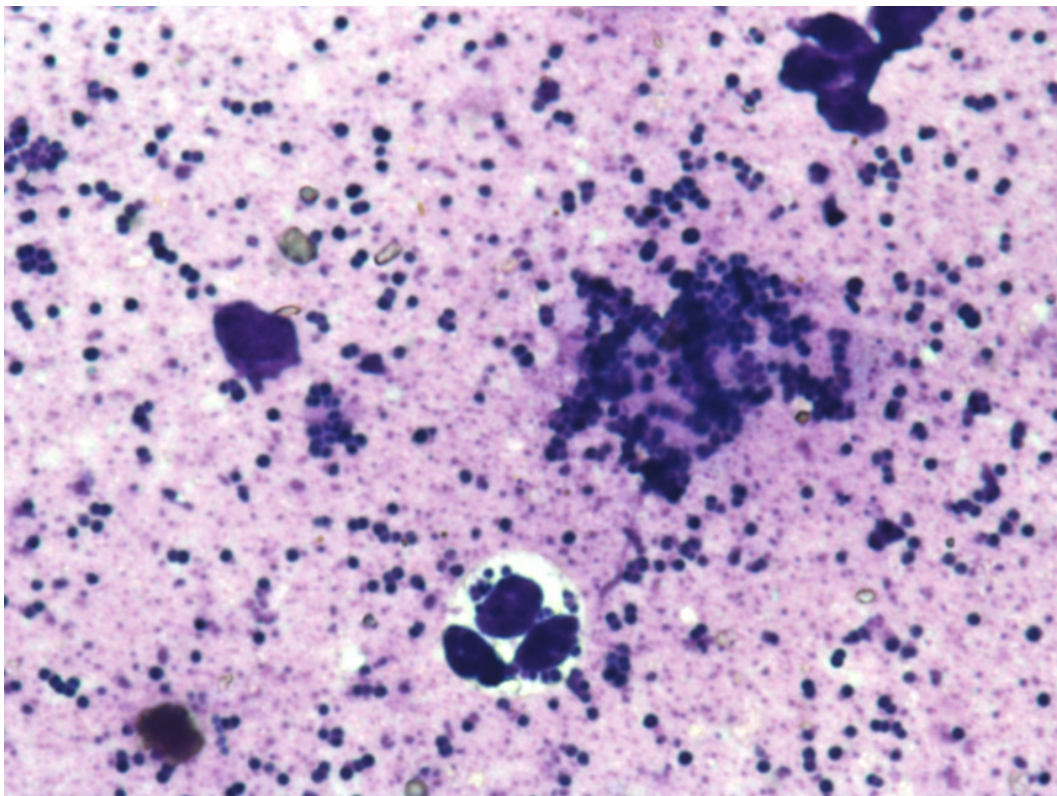


Abbildung 21: Foto Nr. 18 (Neutrophile Granulozyten, Kokken (1000fache Vergrößerung))

3. Formblatt zur Dokumentation der Ergebnisse

Mikroskopische Beurteilung

Durchgang 1

Name:

Praxis/Klinik:

Zusatzbezeichnungen/Qualifikationen:

Datum:

Uhrzeit:

Wieviele zytologische Präparate werden wöchentlich ausgewertet?

0-2

3-10

> 10

Die Beurteilung erfolgt in **4 Stufen**:

„-“ = negativ, keine Bakterien/Hefen/Zellen vorhanden

„+“ = gelegentliche Bakterien/Hefen/Zellen vorhanden, allerdings muss das Präparat durchgemustert werden

„++“ = Bakterien/Hefen/Zellen in geringer Zahl vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

„+++“ = Bakterien/Hefen/Zellen in größerer Zahl vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

„++++“ = Bakterien/Hefen/Zellen massenhaft vorhanden und ohne Schwierigkeiten oder Zeitaufwand feststellbar

Präparatnummer	Bakterien (Kokken) notieren, ob auch intrazellulär (IZ)	Bakterien (Stäbchen) notieren, ob auch intrazellulär (IZ)	Malassezien	Entzündungszellen (Neutros = N, Eos = E, Makro = M)
17				
24				
99				
48				
4				
41				
62				
70				
12				
2				

X. DANKSAGUNG

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Ralf Müller für die Überlassung dieses Themas und für seine uneingeschränkte Unterstützung während der gesamten Zeit der Anfertigung dieser Arbeit. Seine stets freundliche, aufgeschlossene und motivierende Art der Betreuung und dem herzlichen Umgang mit allen Mitarbeitern ist sehr bemerkenswert und nicht selbstverständlich. Unter seiner Leitung arbeiten und lernen zu dürfen war eine ganz besondere Erfahrung, die ich nicht missen möchte.

Bei Prof. Dr. Katrin Hartmann möchte ich mich bedanken, dass ich nach meiner Famulatur im Jahre 2005 nun auch meine Dissertation an ihrer Klinik erstellen durfte.

Mein ausdrücklicher Dank gilt allen beteiligten Tierärzten und Studenten, die sich mit viel Mühe und Zeit bereit erklärten, an meiner Studie teilzunehmen und alle Präparate und Fotografien geduldig beurteilten. Die Durchführung dieser Studie wäre ohne sie nicht möglich gewesen.

Einen herzlichen Dank möchte ich an die Organisatoren des DGVD Kongresses 2010 in Bad Honnef richten, die mir ermöglichten, weitere Teilnehmer für meine Studie zu gewinnen. Es war mir eine große Hilfe.

Ich möchte mich bei allen Mitarbeitern der Medizinischen Kleintierklinik für eine sehr schöne Zeit bedanken. Der größte Dank gilt hierbei selbstverständlich allen Mitarbeitern der Abteilung für Dermatologie. Die Zusammenarbeit hat unglaublich viel Spass gemacht, und ich habe viele tolle Freunde gewonnen. Britta Schnabl, Ana Rostaher und Cornelia Johansen danke ich für die Beantwortung vieler, vieler Fragen und insbesondere für die tolle Unterstützung in schwierigeren Zeiten, in denen sie mir stets zur Seite standen. Amelie von Voigts-Rhetz danke ich sehr für ihre wunderbare Unterstützung bei der klinischen Tätigkeit und unseren Studien und für ihre aufmunternden Worte. Ihr Zuspruch hat mir immer sehr geholfen. Für die schöne Zusammenarbeit möchte ich mich auch bei Michaela Blaskovic, Petra Litzlbauer und Juliane Schilling und für die gute Einarbeitung bei Lisa Specht und Sandra Tretter bedanken. Lisa Specht danke ich insbesondere für das bereitwillige Korrekturlesen meiner Arbeit. Meinen direkten Mitstreiterinnen Simone Bethlehem, Paz Schamber, Kathrin

Hatzmann, Isabell Kloos und Claudia Horstmann möchte ich sehr dafür danken, dass ich mit ihnen Teil eines ganz besonderen Teams sein durfte, und somit die Zeit der Doktorarbeit unvergesslich war. Ich bin sehr dankbar für die wunderbaren Freundschaften, die daraus entstanden sind.

Mein größter Dank gilt meiner Familie und meinem Partner Heiko Rödel, der mir während der gesamten Zeit der Anfertigung dieser Arbeit zur Seite stand, mich unterstützte und mir den Rücken stärkte. Insbesondere möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken. Ohne Euch und Eure bedingungslose, liebevolle und finanzielle Unterstützung wäre nichts von dem möglich gewesen, was ich bisher im Leben erreicht habe. Ich werde Euch ewig dankbar sein und weiß die Unterstützung sehr zu schätzen. Meiner Tante Beate Budach und meinem Onkel Urs Kluyver danke ich für das schnelle Korrekturlesen meiner Arbeit.

Ein besonderes Ereignis, das ich mit der Abgabe dieser Arbeit verbinde, ist die Geburt meines Neffen Ben. Ich wünsche ihm und seinen Eltern von Herzen alles Gute. Meinem Bruder Jens Budach danke ich herzlichst für die unermüdliche Unterstützung bei allen technischen Fragen.