

Auftreten chronischer gastrointestinaler Symptome
nach akutem hämorrhagischem Durchfall beim Hund

von Elisabeth Skotnitzki

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

Auftreten chronischer gastrointestinaler Symptome
nach akutem hämorrhagischem Durchfall beim Hund

von Elisabeth Skotnitzki
aus Karlsruhe
München 2023

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

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Stefan Unterer

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Stefan Unterer

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Cornelia A. Deeg

Tag der Promotion: 22. Juli 2023

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Futtermittelallergie und -intoleranz	3
1.1. Definition	3
1.2. Epidemiologie	4
1.3. Pathogenese	4
1.3.1. Hygienehypothese.....	8
1.3.2. <i>Early-life-window-of-opportunity</i> -Hypothese (immunologisches Fenster).....	10
1.3.3. Barrierestörung und Verlust der oralen Toleranz	11
1.3.4. Störung des intestinalen Mikrobioms	15
1.4. Klinik	17
1.5. Diagnose.....	18
1.5.1. Eliminationsdiät.....	18
1.5.2. Serumtest IgE.....	22
1.5.3. Intradermaltest	22
1.5.4. Patchtest.....	23
1.5.5. Lymphozytenproliferationstest	24
1.5.6. Speicheltest IgA und IgM.....	26
1.5.7. Epigenetischer DNA-Test.....	27
1.5.8. Gastroduodeno- und Kolonoskopie.....	27
1.6. Behandlung.....	29
III. PUBLIKATION	31
IV. DISKUSSION	39
V. ZUSAMMENFASSUNG	56
VI. SUMMARY	59
VII. LITERATURVERZEICHNIS	61
VIII. ANHANG	94
1. Fragebogen	94

IX. DANKSAGUNG101

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

16S-rRNA	16S-ribosomale-Ribonukleinsäure
ATPase	Adenosintriphosphatase
AHD	akuter hämorrhagischer Durchfall
AHDS	akutes hämorrhagisches Durchfall-Syndrom
BARF	<i>bones and raw food</i> (Fütterung von Knochen und Rohfleisch)
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i> . Siehe auch <i>C. difficile</i> , <i>C. hiranonis</i>
CIBDAI	<i>Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index</i> (caniner IBD-Aktivitäts-Index)
COLAP-Test	<i>Colonoscopic Allergen Provocation-Test</i>
CPE	<i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin
<i>cpe</i>	<i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin-Gen
DI	Dysbiose-Index
DIC	<i>disseminated intravascular coagulation</i> (disseminierte intravasale Gerinnung)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr.	Doktor
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohämorrhagische <i>E. coli</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> (enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)
ESCCAP	<i>European Scientific Counsel Companion Animal Parasites</i>

et al.	<i>et alii/aliae</i> (und andere)
Fc-Rezeptor	<i>fragment crystallizable</i> -Rezeptor
GALT	<i>gut associated lymphoid tissue</i> (darmassoziiertes lymphatisches Gewebe)
GFS-Test	<i>Gastroscopic Food Sensitivity</i> -Test
GI	Gastrointestinal
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i> (chronisch entzündliche Darmerkrankung)
IgA	Immunoglobulin A. Siehe auch IgE, IgG, IgM
ILC	<i>innate lymphoid cell</i> (innate lymphoide Zelle)
MHC	<i>major histocompatibility complex</i> (Haupthistokompatibilitätskomplex)
M-Zelle	Mikrofaltenzelle
<i>netE</i>	NetE-Toxin-Gen. Siehe auch <i>netF</i> , <i>netG</i>
NSAID	<i>nonsteroidal anti-inflammatory drug</i> (nichtsteroidales Antiphlogistikum)
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
pH	<i>pondus hydrogenii</i>
PPI	Protonenpumpeninhibitor
Prof.	Professor
qPCR	quantitative Echtzeit-PCR
TH-Zelle	T-Helferzelle. Siehe auch TH1-Zelle, TH2-Zelle, TH17-Zelle
T _{reg} -Zelle	regulatorische T-Zelle
SIRS	systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
spp.	Spezies (Plural)

SuHV-1	suides Herpesvirus 1
--------	----------------------

I. EINLEITUNG

Akute Enteropathien erhöhen das Risiko für chronische Erkrankungen beim Menschen. Neben intestinalen Beschwerden wie dem postinfektiösen chronischen Reizdarmsyndrom (KLEM et al., 2017) und chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (GARCIA RODRIGUEZ et al., 2006) erhöhen akute Enteropathien auch das Risiko für extraintestinale Beschwerden wie der reaktiven Arthritis (AJENE et al., 2013) und dem Guillain-Barré-Syndrom (BUZBY et al., 1997).

Akute gastrointestinale Symptome unterschiedlichster Genese sind häufiger Vorstellungsgrund in der tierärztlichen Praxis. Jedoch liegen nur wenige Daten hinsichtlich Langzeitkonsequenzen nach überstandener Krankheit vor. Eine kürzlich veröffentlichte Studie stellt einen Zusammenhang zwischen chronischen gastrointestinalen Symptomen und überstandener Parvoviroseinfektion beim Junghund her (KILIAN et al., 2018). Welche Faktoren das Risiko einer chronischen Erkrankung nach akuter Enteropathie beim Hund erhöhen können, ist bislang nicht untersucht.

Aus Studien der Humanmedizin abgeleitet, spielen wahrscheinlich der Verlust der oralen Toleranz gegenüber Futtermittelallergenen sowie Veränderungen des intestinalen Mikrobioms eine Rolle in der Entstehung chronischer Symptome nach akuter Enteropathie (CHEHADE und MAYER, 2005; PABST und MOWAT, 2012). Da sowohl das Immunsystem als auch das intestinale Mikrobiom in jungen Jahren noch nicht ausgereift und somit vermutlich leichter empfänglich für äußere Einflüsse sind, kann ein niedriges Alter des Patienten zum Zeitpunkt der akuten Enteropathie ein zusätzliches Risiko darstellen (NYLUND et al., 2014; JOHNSON und DEPAOLO, 2017; BLAKE et al., 2020).

Das akute hämorrhagische Durchfall-Syndrom (AHDS) des Hundes ist eine Erkrankung des Gastrointestinaltrakts, welche durch akut einsetzenden blutig-wässrigen Durchfall und häufig zusätzlich Erbrechen gekennzeichnet ist (UNTERER et al., 2011). Die Pathogenese des AHDS ist nicht vollständig geklärt, jedoch sind toxinbildende *Clostridium (C.) perfringens* vermutlich an der Krankheitsentstehung beteiligt (GOHARI et al., 2015; SINDERN et al., 2019). Hunde mit AHDS weisen profunde Dysbiosen (SUCHODOLSKI et al., 2012b)

sowie nekrotische Veränderungen in Dün- und Dickdarm auf (UNTERER et al., 2014).

Ziel dieser retrospektiven longitudinalen Studie war es herauszufinden, ob Hunde nach einer Episode mit akutem hämorrhagischem Durchfall (AHD) ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome haben und ob es Risikofaktoren gibt, die eine Entstehung der Chronizität fördern.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Futtermittelallergie und -intoleranz

Bei einer Futtermittelallergie handelt es sich um eine immunologische Reaktion des Körpers aufgrund eines aus dem Futter stammenden Allergens. Sie ist von der Futtermittelintoleranz zu unterscheiden, bei der die Immunabwehr keine Rolle spielt (VERLINDEN et al., 2006). Eine Futtermittelintoleranz beschreibt jegliche abnorme Reaktion des Organismus auf ein Futter, welche nicht immunmediert ist (CRAIG, 2019). Trotz unterschiedlicher Pathophysiologie sind Futtermittelallergien und -intoleranzen in ihrem klinischen Auftreten nicht voneinander zu unterscheiden (VOLKMANN et al., 2017). Aus diesem Grund können beide Krankheitskomplexe unter dem Begriff Futtermittelreaktionen zusammengefasst werden (GASCHEN und MERCHANT, 2011).

Futtermittelallergien, entzündliche Darmerkrankungen sowie die intestinale bakterielle Überwucherung zählen zu den häufigsten chronischen Darmerkrankungen beim Hund (ALLENSPACH und GASCHEN, 2003a).

1.1. Definition

Der Begriff „Allergie“ wurde erstmals 1906 von Clemens von Pirquet definiert. Eine Allergie ist eine spezifische Reaktion des adaptiven Immunsystems gegen harmlose Fremdantigene, die eigentlich keine Immunreaktion erfordern würden (RINK et al., 2012). Eine Nahrungs- oder Futtermittelallergie ist demnach definiert als eine negative Immunantwort auf eigentlich harmlose Proteine, welche in Nahrungs- und Futtermitteln vorkommen (CIANFERONI und SPERGEL, 2009; WASERMAN und WATSON, 2011).

Unter dem Begriff „Futtermittelintoleranz“ werden metabolische, pharmakologische, toxische oder idiosynkratische Reaktionen auf Futter zusammengefasst (MUELLER und JACKSON, 2003). Eine Intoleranz kann definiert werden als eine adverse, nicht-immunologische Reaktion des Organismus, ausgelöst durch ein Futtermittel oder einen Futtermittelbestandteil in einer Dosierung, welche vom gesunden Organismus normalerweise toleriert wird (TUCK et al., 2019).

1.2. Epidemiologie

Der prozentuale Anteil der an Nahrungsmittelallergien leidenden Menschen ist weltweit zunehmend (TANG und MULLINS, 2017). Aufgrund mangelnder standardisierter objektiver Methoden zur Diagnostizierung einer Nahrungsmittelallergie ist die Datenlage hinsichtlich der Prävalenz schlussendlich nicht ganz geklärt (TANG und MULLINS, 2017).

Die Erfassung der Prävalenz von Futtermittelreaktionen in der Veterinärmedizin unterliegt derselben Problematik. Die Datenlage stützt sich auf Aussagen von Tierbesitzern, und vollständige klinische Aufarbeitungen von Futtermittelreaktionen scheitern häufig an mangelnder Besitzercompliance (MUELLER und UNTERER, 2018). Erschwerend für die Erfassung der genauen Prävalenz kommt hinzu, dass sich Futtermittelreaktionen neben gastrointestinalen Symptomen ebenso in dermatologischen, respiratorischen und seltener neurologischen Symptomen äußern können (MUELLER und OLIVRY, 2018). Diese Variabilität der potenziellen Symptome futtermittelbedingter Erkrankungen erhöht das Risiko, dass eine Futtermittelreaktion als Ursache übersehen wird.

Etwa die Hälfte (47-64 %) der an einer chronischen Enteropathie leidenden Hunde haben eine futtermittelresponsive Komponente (ALLENSPACH et al., 2016; VOLKMANN et al., 2017). Eine futtermittelresponsive Enteropathie ist somit die häufigste Ursache für chronische gastrointestinale Symptome beim Hund (MUELLER und UNTERER, 2018). Chronische Enteropathien im Allgemeinen machen je nach Studie 0,9-2,1 % der Erkrankungen in der Patientenpopulation der tiermedizinischen Praxis aus (DANDRIEUX und MANSFIELD, 2019).

Rasseprädispositionen für Futtermittelreaktionen sind unter anderem die glutensensitive Enteropathie des Irish Setters und die Eiweißverlustenteropathie des Soft Coated Wheaten Terriers (MUELLER und UNTERER, 2018). Die Rassen Deutscher Schäferhund, Irish Setter und Shar-Pei sind bei der Ausbildung allergiebedingter gastrointestinaler Symptome generell überrepräsentiert (VERLINDEN et al., 2006).

1.3. Pathogenese

Die gastrointestinale Mukosa ist der Ort der größten immunologischen Aktivität. Damit eine Immuntoleranz aufrecht erhalten werden kann, muss sie zwischen

nützlichen und schädlichen Stoffen im Gastrointestinaltrakt unterscheiden (FARIA et al., 2017; WAMBRE und JEONG, 2018). Eine Aufnahme von Nährstoffen aus dem Gastrointestinaltrakt bei gleichzeitiger Abwehr von Antigenen und Pathogenen muss gewährleistet werden (ULLUWISHEWA et al., 2011). Die gastrointestinale Mukosa besteht allgemein aus drei Teilen: dem Epithel, der *Lamina propria* und dem darmassoziierten lymphatischen Gewebe (GALT), in letzterem werden Immunreaktionen des erworbenen Immunsystems induziert (BRANDTZAEG et al., 2008).

Das einschichtige **Epithel** besteht aus Enterozyten, enteroendokrinen Becherzellen und Paneth-Körnerzellen. Verbunden werden diese Zellen durch interzelluläre Komplexe, unter anderem den sogenannten *Tight Junctions*. Aufgabe der *Tight Junctions* ist die Regulation der Permeabilität der Gastrointestinalschranke (FARQUHAR und PALADE, 1963; ULLUWISHEWA et al., 2011). Durch sie wird die Aufnahme von Nährstoffen, Ionen und Wasser gewährleistet, während der Eintritt von Pathogenen aus dem Darm verhindert wird (ULLUWISHEWA et al., 2011). Dem Epithel liegt eine hydrophobe muköse Schicht mit der Glykokalyx auf, welche von den Epithelzellen gebildet wird. Durch das Abfangen von Antigenen und proteingebundenem Immunglobulin A (IgA) erhöht sie die protektive Wirkung des Epithels (MURPHY und WEAVER, 2018; WAMBRE und JEONG, 2018).

Die *Lamina propria* liegt unter der Epithelschicht. Ihre Rolle in der Immunabwehr ist die Beherrschung einer Reihe von Zellen des Immunsystems (u.a. Lymphozyten, Mastzellen, dendritische Zellen), als auch von Immunglobulin-produzierenden Plasmazellen (VERLINDEN et al., 2006; BRANDTZAEG et al., 2008).

Das **darmassoziierte lymphatische Gewebe** schützt vor externen Faktoren, welche die mechanische Barriere des Gastrointestinaltrakts passieren. Hauptkomponenten des GALT sind neben den mesenterialen Lymphknoten die Peyer-Plaques, welche Ansammlungen lymphoider Zellen darstellen. Sie bestehen aus B-Zell-Follikeln mit Keimzentren, welche von T-Zell-Regionen umgeben sind. Peyer-Plaques sind neben der Mukosa auch in der lumenferneren Submukosa anzufinden und vor allem im Dünndarm angesiedelt. (WAMBRE und JEONG, 2018).

Nach der oralen Aufnahme eines Proteins wird dieses mittels Magensäure und einer Reihe gastrointestinaler Proteasen in Aminosäuren, Di- und Tripeptide

aufgespalten. Während dieses Zerkleinerungsprozesses werden bereits viele immunogene Epitope mechanisch zerstört. Die gastrointestinale Peristaltik und die dem Epithel aufliegende Schleimschicht schützen das Epithel vor Kontakt mit einer Vielzahl intakter Proteine (CHEHADE und MAYER, 2005). Dennoch gelangen etwa 2 % dieser Proteine durch das Epithel ins lymphatische System und in den Blutkreislauf (WARSHAW et al., 1974).

Epithelnah befinden sich auf den Peyer-Plaques Mikrofaltenzellen (M-Zellen), welche Antigene über die apikale Membran aufnehmen und in die subepitheliale Region der Peyer-Plaques transportieren. Dort werden die Antigene von dendritischen Zellen und Makrophagen aufgenommen und phagozytiert (CHEHADE und MAYER, 2005). Bei dendritischen Zellen handelt es sich um antigenpräsentierende Zellen. Sie können durch sogenannte Dendriten auch in direktem Kontakt mit dem Darmlumen stehen und Antigen aufnehmen (COOMBES und POWRIE, 2008). Die antigenbeladenen dendritischen Zellen wandern in die T-Zell-Region der Peyer-Plaques und präsentieren naiven antigenspezifischen T-Zellen das Antigen. Die T-Zellen differenzieren sich nun zu T-Effektorzellen, nämlich T-Helferzellen (TH-Zellen) oder regulatorischen T-Zellen (T_{regs}). Dendritische Zellen und differenzierte T-Zellen aktivieren anschließend gemeinsam die zentralen B-Zellen, welche infolgedessen einen Antikörperklassenwechsel zu entzündlichem IgE oder nichtentzündlichem IgA induzieren (MURPHY und WEAVER, 2018; WAMBRE und JEONG, 2018).

Generell müssen vier Allergietypen voneinander unterschieden werden: Soforttyp (Typ 1), Cytotoxischer Typ (Typ 2), Immunkomplextyp (Typ 3), Spätreaktionstyp oder zelluläre Immunreaktion (Typ 4) (RINK et al., 2012). Die IgE-induzierte Reaktion vom Soforttyp ist in der Humanmedizin in Bezug auf Nahrungsmittelallergien am häufigsten untersucht (VERLINDEN et al., 2006). Studien vermuten, dass die Typen 1, 3 und 4 an Futtermittelreaktionen des Hundes beteiligt sind (KWOCHKA; LEISTRA et al., 2001; ISHIDA et al., 2003; KENNIS, 2006; VERLINDEN et al., 2006; BRYAN und FRANK, 2010; FUJIMURA et al., 2011).

Bei der Allergie vom **Soforttyp** (Typ 1) werden IgE-Antikörper gegen das auslösende Allergen gebildet. Während der Sensibilisierung aktivieren Typ-2-Helferzellen (TH2-Zellen) zytokinvermittelt B-Zellen; diese durchlaufen einen Antikörperklassenwechsel mit anschließender Produktion von IgE. Im Vergleich

zu anderen Antikörperklassen, bindet IgE ohne Bildung eines Immunkomplexes am Fc-Rezeptor, der unter anderem auf Mastzellen liegt. Bei darauffolgendem Kontakt des Allergens mit Anti-Allergen-IgE-beladenen Mastzellen, kommt es zur Degranulation von Entzündungsmediatoren wie Histamin aus den Zellen und dadurch zu typischen Allergiesymptomen (RINK et al., 2012). Symptome können innerhalb von Minuten bis mehreren Stunden nach Aufnahme des Antigens auftreten. Eine lokale Reaktion vom Soforttyp führt im Gastrointestinaltrakt zu Verlust von Flüssigkeit, Plasmaproteinen und Blut durch die Kapillargefäße der Darmwand ins Lumen. Klinische Symptome sind unter anderem Erbrechen, Durchfall und Gewichtsverlust. Freigesetzte Entzündungsmediatoren führen unter anderem zu Vasodilatation und erhöhter Durchlässigkeit der Blutgefäße (RINK et al., 2012). Dadurch wird das Durchdringen der Blut-Darm-Schranke von Antigenen sowie anderen großen Proteinen wiederum erleichtert. Systemische Entzündungsreaktionen oder sogar multiple Allergien können die Folge sein (CROWE und PERDUE, 1992).

Die **verzögerte Hypersensitivitätsreaktion** tritt einige Stunden nach Antigenkontakt ein (VERLINDEN et al., 2006). Allergietyp 3 und 4 spielen wahrscheinlich eine Rolle in ihrer Entstehung (VERLINDEN et al., 2006). Bei der Typ-3-Reaktion handelt es sich um eine Überempfindlichkeitsreaktion. Sie basiert auf IgG-Antikörpern, die lösliche Antigen-Antikörper-Komplexe bilden und in Serum und Extrazellulärflüssigkeit zu finden sind. Die Komplexe führen zur Aktivierung des Komplementsystems sowie zur weiteren Aktivierung von Mastzellen, neutrophilen Granulozyten und Makrophagen (RINK et al., 2012). Durch die Freisetzung von Zytokinen und anderen Mediatoren kann eine chronische Entzündung entstehen (VERLINDEN et al., 2006). Die verzögerte Hypersensitivitätsreaktion spielt vermutlich auch bei Hunden eine Rolle im Pathomechanismus der Futtermittelallergien, da die Aufnahme eines Allergens beim Provokationstest innerhalb von Minuten bis Wochen Symptome auslösen kann (JEFFERS et al., 1996).

An der **späten Hypersensitivität** sind vermutlich ebenso Typ-3- und Typ-4-Reaktionen beteiligt (CROWE und PERDUE, 1992). Typ-4-Reaktionen treten Stunden bis Tage nach Allergenaufnahme auf (VERLINDEN et al., 2006). Primär werden sie nicht durch Antikörper, sondern durch T-Zellen ausgelöst. Nach der Sensibilisierung naiver allergenspezifischer T-Zellen können diese bei

Antigenkontakt eine Immunreaktion bewirken. Des Weiteren können sich T-Zellen an antigenpräsentierende Zellen heften und eine Zellyse verursachen (RINK et al., 2012).

Bei den allergieauslösenden Proteinen des Menschen handelt es sich zumeist um wasserlösliche, hitzestabile Glykoproteine mit einem Molekulargewicht größer 10 kDa (TAYLOR et al., 1987). Zum Molekulargewicht von Futtermittelantigenen des Hundes gibt es keine Angaben (VERLINDEN et al., 2006).

Die meisten Futtermittelintoleranzen sind idiosynkratisch und dosisabhängig, d. h. sie treten spontan und unvorhersehbar ohne erkennbaren Pathomechanismus auf (CRAIG, 2019). Das Auftreten von Symptomen kann auch noch Tage nach Aufnahme der Noxe entstehen und über Stunden bis Tage andauern (WILLS, 1991; TURNBULL et al., 2015). Eine mögliche Einteilung nach Ätiologie der Intoleranzen nach Cave und Mitarbeitern lautet wie folgt: toxisch (z. B. mikrobielle Kontamination), pharmakologisch (z. B. Histamin, Xylitol), metabolisch (z. B. Kohlehydratintoleranz), dysmotil, dysbiotisch, physikalisch (z. B. erhöhte intestinale Permeabilität, Motilitätsstörungen), unspezifisch (CAVE, 2013; CRAIG, 2019). Aufgrund mangelnder Testverfahren sowie der großen Variabilität klinischer Symptome bleibt der Pathomechanismus einer Futtermittelintoleranz meist ungeklärt (CRAIG, 2019).

1.3.1. Hygienehypothese

Die Hygienehypothese wurde erstmals 1989 von dem Epidemiologen David Strachan beschrieben (STRACHAN, 1989). Die Kernaussage der Hypothese ist, dass eine Korrelation zwischen der Entstehung allergischer Erkrankungen und der frühen Auseinandersetzung mit Umweltkeimen besteht. Der unhygienische Kontakt zu älteren Geschwistern im Kleinkindalter sowie die pränatale Auseinandersetzung mit Keimen durch den Kontakt zwischen Mutter und älteren Geschwistern kann das Risiko für die Entstehung von Allergien senken (STRACHAN, 1989). Demnach ließe sich die zunehmende Anzahl der von Allergien betroffenen Menschen in westlichen Ländern durch weniger Infektionen infolge von kleineren Familienmodellen und verbesserten Lebens- und Hygienestandards erklären (STRACHAN, 1989).

Der pathophysiologische Mechanismus, welcher der Hygienehypothese zugrunde liegt, ist bis heute nicht geklärt. In der Diskussion steht die Dominanz einer Typ-1-

Helferzellen-Immunität zu einer Typ-2-Helferzellen-Immunität (MOSMANN und COFFMAN, 1989; HERTZEN, 1998; RAO und AVNI, 2000). Typ-1-Helferzellen (TH1-Zellen) aktivieren vor allem durch die Ausschüttung von Zytokinen Makrophagen, welche wiederum die in ihnen befindlichen Erreger wie Bakterien, Protozoen und Viren abtöten. TH2-Zellen aktivieren im Gegensatz dazu die Synthese von Antikörpern in B-Zellen sowie eosinophile Granulozyten (RINK et al., 2012). Ihre Entzündungsmediatoren fördern die Entstehung IgE-mediierter Allergien (SHEIKH und STRACHAN, 2004). Die beiden TH-Subtypen entstehen aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle (RINK et al., 2012). Ehemals wurde angenommen, dass die beim Menschen bei Geburt vorherrschende TH2-Immunität durch Kontakt mit Infektionserregern zu einer primären TH1-Immunität ausreifen würde. Bei reduziertem Erregerkontakt bliebe die TH2-Immunität vorherrschend und ein Risiko für atopische Erkrankungen entstehe (SHEIKH und STRACHAN, 2004). Die Entdeckung weiterer T-Zell-Subgruppen sowie Effektorzellklassen, welche bei der Allergieentstehung eine Rolle spielen, fechten die TH1/TH2-Theorie als alleinige Erklärung der Hygienehypothese an (GARN et al., 2021). Solche Effektorzellen sind z. B. innate lymphoide Zellen (ILCs), welche beim Menschen und im Tiermodell bei der Entstehung allergischen Asthmas beteiligt sind (MARTINEZ-GONZALEZ et al., 2015). ILCs spielen eine Rolle in der Entwicklung von Peyer-Plaques und lymphoiden Follikeln sowie in der Reparatur und Aufrechterhaltung der Integrität des Darmepithels (GARN et al., 2021). Gesteuert wird die ILC-Bildung und -Aktivität durch Zytokine körpereigener Zellen, aber auch durch Metaboliten der intestinalen Mikrobiota (SEPAHI et al., 2021). ILCs agieren als Mediatoren zwischen Wirt und intestinalem Mikrobiom und nehmen somit eine zentrale Rolle in der Wirtsreaktion auf mikrobielle Reize ein (GARN et al., 2021).

Das Vorhandensein nicht primär IgE-mediierter Allergien spricht ebenfalls gegen die TH1/TH2-Theorie als alleinige Erklärung der Hygienehypothese (GARN et al., 2021). Neben den durch die Hygienehypothese beschriebenen Mechanismen sind im Rahmen der Epigenetik auch Umwelttoxene, wie zunehmende Luftverschmutzung, welche sich auf das noch unreife Immunsystem auswirken, als Allergieauslöser in den Fokus geraten (GARN et al., 2021).

1.3.2. *Early-life-window-of-opportunity-Hypothese* (immunologisches Fenster)

Die mikrobielle Kolonisation des Gastrointestinaltrakts findet bereits pränatal statt, zu großen Teilen auch während der Geburt durch den Kontakt des Kindes mit der extrauterinen Umgebung (NYLUND et al., 2014). Unter dem intestinalen Mikrobiom versteht man die Gesamtheit aller mikrobiellen Genome im Gastrointestinaltrakt (DE VOS und DE VOS, 2012). Beim Menschen verändert sich die Zusammensetzung des Mikrobioms etwa bis zum dritten Lebensjahr fortlaufend und ist während dieser Zeit besonders empfindlich gegenüber äußeren Einflüssen (JOHNSON und DEPAOLO, 2017). Zur Zeit dieses sogenannten immunologischen Fensters prägen Ernährungsgewohnheiten, Medikamente und Umwelteinflüsse das intestinale Mikrobiom besonders stark (NYLUND et al., 2014). Beim gesunden Menschen verlagert sich innerhalb der ersten sechs Lebensmonate das vorherrschende bakterielle und mykotische Milieu von primär *Bifidobacteriaceae* und *Enterobacteriaceae* zu *Bacteroidiaceae* und *Lachnospiraceae*, sowie von *Malassezia* zu *Saccharomycetales*. Zudem nimmt die bakterielle Besiedelung zu, während die mykotische Besiedelung abnimmt (JOHNSON und DEPAOLO, 2017). Kommt es durch externe Einflüsse zu Schädigungen des sich noch entwickelnden intestinalen Mikrobioms, kann es längerfristig zu Veränderungen in dessen Zusammensetzung kommen, und eine Dysbiose entsteht. Fujimura und Mitarbeiter stellen einen Zusammenhang zwischen einem erhöhten Risiko für kindliches Asthma sowie Atopie und dysbiotischen Veränderungen der intestinalen Mikroflora bei drei Monate alten Kindern her. Demnach erkrankten Kinder mit geringerem Vorkommen gewisser intestinaler Bakterien (z. B. *Bifidobacterium*, *Akkermansia* und *Faecalibacterium*) und höherem Vorkommen gewisser Pilze (*Candida* und *Rhodotorula*) häufiger. Durch die Dysbiose kommt es zudem zu Veränderungen bakterieller Stoffwechselwege sowie zur erhöhten Produktion proinflammatorischer Metabolite, welche ebenfalls das Risiko für allergisches Asthma erhöhen können (FUJIMURA et al., 2016).

Antibiotika beeinflussen das gastrointestinale Mikrobiom nachhaltig in seiner Zusammensetzung und Diversität. Häufig werden bei Kindern Breitbandantibiotika eingesetzt, welche sich neben der Hemmung pathogener Keime auch auf kommensale Bakterien wie *Bifidobacterium* spp. und *Lactobacillus* spp. auswirken (NYLUND et al., 2014). Nach Beendigung der Einnahme von Antibiotika erholt

sich das Mikrobiom meist nur langsam und unvollständig (JAKOBSSON et al., 2010; JERNBERG et al., 2010; DETHLEFSEN und RELMAN, 2011). Die Einnahme von Antibiotika in früher Kindheit erhöht das Risiko für eine Bandbreite an Erkrankungen im späteren Leben. Als Beispiele werden neben Asthma Rhinokonjunktivitis, Ekzem (FOLIAKI et al., 2009), Zöliakie (MÅRILD et al., 2013) und Übergewicht im Kindesalter (AJSLEV et al., 2011) genannt.

Über die Entwicklung des neonatalen intestinalen Mikrobioms des Hundes ist wenig bekannt. Eine Studie von Guard und Mitarbeitern untersuchte die bakterielle Zusammensetzung in Kotproben von Welpen bis zu 56 Tage *postpartum* (GUARD et al., 2017). Von Tag zwei bis Tag 42 nahm die Vielfalt der Bakterienspezies signifikant zu, das Milieu von initial vorherrschenden *Firmicutes* verschob sich zu einer Co-Dominanz von *Bacteroides*, *Fusobacteria* und *Firmicutes* an Tag 21 (GUARD et al., 2017). Inwiefern sich Störungen des Mikrobioms in dieser empfindlichen Zeit auf die Entwicklung und das Überleben der Welpen auswirken, ist ungewiss. Es wurde berichtet, dass Welpen nach Überleben einer Parvoviroseinfektion ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome haben (KILIAN et al., 2018). Die Autorin vermutet die Dysbiose in jungem Alter, welche durch das Parvovirus selbst als auch durch die in der Therapie eingesetzten Antibiotika verursacht wurde, als einen der Hauptrisikofaktoren für die Entstehung der Chronizität (KILIAN et al., 2018). Oben beschriebene Studien aus der Humanmedizin unterstützen diesen Gedankengang.

1.3.3. Barrierestörung und Verlust der oralen Toleranz

Grundsätzlich wird die intestinale Barrierefunktion durch eine intakte physikalische Barriere, bestehend aus den in Kapitel 1.3. beschriebenen Schichten der Mukosa, und einer intakten immunologischen Barriere, bestehend aus den Zellen des Immunsystems, aufrechterhalten (GROSCHWITZ und HOGAN, 2009). Eine Disruption dieser Barrierefunktion erleichtert potenziellen Erregern und Nahrungsmittelallergenen den Eintritt in den Körper und kann das Risiko einer Allergieentstehung erhöhen.

Die sekretorischen Zellen des intestinalen Epithels tragen durch die Produktion antimikrobieller Moleküle wie Defensin, Lectin, Histatin, Slatherin und Proteaseinhibitoren zur Immunabwehr bei (MCGUCKIN et al., 2009). Aktuelle Studien zeigen, dass eine intestinale Entzündung trotz eines intakten Mikrobioms

und einer intakten Immunität und allein durch ein defektes Darmepithel ausgelöst werden kann. Als Beispiel entwickeln Mäuse mit einer Mucin-2-Defizienz eine experimentelle Kolitis. Mucin-2 ist ein von den Becherzellen des Dickdarms gebildetes Glykoprotein, welches Hauptbestandteil der intestinalen Schleimbarriere ist (VAN DER SLUIS et al., 2006; HEAZLEWOOD et al., 2008). Ein weiteres Beispiel sind Knockoutmäuse mit aberranter oder reduzierter Defensinexprimierung, welche ein erhöhtes Risiko für Infektionen über den Gastrointestinaltrakt haben (WILSON et al., 1999; KOBAYASHI et al., 2005). Die Exprimierung von humanem Defensin-5 wiederum führt zu einer höheren Resistenz gegen Salmonelleninfektionen in transgenen Mäusen (SALZMAN et al., 2003).

Die Ursachen einer erhöhten epithelialen Permeabilität können vielseitig sein. Entzündliche Zytokine beispielsweise können im Rahmen einer gastrointestinalen Erkrankung *Tight Junctions* destabilisieren (MCGUCKIN et al., 2009).

Auch einige pathogene Keime besitzen die Fähigkeit, durch Modulation der Enterozyten die transmembrane oder parazelluläre Permeabilität zu steigern. Häufiger Angriffspunkt der Pathogene sind auch hier *Tight Junctions* (BARREAU und HUGOT, 2014). Beispiele aus der Humanmedizin sind enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), welche unter anderem durch eine Proteinumverteilung zu einer Störung der *Tight Junctions* führen oder *Helicobacter pylori*, welche durch toxische Hemmung von Proteinkinase C die parazelluläre Permeabilität einiger Enterozyten erhöhen (BARREAU und HUGOT, 2014).

Infektionen mit *C. perfringens* können nicht nur beim Menschen, sondern auch bei einigen Tierarten nekrotische Enteritiden verursachen (NIILO, 1980; SOBEL et al., 2005; MICLARD et al., 2009; DIAB et al., 2012; ZHANG et al., 2012). Bei Hunden mit schwerer akuter Gastroenteritis können nekrotische Veränderungen des Darmepithels in Anwesenheit von *C. perfringens* nachgewiesen werden. (UNTERER et al., 2014).

Auch eine durch Medikamente induzierte erhöhte epitheliale Permeabilität ist beschrieben. Nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAIDs) erhöhen beim Menschen das Risiko für gastrointestinale Ulzera und Erosionen (MATSUI et al., 2011). NSAIDs, welche in die Enterozyten im Dünndarm absorbiert werden, stören die oxidative Phosphorylierung in Mitochondrien. Dies wiederum führt zu einer Erhöhung der Permeabilität an den *Tight Junctions* (HIGUCHI et al., 2009). Durch

die erhöhte Permeabilität kommt es zu vermehrtem Kontakt der Enterozyten u. a. mit Gallensäuren, Enzymen und Bakterien aus dem Darmlumen und zu einer unspezifischen Entzündungsreaktion sowie Ulzeration (MATSUI et al., 2011).

Hunde, welche dauerhaft NSAIDs erhalten, haben ebenfalls ein erhöhtes Risiko für subklinische gastrale und duodenale Erosionen. Mabry und Mitarbeiter untersuchten Hunde mittels Videokapsel-Endoskopie, welche eine NSAID-Dauertherapie mit Carprofen, Meloxicam oder Firocoxib erhielten. Bei 75 % (9/12) der Hunde konnten Erosionen im Magen, bei 50 % (6/12) der Hunde Erosionen im Dünndarm nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu hatten knapp 27 % (3/11) der Kontrollhunde Erosionen in Magen oder Dünndarm (MABRY et al., 2021).

Die orale Toleranz wurde erstmals von Chase im Jahre 1946 charakterisiert. Demnach handelt es sich um einen Zustand aktiver Inhibition einer Immunantwort auf ein Antigen durch die vorherige orale Aufnahme dieses Antigens (CHASE, 1946; CHEHADE und MAYER, 2005). Die für die Entwicklung der oralen Toleranz notwendigen Mechanismen laufen im Gastrointestinaltrakt, vermutlich aber auch an anderen Schleimhäuten, wie der Mundschleimhaut, ab (ALLAM und NOVAK, 2013). Ein Versagen der oralen Toleranz gegenüber Nahrungsmittelantigenen erhöht das Risiko von Allergien und weiteren Erkrankungen wie Zöliakie beim Menschen (MERESSE et al., 2009).

Chehade und Mayer betrachten beim Menschen folgende Faktoren als relevant in der Entstehung einer oralen Toleranz: Menge des Antigens, Art des Antigens, Wirtsgenetik, Wirtsmikrobiom, Wirtsalter (CHEHADE und MAYER, 2005). Im Folgenden soll detaillierter auf die einzelnen Faktoren eingegangen werden.

Untersuchungen im Mausmodell haben gezeigt, dass eine orale Toleranz entweder durch eine hohe Dosis oder mehrere kleine Dosen des Antigens erreicht werden kann, wobei unterschiedliche Immunreaktionen ablaufen (FRIEDMAN und WEINER, 1994).

High-dose Toleranz wird durch Lymphozytenanergie erreicht (WHITACRE et al., 1991). Um eine naive T-Zelle zu aktivieren, bedarf es neben einem Antigen costimulierenden Oberflächenmolekülen. Diese sitzen der antigenpräsentierenden Zelle auf. Es soll somit sichergestellt werden, dass es sich tatsächlich um ein Fremdatigen eines Pathogens handelt. Eine Antigenpräsentation in Abwesenheit der costimulierenden Moleküle führt zu Lymphozytenanergie, d. h. fehlender

Reaktion der T-Zellen (RINK et al., 2012). *Low-dose* Toleranz wird durch regulatorische T-Zellen mediiert (CHEHADE und MAYER, 2005).

Lösliches Antigen ist tolerogener als Antigen in Partikelform. Eine mögliche Erklärung ist, dass das Antigen durch die Partikelform geschützt vor Säure und Verdauungsenzymen ist (CHEHADE und MAYER, 2005).

MHC-Moleküle (*major histocompatibility complex*, Haupthistokompatibilitätskomplex) sind Proteinkomplexe, welche auf der Oberfläche von Zellen, z. B. Leukozyten, vorkommen (LJUNGGREN und KÄRRE, 1990). Eine der Hauptaufgaben der MHC-Moleküle ist die Bindung und Präsentation von Antigenen. T-Zellen identifizieren das präsentierte Antigen und induzieren eine Immunantwort (CRESSWELL, 1994). Wichtig ist, dass die Expression der MHC-Moleküle individuell genetisch festgelegt ist (CALABI und MILSTEIN, 1986). Im Mausmodell wird ein Zusammenhang zwischen einer genetischen Komponente und dem Erhalt oraler Toleranz gegenüber Futterantigenen aufgezeigt (MOWAT et al., 1987; LAMONT et al., 1988; MORAFO et al., 2003). Studien bezüglich MHC-Molekülen und deren Auswirkung auf Lebensmittelallergien sind zwiegespalten. Verkasalo und Mitarbeiter fanden keinen Zusammenhang in der Expression verschiedener MHC-Moleküle in Menschen mit hochgradiger Kuhmilchallergie (VERKASALO et al., 1983). Howell und Mitarbeiter wiederum stellten einen Zusammenhang zwischen MHC-Genotypen und dem Risiko einer Erdnussallergie her (HOWELL et al., 1998). Daten hinsichtlich einer genetischen Komponente in der Entwicklung von Futtermittelallergien beim Hund sind keine bekannt. Eine Überrepräsentation gewisser Hunderassen mit Futtermittelreaktionen könnte jedoch Hinweis auf eine Involvierung des Genoms auch bei Allergien sein (FAVROT et al., 2010). Beim Auftreten von Futtermittelintoleranzen ist eine genetische Komponente mitverantwortlich. Deutsche Schäferhunde mit antibiotikaresponsivem Durchfall sowie Boxer und französische Bulldoggen mit granulomatöser Kolitis haben beispielsweise genetische Anomalien, welche das angeborene Immunsystem sowie die Fähigkeit der Abtötung enterischer Bakterien beeinflussen (SIMPSON und JERGENS, 2011).

Obwohl kommensale Bakterien mittels Glykokalyx und innerer Mukusschicht vom Epithel getrennt sind, kommunizieren sie mit dem Immunsystem des Wirts mittels Metaboliten und Nährstoffen. Die Bakterien-Immunsystem-Interaktion ist vielfältig. Eine Aufgabe der Bakterien ist es, eine Homöostase zwischen

proinflammatorischen TH17-Zellen und T_{regs} herzustellen (TIZARD und JONES, 2018). Clostridien sind in der Lage, Kohlehydrate aus Pflanzenfasern zu kurzkettigen Fettsäuren wie Butyrat, Propionat und Acetat zu verstoffwechseln. Diese kurzkettigen Fettsäuren hemmen Makrophagen und fördern die Produktion von T_{regs}. Ein Beispiel sind Clostridien Kluster IV, XIVa und XVIII, welche durch die Anregung von T_{regs} der Enterozyten Entzündungen hemmen können. Sie spielen in der Vermeidung von Allergien eine wichtige Rolle (GABORIAU-ROUTHIAU et al., 2009). Kommensale Bakterien spielen auch in der Antikörperproduktion eine Rolle. Dendritische Zellen und M-Zellen sind in der Lage, Bakterien aufzunehmen und B-Zellen zu präsentieren, welche wiederum IgA produzieren. Veränderungen des Mikrobioms können zu einer Imbalance der komplexen Bakterien-Immunsystem-Interaktion führen und das Risiko für Allergien und Entzündungen erhöhen (TIZARD und JONES, 2018).

Mittels Tierversuches kann ein Zusammenhang zwischen Wirtsalter und Entstehung der oralen Toleranz dargestellt werden. Im Mausmodell kann mittels oraler Verabreichung von Ovalbumin die Ausbildung einer zellulären als auch einer humoralen Immunantwort innerhalb der ersten Lebenswoche erreicht werden. Im Vergleich entwickeln adulte Tiere, welche mit demselben Protein gefüttert wurden, eine orale Toleranz (STROBEL und FERGUSON, 1984).

1.3.4. Störung des intestinalen Mikrobioms

Innerhalb des letzten Jahrzehnts hat das Forschungsgebiet über das intestinale Mikrobiom zunehmend Aufmerksamkeit erfahren. Der Darmtrakt von Säugetieren enthält ungefähr 10^{10} bis 10^{14} Mikroorganismen, das sind ca. zehnmal so viele Organismen wie die Gesamtzahl aller Zellen im Wirt (SUCHODOLSKI, 2011). Dominante Bakterienstämme beim Hund sind unter anderem *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* und *Actinobacteria* (SUCHODOLSKI, 2011). Neben Bakterien besiedeln auch Pilze, Archaeen, Protozoen und Viren den Gastrointestinaltrakt (SUCHODOLSKI, 2011).

Die Aufgaben des intestinalen Mikrobioms sind vielseitig und tragen zur Aufrechterhaltung des Gesundheitszustandes des Wirts bei. Zu ihnen gehören neben der Stimulation des Immunsystems unter anderem: die Bereitstellung von Nährstoffen und Metaboliten wie kurzkettigen Fettsäuren, die Abwehr von Pathogenen aus dem Darm und die Kontrolle der epithelialen Darmbarriere durch

Beeinflussung der Proliferation und Differenzierung von Epithelzellen (GUARNER, 2006). Das Fehlen eines funktionalen Mikrobioms führt beim Hund zu einem unterentwickelten lymphoiden System, zu dünneren Darmzotten, einer reduzierten *Lamina propria* und einer reduzierten mukosalen Oberfläche (THOMPSON und TREXLER, 1971; COHN JR und HENEGHAN, 1991).

Beim Menschen beeinflussen Umweltfaktoren, vor allem Kontakt zu Mitgliedern des eigenen Haushaltes, Ernährungsgewohnheiten als auch das Alter des Wirts das Mikrobiom (PILLA und SUCHODOLSKI, 2020). Eine Veränderung der Zusammensetzung kommensaler Mikrobiota im Darm wird allgemein als intestinale Dysbiose bezeichnet und resultiert in Funktionsänderungen von mikrobiellem Transkriptom, Proteom und Metabolom (PETERSEN und ROUND, 2014; ZENG et al., 2017). Diese tiefreichenden Veränderungen des intestinalen Mikrobioms werden allerdings nicht primär durch Umwelt, Alter oder Ernährung ausgelöst. Hauptursache für Dysbiosen sind intestinale, aber auch extraintestinale Erkrankungen (PILLA und SUCHODOLSKI, 2020). Eine mögliche Erklärung für die Entstehung von Dysbiosen im Rahmen einer Erkrankung ist die Sauerstoffhypothese (RIGOTTIER-GOIS, 2013). Eine Dysbiose ist durch eine Abnahme obligat anaerober und eine Zunahme fakultativ anaerober Bakterien gekennzeichnet. Auch beim Hund kann im Rahmen einer Dysbiose eine Zunahme an fakultativ anaeroben *Enterobacteriaceae* beobachtet werden (VÁZQUEZ-BAEZA et al., 2016). Durch einen Entzündungsprozess freigesetzter freier Sauerstoff führt zu einer Abnahme der kommensalen obligat anaeroben Bakterien, was wiederum fakultativ anaeroben Pathogenen einen Vorteil verschafft. (RIGOTTIER-GOIS, 2013).

Der Einsatz von Antibiotika ist ebenfalls Grund für langanhaltende oder dauerhafte Dysbiosen beim Menschen als auch beim Hund (JERNBERG et al., 2007; GRØNVOLD et al., 2009; SUCHODOLSKI et al., 2009; IGARASHI et al., 2014). Beim Menschen gelten Antibiotika als Risikofaktor für eine unter Umständen tödlich verlaufende Infektion mit *Clostridium (C.) difficile* (THOMAS et al., 2003). Veränderungen des Mikrobioms durch Antibiotika entstehen am häufigsten durch Depletion einer oder mehrerer Taxa (LANGDON et al., 2016).

Protonenpumpeninhibitoren (PPIs) und andere Antazida können das Mikrobiom ebenfalls beeinflussen. PPIs erhöhen den gastralen pH-Wert durch Blockierung der H^+/K^+ -ATPase in magensäuresezernierenden Parietalzellen (SACHS et al., 1995).

Die Verschiebung des gastralen pH-Wertes spielt bei der Beeinflussung des intestinalen Mikrobioms vermutlich eine Rolle, der Wirkmechanismus ist abschließend jedoch nicht geklärt (GARCIA-MAZCORRO et al., 2012). PPIs stehen wie Antibiotika im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für *C. difficile*-Infektionen aber auch mit anderen infektiösen Enteritiden beim Menschen (IMHANN et al., 2016). Hunde, welche mit Omeprazol behandelt wurden, zeigen quantitative Veränderungen im intestinalen Mikrobiom, unter anderem kann ein geringeres Vorkommen von *Faecalibacterium* in Kotproben der behandelten Hunde nachgewiesen werden (GARCIA-MAZCORRO et al., 2012). *Faecalibacterium* werden antientzündliche Eigenschaften zugeschrieben, und es kann auch bei Menschen mit Colitis in reduzierter Menge vorhanden sein (SOKOL et al., 2008; SOKOL et al., 2009).

Konsequenzen einer intestinalen Dysbiose können weitreichend und vielseitig sein. Längst ist bekannt, dass Dysbiosen des Magen-Darm-Trakts mit intestinalen, aber auch extraintestinalen Erkrankungen einhergehen können. Beispiele aus der Humanmedizin sind *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), Diabetes, Asthma, Allergien und sogar Autismus (PARRACHO et al., 2005; FRANK et al., 2007; KARLSSON et al., 2013; ABRAHAMSSON et al., 2014). Es wird vermutet, dass die intestinale Dysbiose nicht nur Konsequenz der Erkrankungen selbst ist, sondern zur Initiierung und Aufrechterhaltung der Erkrankungen beiträgt (PETERSEN und ROUND, 2014).

Molekularstudien beweisen auch bei Hunden mit IBD bakterielle und fungale intestinale Dysbiosen mit einer veränderten Anzahl an Bakterienspezies (SUCHODOLSKI et al., 2008; XENOULIS et al., 2008; SUCHODOLSKI et al., 2010). Im Vergleich zu gesunden Hunden haben Hunde mit idiopathischer IBD ein vermehrtes Vorkommen von *Proteobacteria* und ein vermindertes Vorkommen von *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* und *Firmicutes* (SUCHODOLSKI et al., 2012a).

1.4. Klinik

Klinische Symptome von Futtermittelreaktionen können sich auf vielfältige Weise darstellen. Neben gastrointestinalen Symptomen spielen dermatologische und systemische Symptome ebenfalls eine Rolle. Haut- und Fellveränderungen, Juckreiz und rezidivierende Otitis sind einige der zahlreichen möglichen dermatologischen Ausprägungen. Anorexie, Lethargie, Angioödeme bis hin zu

Anaphylaxie können weniger spezifische Symptome darstellen. Auch über Verhaltensveränderungen, Asthma und Lahmheiten als mögliche Symptome wird diskutiert (ETTINGER et al., 2017).

Gastrointestinale Symptome von Futtermittelreaktionen können sich unter anderem in einer erhöhten Defäkationsfrequenz, Tenesmus, Durchfall oder Beimengungen wie Blut oder Schleim im Kot äußern (PATERSON, 1995). Die Übergänge zwischen chronisch entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen und Futtermittelreaktionen können fließend sein, und eine sekundäre Sensibilisierung gegenüber Proteinen im Futter bei betroffenen Hunden wird diskutiert (KILIAN et al., 2018).

1.5. Diagnose

Die diagnostische Aufarbeitung einer Futtermittelreaktion kann je nach Ausprägung und Lokalisation der Symptome variieren. Im Folgenden soll auf einzelne Methoden im Rahmen der diagnostischen Aufarbeitung einer Futtermittelreaktion beim Hund eingegangen werden.

1.5.1. Eliminationsdiät

Eliminationsdiäten sind in der veterinärmedizinischen Praxis einer der ersten Schritte in der Aufarbeitung einer potenziellen Futtermittelreaktion und gelten nach wie vor als Goldstandard zur Diagnosestellung (ALLENSPACH und GASCHEN, 2003b; KENNIS, 2006). Während der Diät wird eine alternative Proteinquelle gefüttert, welche das betroffene Tier zuvor noch nicht erhalten hat und mit der sich sein Immunsystem noch nicht auseinandersetzen konnte. Je enger die taxonomische Verwandtschaft zwischen zwei Proteinquellen ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer Kreuzallergie. Demnach besteht beispielsweise bei einer Rindfleischallergie auch eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, auf Fleisch anderer Wiederkäuer allergisch zu reagieren (GASCHEN und MERCHANT, 2011). Der empfohlene Zeitraum, in dem eine Ausschlussdiät stattfinden sollte, richtet sich nach klinischen Symptomen und ist je nach Autor unterschiedlich. Im Falle dermatologischer Symptome wird ein Zeitraum von mindestens acht Wochen (OLIVRY et al., 2015) bis zehn Wochen (ROSSER JR, 1993) empfohlen. Bei gastrointestinalen Problemen wird eine Besserung der Symptome innerhalb von zwei Wochen erwartet. Der Eintritt einer Remission kann bei schwerwiegenden

intestinalen Entzündungen jedoch bis zu sechs Wochen dauern (MUELLER und UNTERER, 2018). Generell gibt es keine standardisierte Empfehlung über die Dauer einer Eliminationsdiät im Falle einer gastrointestinalen Symptomatik (MUELLER und UNTERER, 2018). In älteren Studien wurde eine Diät von zwei bis vier Wochen angestrebt (GUILFORD et al., 2001; SAUTER et al., 2006). Essenziell für eine erfolgreiche und aussagekräftige Eliminationsdiät ist die Compliance von Besitzer und Patient. In einer Studie von Tapp und Mitarbeitern brachen zehn von 28 Studienteilnehmern die Eliminationsdiät vor den angestrebten sechs bis acht Wochen ab (TAPP et al., 2002). Nach erfolgreicher Ausschlussdiät wird ein Provokationstest durchgeführt, bei welchem das alte Futter erneut gefüttert wird. Der Test ist notwendig, um sicherzugehen, ob eine Symptomverbesserung tatsächlich aufgrund der Diätumstellung stattfand und nicht aufgrund anderer potenzieller Änderungen in Therapie oder Umwelt (MUELLER und UNTERER, 2018). Als Futtermittel stehen für eine Eliminationsdiät drei verschiedene Optionen zur Wahl: selbstgekochtes Futter mit einer dem Patienten bislang unbekanntem Proteinquelle, kommerzielles Futter mit einer Proteinquelle oder ein kommerzielles hydrolysiertes Futter.

Eine selbstgekochte Eliminationsdiät besteht idealerweise aus einer Protein- und einer Kohlehydratquelle, die der Hund zuvor noch nicht erhalten hat. Die neue Diät sollte, um Verdauungsproblemen vorzubeugen, über mehrere Tage mit dem alten Futter verschnitten und dadurch eingeschlichen werden. Eine Studie zeigte, dass 95 % der selbstgekochten Diäten nicht bedarfsgerecht zusammengestellt sind (STOCKMAN et al., 2013). Diese Form der Diät sollte demnach ausschließlich der Diagnostik dienen und die Diät bei positivem Ansprechen nach dem Eliminationstrial durch einen Tierarzt angepasst werden. Für Hunde im Wachstum ist diese Form der Eliminationsdiät aufgrund der potenziell unausgewogenen Nährstoffe auch für einen kurzen Zeitraum nur bedingt geeignet. Alternativ zur gekochten Diät besteht die Möglichkeit des Fütterns einer BARF-Ration. BARF steht allgemein für „*Bones and Raw Food*“ und bedeutet eine Fütterung von rohem Fleisch und Knochen zusammen mit Gemüse und Obst sowie diverser Futterergänzungsmittel (SCHMIDT et al., 2018). Rohes Fleisch birgt ein erhöhtes Risiko für Kontaminationen mit pathogenen Keimen, Viren und Parasiten. Unter anderem zählen hierzu der kleine Hundebandwurm *Echinococcus granulosus*, der Einzeller *Neospora caninum* und bei Katzen ebenso *Sarcocystis* spp. und

Toxoplasma gondii (ESCCAP, 27.11.2020). Das *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites* (ESCCAP) empfiehlt daher ein Einfrieren des Fleisches bei -17° bis -20° C für mindestens eine Woche (ESCCAP, 27.11.2020). In einer vorläufigen Studie konnten in 80 % der BARF-Rationen auf Hühnchenbasis Salmonellen nachgewiesen werden, von denen eine potenziell zoonotische Gefahr ausgeht (JOFFE und SCHLESINGER, 2002). Zusätzlich zu rohem Geflügelfleisch sollte aufgrund einer potenziellen Kontamination mit suidem Herpesvirus 1 (SuHV-1, Aujeszkyvirus) und Nematoden der Art *Trichinella spiralis* auch vom Füttern von rohem Schweinefleisch abgesehen werden (FRANSSEN et al., 2017; MUELLER und UNTERER, 2018). Vorteil der selbstgekochten Eliminationsdiät im Vergleich zur kommerziellen Diät ist die kontrollierbare Zusammensetzung, da die Inhaltsstoffe anstandslos bekannt sein sollten.

Viele Futtermittelkonzerne bieten mittlerweile ausgewogene Fertigfutter mit Protein- und Kohlehydratquelle an, welche laut Hersteller für eine allergikergerechte Diät geeignet sein sollen. Es besteht jedoch das Risiko, dass Hunde auf ein Fertigfutter allergische Symptome entwickeln, obwohl die selben Inhaltsstoffe in einer selbstgekochten Ration toleriert werden (GASCHEN und MERCHANT, 2011). Es wird angenommen, dass durch die industrielle Verarbeitung von Futter die allergene Wirkung einiger Proteine erhöht werden kann (GUILFORD, 1994). Eine Kontamination mit Proteinen anderer Quelle als den auf dem Futter angegebenen oder die Beigabe von Zusatzstoffen mit potenziell allergener Wirkung kann desweitem nicht sicher ausgeschlossen werden (GASCHEN und MERCHANT, 2011). Raditic und Mitarbeiter testeten vier kommerziell erhältliche Hundetrockenfutter mittels ELISA auf deren enthaltene Proteine. Unter anderem enthielten drei von vier Futtern, welche Soja nicht unter den Inhaltsstoffen aufgelistet hatten, Soja in einem Gehalt von 8,5 ppm bis mehr als 25 ppm (RADITIC et al., 2011). Beim Menschen kann bereits eine Sojaproteinkonzentration von 10 ppm bei sojaallergischen Personen eine Reaktion auslösen (KOPPELMAN et al., 2004). Kritische Level an Allergenen sind beim Hund nicht erforscht. Auch Willis-Mahn und Mitarbeiter wiesen mittels ELISA in drei von vier frei verkäuflichen und vier von sieben veterinärmedizinischen als sojafrei deklarierten Trockenfuttern Soja nach (WILLIS-MAHN et al., 2014). Ricci und Mitarbeiter untersuchten ebenfalls zwölf Hundetrockenfutter auf deren

Inhaltsstoffe. Mittels PCR und Mikroskopie konnten in zehn von zwölf Diäten Knochenfragmente und DNA tierischen Ursprungs gefunden werden, welche auf der Verpackung nicht deklariert waren (RICCI et al., 2013). Kommerzielle Fertigfutter sollten im Rahmen einer Eliminationsdiät gut ausgewählt werden. Bei ausbleibender Besserung der Symptome unter einer Eliminationsdiät mit Fertigfutter, wird zum sicheren Ausschluss einer Allergie oder Unverträglichkeit zu einem erneuten Trial mit selbstgekochem Futter geraten (RICCI et al., 2013).

Unter einem hydrolysierten Futter versteht man eine Diät, bei welcher die Proteinquelle durch enzymatische Hydrolyse zu Peptiden niedrigen Molekulargewichts aufgeschlossen wurde (JACKSON et al., 2003). Eine antikörpermedierte Immunantwort ist von Proteinstruktur und -größe abhängig (MARKS et al., 2002). In einem Vergleich von herkömmlichem Hühnerprotein und Hühnerproteinhydrolysat bestand das Hydrolysat aus ca. 97 % Aminosäuren oder Peptiden kleiner 10 kDa, enthielt jedoch auch Rückstände größer 10 kDa. Mittels ELISA konnte bei 1 mg/mL Hydrolysat eine Antigenaktivität von 1,5 % im Vergleich zum herkömmlichen Protein ermittelt werden (CAVE und GUILFORD, 2004). Jackson und Mitarbeiter zeigten, dass 21 % der Hunde, welche hypersensitiv auf Soja und Mais reagierten durch eine hydrolysierte Diät mit ebendiesen Proteinquellen erneut allergische Symptome entwickelten, 79 % der Hunde bei einem Fütterungstrial mit dem selben Futter über zwei Wochen jedoch symptomfrei blieben (JACKSON et al., 2003). Während der enzymatischen Hydrolyse im Rahmen der Futtermittelherstellung kann es zur Präsentation von Antigen-Bindungsstellen kommen, die initial nicht exprimiert wurden und die allergene Wirkung des Proteins verstärken. Erst im weiteren Prozess der Hydrolyse wird dieser Effekt wieder reduziert (CAVE, 2006). Eine unzureichende Hydrolyse einzelner Proteine könnte unter anderem eine Erklärung dafür sein, dass manche Hunde auf hydrolysierte Diäten weiterhin mit allergischen Symptomen reagieren. Hydrolysierte Diäten sind aus diesem Grund vor allem für Hunde geeignet, welche vorher noch nicht sensibel auf das darin enthaltene Protein reagiert haben (OLIVRY und BIZIKOVA, 2010). Eine hydrolysierte Diät bei Hunden und Katzen mit chronischen Dünndarmsymptomen erwies sich in der Langzeittherapie als vorteilhaft (MANDIGERS et al., 2010b; MANDIGERS et al., 2010a). Vorteil einer hydrolysierten Diät gegenüber einer herkömmlichen kommerziellen Eliminationsdiät ist möglicherweise eine verzögerte oder ausbleibende Reaktion

des Immunsystems auf ein neues Protein bei intestinalen Erkrankungen mit Verlust der oralen Toleranz (CAVE, 2006).

1.5.2. Serumtest IgE

Viele veterinärmedizinische Privatpraxen bieten zur Abklärung einer potenziellen Futtermittelallergie Antikörper-Serumtests an. In der Humanmedizin kann der Ausschluss von spezifischen Serum-IgE-Antikörpern einen negativ prädiktiven Faktor darstellen, d. h. IgE-medierte allergische Reaktionen auf ein Lebensmittel relativ sicher ausschließen (SICHERER und SAMPSON, 1999; FOSTER et al., 2003). Ein positives Testergebnis wiederum hat eine niedrige Spezifität (SICHERER und SAMPSON, 1999). Mehrere Studien haben die Rolle von IgE-Antikörpern bei Hunden mit gastrointestinalen oder dermatologischen Symptomen untersucht. Foster und Mitarbeiter verglichen Serumkonzentrationen spezifischer Futter-IgG- und -IgE-Antikörper zwischen allergischen und gesunden Hunden. IgG- als auch IgE-Antworten konnten sowohl bei allergischen als auch bei gesunden Hunden ohne klinische Signifikanz nachgewiesen werden (FOSTER et al., 2003). Mehrere Faktoren, wie genetische Variationen der IgE-Exprimierung zwischen Hunderassen oder die Kontamination des Wirts mit gastrointestinalen Parasiten, beeinflussen vermutlich den Nachweis von IgE (FOSTER et al., 2003). Hardy und Mitarbeiter konnten außerdem starke Diskrepanzen in den Ergebnissen verschiedener Labore feststellen (HARDY et al., 2014). Serumproben von Hunden mit Futtermittelreaktionen wurden an zwei Referenzlabore geschickt und dort mittels kommerziell erhältlichem ELISA untersucht. Antikörpernachweise der gleichen Probe waren in Labor A teilweise 26-fach höher als in Labor B (HARDY et al., 2014). Die Studienlage zusammenfassend, wird die Serumtestung auf IgE-Antikörper aufgrund der zuvor beschriebenen fraglichen diagnostischen Relevanz sowie der starken Diskrepanzen der Testergebnisse aktuell nicht zur Aufarbeitung einer Futtermittelreaktion empfohlen.

1.5.3. Intradermaltest

Grundsätzlich stehen auf dem humanmedizinischen Markt mehrere Hauttests im Rahmen der Allergieabklärung zur Verfügung. Einer der häufiger angewandten Tests bei Verdacht auf eine Nahrungsmittelallergie ist der Pricktest, welcher erstmals von Ebruster 1959 beschrieben wurde (EBRUSTER, 1959). Mittels einer Lanzette werden geringe Mengen allergener Substanzen in die oberen

Hautschichten verabreicht. Bei allergischen Individuen werden durch die Aktivierung von sich auf Mastzellen befindlichen IgE-Antikörpern Histamine und andere Entzündungsmediatoren freigesetzt, welche wiederum zur Bildung von Erythemen und Quaddeln führen (HILL et al., 2004). Mittels Histamin als Positivkontrolle kann die Stärke der jeweiligen Reaktion vergleichend bewertet werden (RUËFF et al., 2010). In einer Studie von Čelakovská und Mitarbeitern lag die Spezifität des Pricktests beim Menschen je nach Nahrungsmittelallergen zwischen 87 % und 98 %, die Sensitivität zwischen 16 % und 69 % (ČELAKOVSKÁ et al., 2017). Sollte der Pricktest negativ ausfallen und dennoch ein Allergieverdacht bestehen, kann ein Intrakutantest durchgeführt werden. Bei diesem Testverfahren wird das Allergen mittels Tuberkulinspritze tiefer in die Dermis appliziert und das Ergebnis gleich dem des Pricktests interpretiert (RUËFF et al., 2010). Die Sensitivität und Spezifität von Intradermaltests bei Verdacht auf eine Futtermittelreaktion liegen beim Hund laut Studie bei 10 % und 96 %. (JEFFERS et al., 1991). In der Studie wird nicht genauer beschrieben, ob ein Pricktest oder Intrakutantest durchgeführt wurde. Testergebnisse von Intradermaltests beim Hund zeigten in zwei weiteren Studien eine niedrige Korrelation mit den Ergebnissen eines oralen Provokationstests bzw. einer Eliminationsdiät (KUNKLE und HORNER, 1992; ISHIDA et al., 2004). Kunkle und Horner testeten hundert allergische Hunde mittels Intradermaltest; 48 der Hunde reagierten auf mindestens ein Antigen positiv. Insgesamt erhielten dreißig der positiv getesteten Hunde eine Eliminationsdiät, auf welche wiederum drei Hunde ansprachen. Von 35 Hunden, welche im Intradermaltest keine Reaktion zeigten, sprachen sechs Hunde positiv auf eine Eliminationsdiät an (KUNKLE und HORNER, 1992). Anhand der genannten Studienergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass Intradermaltests keine zuverlässige Methode zur Diagnosestellung einer Futtermittelreaktion bei Hunden darstellen.

1.5.4. Patchtest

Bei einem alternativen Hauttest handelt es sich um den Patchtest (Epikutantest). In der Humanmedizin soll der Patchtest allergische Reaktionen vom Spättyp (Typ 4) detektieren, sowohl bei gastrointestinalen Symptomen als auch bei atopischer Dermatitis (STRÖMBERG, 2002; CANANI et al., 2007). Beim Test werden potenzielle Allergene mit einem Trägermedium vermischt und mittels Finn-Chamber oder eines alternativen Systems auf die intakte Haut aufgebracht und

fixiert (DARSOW et al., 1995). Die Testergebnisse werden nach mehreren Stunden bis Tagen abgelesen, mögliche positive Reaktionen sind Erythem- und Quaddelbildung, welche wiederum in verschiedene Abstufungen unterteilt werden (COCCO und SOLÉ, 2009). Beim Patchtest handelt es sich nicht um einen Standardtest in der Aufarbeitung von Nahrungsmittelallergien. Mehrere Studien halten den Test aber für eine vielversprechende Methode, um allergische Reaktionen vom Spättyp diagnostizieren zu können (COCCO und SOLÉ, 2009; BETHLEHEM et al., 2012). Bethlehem und Mitarbeiter evaluierten den Patchtest an 25 Hunden mit futtermittellossoziierten atopischer Dermatitis und elf Hunden ohne dermatologische oder gastrointestinale Symptome (BETHLEHEM et al., 2012). Als Testmedien zählten sechs verschiedene Fleischsorten in gekochter und roher Form sowie drei verschiedene Kohlehydratquellen. Die Ergebnisse wurden nach 24, 48 und 72 Stunden abgelesen. Alle bis auf einen Hund aus der Allergikergruppe entwickelten mindestens eine positive Reaktion, zwei der Kontrollhunde zeigten ebenfalls positive Reaktionen. Die meisten Reaktionen konnten nach 48 Stunden interpretiert werden, am häufigsten reagierten die Hunde auf Rindfleisch. Die Sensitivität lag bei 97 %, die Spezifität bei 89 % (BETHLEHEM et al., 2012). In einer Studie von Johansen und Mitarbeitern wurde der Patchtest in der Anwendung von Protein- und Kohlehydratquellen sowie kommerziell erhältlichem hydrolysierten Hundefutter als potenzielles Allergen verglichen (JOHANSEN et al., 2017). In die Studie inkludierten Hunde zeigten futtermittellossoziierte dermatologische und zum Teil gastrointestinale Symptome. Positive Reaktionen auf das hydrolysierte Futter waren zu gering und wurden nicht ausgewertet, die Sensitivität lag bei den Proteinquellen bei 100 %, bei den Kohlehydratquellen bei nur 70 %. Die Spezifität lag bei den Proteinquellen bei 69 %, bei den Kohlehydratquellen bei 83 %. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Patchtest eine gute Möglichkeit darstellen kann, eine geeignete Eliminationsdiät für den individuellen Patienten zu finden, als Diagnostikum für eine Futtermittelallergie jedoch ungeeignet ist (BETHLEHEM et al., 2012; JOHANSEN et al., 2017). Die beiden Studien betrachteten Hunde mit primär dermatologischen Symptomen, sodass abschließend nicht klar ist, ob und wie Hunde mit alleiniger gastrointestinaler Symptomatik auf den Patchtest reagieren.

1.5.5. Lymphozytenproliferationstest

Beim Lymphozytenproliferationstest werden aufgereinigte mononukleäre Zellen

des peripheren Blutes des Patienten *in vitro* auf einem Nährmedium mit dem zu testenden Antigen vermischt. Im Anschluss wird radioaktives Thymin hinzugegeben und die Proliferationsrate der Lymphozyten mittels zellulärer Radioaktivität gemessen (HOFFMAN et al., 1997). Bei den proliferierenden Zellen handelt es sich um TH-Zellen, welche wiederum B-Zellen und T-Effektor-Zellen zur Produktion von IgE-Antikörpern anregen. Auf diese Weise wird eine allergische Reaktion vom Spättyp ausgelöst (NOMA et al., 1994). Studienergebnisse aus der Humanmedizin bezüglich der Sinnhaftigkeit des Lymphozytenproliferationstests zur Detektion von Nahrungsmittelallergien werden kontrovers diskutiert (ENDRE und OSVATH, 1975; SCHEINMANN et al., 1976; VAN SICKLE et al., 1985; KONDO et al., 1990; HOFFMAN et al., 1997). Vergleichend wurden in einer Studie von Ishida und Mitarbeitern Hunde mit diagnostizierter Futtermittelreaktion sowie gesunde Hunde mittels Lymphozytenproliferationstest evaluiert (ISHIDA et al., 2004). Neun von elf der erkrankten Hunde zeigten eine lymphozytäre Antwort und einen Stimulationsindex vereinbar mit einer Futtermittelallergie auf das getestete Antigen. Die gesunden Hunde hatten keinen Proliferationsindex, welcher mit einer positiven Immunantwort vereinbar wäre. Die Proliferationsindices der neun erkrankten Hunde mit Immunantwort normalisierten sich unter Remission der Symptome bei geeigneter Eliminationsdiät (ISHIDA et al., 2004). In einer Studie von Fujimura und Mitarbeitern wurde der Lymphozytenproliferationstest bei Hunden mit futtermittelassozierten Hautsymptomen, umweltassoziierter atopischer Dermatitis und gesunden Hunden verglichen (FUJIMURA et al., 2011). Der Test unterschied zuverlässig zwischen gesunden und erkrankten Hunden, jedoch nicht zwischen den Ursachen der Allergien. Im Vergleich mit einem IgE-Test wies der Lymphozytenproliferationstest mehr Futtermittelallergene nach. Sechs von 13 Hunden mit Futtermittelallergie erhielten im Anschluss an den Test eine Eliminationsdiät. Auch in dieser Studie fiel die lymphozytäre Proliferationsrate nach Remission der klinischen Symptome unter den diagnostischen Cut-Off-Wert (FUJIMURA et al., 2011). In einer weiteren Studie wurde eine größere Gruppe allergischer Hunde mittels Lymphozytenproliferationstest beprobt (KAWANO et al., 2013). 97 von 138 Hunden zeigten Reaktionen gegen spezifische Futtermittelallergene. Eine Eliminationsdiät basierend auf den Ergebnissen des Lymphozytenproliferationstests wurde leider nur bei zwölf Hunden durchgeführt, bei allen Hunden verringerte sich der klinisch manifeste Juckreiz unter der

Diätanpassung. Zusammenfassend scheinen die Resultate des Lymphozytenproliferationstests genauer als die des Serum-IgE-Tests zu sein, jedoch ersetzt auch dieser Test aufgrund falsch negativer Resultate keine Eliminationsdiät in der Diagnostik einer potenziellen Futtermittelreaktion. In der Auswahl einer geeigneten Eliminationsdiät könnte der Test hilfreich sein. Soweit bekannt ist der Lymphozytenproliferationstest aktuell nicht kommerziell erhältlich.

1.5.6. Speicheltest IgA und IgM

IgA wird in Plasmazellen überwiegend an Schleimhäuten gebildet und spielt dort eine zentrale Rolle in der Immunabwehr (UDRAITE-VOVK et al., 2019). Es ist das vorherrschende Immunglobulin der Körpersekrete und ist in Speichel, Tränenflüssigkeit, Bronchial- und Urogenitalsekreten, auf der Darmschleimhaut und in Muttermilch zu finden (RINK et al., 2012). IgM wird bei der primären Immunantwort als erstes gebildet und zeigt eine akute Infektion an (RINK et al., 2012). IgM ist vor allem im Blutkreislauf zu finden und spielt ebenfalls eine Rolle in der frühen Immunabwehr (VOVK et al., 2019). In der Humanmedizin konnte kein Zusammenhang zwischen IgA-Konzentrationen und dem Vorhandensein einer atopischen Dermatitis gefunden werden (SOLÉ et al., 1988; BÖTTCHER et al., 2003). Meinungen zum Speicheltest sind in der veterinärmedizinischen Literatur zwiesgespalten. Dodds und Mitarbeiter empfehlen den Speicheltest für futtermittelspezifische IgA- und IgM-Antikörper beim Hund (DODDS, 2014). Eine neuere Studie von Udraitte-Vovk und Mitarbeitern verglich den Speicheltest bei asymptomatischen und kranken Hunden. Letztere wurden unterteilt in Hunde mit Futtermittelreaktion, welche seit mindestens acht Monaten eine Eliminationsdiät gefüttert bekamen, und Hunde, welche am Anfang einer Eliminationsdiät standen (VOVK et al., 2019). Die Speichelproben wurden mittels kommerziell erhältlichem Testkit gewonnen und auf 19 potenzielle Allergene getestet. Die Sensitivität des IgA-Nachweises variierte je nach Gruppe zwischen 20 % und 50 %, die Spezifität zwischen 17 % und 58 %. Die Sensitivität des IgM-Nachweises variierte je nach Gruppe zwischen 0 % und 60 %, die Spezifität zwischen 34 % und 88 %. Etwa 10-30 % aller Hunde zeigten positive Reaktionen, gesunde und allergische Tiere konnten mittels des Tests nicht unterschieden werden. Gesunde Hunde zeigten mehr spezifische IgM-Reaktionen als allergische Hunde, für IgA-Antikörper war das Ergebnis umgekehrt. Positive Testergebnisse konnten eine Futtermittelreaktion bei Hunden nicht zuverlässig bestätigen, negative Ergebnisse wiederum eine

Reaktion auf ein bestimmtes Allergen nicht sicher ausschließen. Aufgrund der Ergebnisse können Speicheltests laut Autoren für die Diagnose einer Futtermittelreaktion nicht empfohlen werden (VOVK et al., 2019).

1.5.7. Epigenetischer DNA-Test

Eine Studie aus der Humanmedizin widerlegt die Aussagekraft und den diagnostischen Nutzen von Haarproben in der Allergiediagnostik (NIGGEMANN und GRÜBER, 2004). Auch in der Veterinärmedizin werden im Rahmen der ganzheitlichen Medizin nicht validierte Haaruntersuchungen mittels Bioresonanz- oder Biophotonenanalyse angeboten. Mittels dieser Tests sollen laut Anbieter nicht nur Allergien und Futtermittelbelastungen, sondern unter anderem auch psychische Belastungen und Organpathologien festgestellt werden. Coyner und Schick ließen Fell- und Speichelproben eines allergischen und eines gesunden Hundes sowie synthetische Fellproben eines Stofftieres und Leitungswasser unter mehreren Pseudonymen in einem Referenzlabor, welches einen Fell- und Speichelallergietest kommerziell anbot, analysieren (COYNER und SCHICK, 2019). Die Testresultate der Hunde sowie des synthetischen Fells waren dieselben, das synthetische Fell wurde zudem nicht als ebendieses erkannt (COYNER und SCHICK, 2019). Epigenetische DNA-Tests werden aus diesem Grund als seriöses Diagnostikum nicht empfohlen.

1.5.8. Gastroduodeno- und Kolonoskopie

Die gastrointestinale Endoskopie ist die am häufigsten angewandte Art der Endoskopie in der veterinärmedizinischen Praxis (CLARK, 2012). Die Gastroduodeno- und Kolonoskopie kann vor allem bei der Diagnosestellung gastrointestinaler morphologischer Pathologien wie Neoplasien, Ulzera und Obstruktionen hilfreich sein (NELSON und COUTO, 2010). Mittels endoskopischer Biopsie können Schichten aus Mukosa und, je nach Biopattiefe, Submukosa des Gastrointestinaltrakts entnommen werden (MANSELL und WILLARD, 2003). An ihre Grenzen stößt die Endoskopie bei Dünndarmabschnitten distal des Ileums, bei großen Hunden bereits beim Ileum selbst. Bei Pathologien, welche die Muskularis des Magen-Darm-Traktes betreffen, sind zudem chirurgische Volldarmbiopsien vorzuziehen. Histopathologisch kann nicht zwischen einer futtermittelresponsiven, einer antibiotikaresponsiven und einer steroidresponsiven Enteropathie unterschieden werden (MANSELL und

WILLARD, 2003). Bei Katzen ist die Unterscheidung gut differenzierter Lymphome und schwerer Entzündungen mittels endoskopischer Biopsie ebenfalls erschwert bis unmöglich (MANSELL und WILLARD, 2003). Zum Ausschluss möglicher Differenzialdiagnosen neben Allergien oder Intoleranzen ist die Endoskopie ein gut geeignetes und relativ wenig invasives Diagnostikum. Histopathologische Schweregrade einer chronischen Enteropathie stehen nicht zwangsläufig im Zusammenhang mit den klinischen Symptomen (WESTERMARCK, 2016). Zur Differenzierung verschiedener nichtinfektiöser Erkrankungen mit entzündlichem histopathologischem Erscheinungsbild ist die Endoskopie infolgedessen eher weniger geeignet. Beim *Gastroscopic Food-Sensitivity (GFS)*-Test werden Extrakte potenzieller Lebensmittelallergene im Rahmen einer Endoskopie direkt auf die Magenschleimhaut aufgetragen und die Reaktionen visuell evaluiert. Eine positive Reaktion kann sich durch eine lokale Schwellung der Schleimhaut, lokale oder generalisierte Schleimhauterytheme und Hyperperistaltik äußern. Symptome sollten nach wenigen Minuten sichtbar werden (GUILFORD et al., 1994). Grundlage des Tests ist eine IgE-medierte Reaktion vom Soforttyp sowie die Freisetzung von Histamin aus degranulierenden Mastzellen (REIMANN et al., 1985; ALLENSPACH et al., 2006). Eine Studie aus der Humanmedizin von Reimann und Mitarbeitern belegte eine gute Korrelation zwischen klinischen Symptomen und den Ergebnissen des *GFS*-Tests (REIMANN et al., 1985). Guilford und Mitarbeiter wandten den Test bei sechs gesunden und sechs atopischen Hunden an (GUILFORD et al., 1994). 29 von 102 (28 %) der Testapplikationen lösten in der atopischen Gruppe eine gastrale Reaktion aus, in der gesunden Gruppe war es eine von 43 (2 %). Eine transiente generalisierte Hyperämie wurde als physiologische Reaktion ohne diagnostischen Wert angesehen. Als positive Testreaktion wurden lediglich deutlich abgegrenzte Schleimhautschwellungen an der Stelle der Antigenapplikation gewertet, sodass nur 14 der insgesamt 145 durchgeführten Applikationen ein positives Testergebnis auslösten (GUILFORD et al., 1994). Vaden und Mitarbeiter untersuchten sechs Soft Coated Wheaten Terrier mit Proteinverlust-Enteropathie unter anderem mittels *GFS*-Test (VADEN et al., 2000). Die Autoren gehen davon aus, dass der Proteinverlust-Enteropathie der betroffenen Hunderasse Überempfindlichkeitsreaktionen auf Futtermittel zugrunde liegen. Nur 50 % der positiven Testresultate konnten mittels oralem Provokationstest bestätigt werden, falsch negative Resultate waren ebenfalls vertreten. Eine Alternative zum *GFS*-Test stellt der *Colonoscopic*

Allergen Provocation (COLAP)-Test dar. Bei diesem Test werden Antigenextrakte unter endoskopischer Kontrolle in die Mukosa des Colons injiziert. Eine positive Reaktion äußert sich in einer lokalen Schwellung und Rötung der Mukosa und wird je nach Ausmaß in verschiedene Grade eingeteilt (BISCHOFF et al., 1997a). Bischoff und Mitarbeiter untersuchten in einer humanmedizinischen Studie den *COLAP*-Test an siebenzig Patienten mit Verdacht auf allergisch bedingte gastrointestinale Symptome und an fünf gesunden Teilnehmern (BISCHOFF et al., 1997b). 97 von 210 (46 %) der in der Patientengruppe durchgeführten Allergentests lösten eine signifikante positive Reaktion aus, wohingegen keine positive Antigenreaktion in der Kontrollgruppe stattfand. In 56 % der getesteten Antigene wurde eine Übereinstimmung mit der Patientenanamnese gefunden, wohingegen 34 % der Antigenreaktionen falsch negativ und 10 % falsch positiv ausfielen (BISCHOFF et al., 1997b). Allenspach und Mitarbeiter untersuchten neun futtermittelallergische sowie fünf gesunde Hunde mittels *COLAP*-Test (ALLENSPACH et al., 2006). 29 von 63 (46 %) der durchgeführten Allergeninjektionen in der Allergieguppe führten zu einem positiven Ergebnis, jeder der Hunde zeigte eine Reaktion auf mindestens zwei Allergene. Keiner der gesunden Hunde zeigte eine positive Reaktion. Im Anschluss wurden 63 orale Provokationstests in der Patientengruppe durchgeführt und 23 positive Reaktionen beobachtet. Acht von neun der erkrankten Hunde zeigten mindestens eine positive Reaktion. 17 von 23 (74 %) der positiven Reaktionen des Provokationstests korrelierten mit den Ergebnissen des *COLAP*-Tests. Die Autoren konkludierten eine genauere Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des oralen Provokationstests und des *COLAP*-Tests als des *GFS*-Tests (ALLENSPACH et al., 2006). Müller und Olivry halten beide Tests aufgrund falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse für zu inakkurat, um sie für die Diagnosestellung einer Futtermittelreaktion bei Hunden zu empfehlen (MUELLER und OLIVRY, 2017).

1.6. Behandlung

In der Theorie ist die Therapie einer Futtermittelreaktion im Vergleich zu chronischen Enteropathien anderer Pathogenese einfach. Da Futtermittelreaktionen zu den futtermittelresponsiven Enteropathien zählen, ist das Füttern einer geeigneten Diät das Mittel der Wahl zur Vermeidung von Krankheitssymptomen (ALLENSPACH und GASCHEN, 2003a; ETTINGER et al., 2017). Die Herausforderung liegt darin, ein geeignetes Futter mittels Eliminationsdiät zu

determinieren und die passende Diät strikt einzuhalten (ALLENSPACH und GASCHEN, 2003a). Die kurzzeitige Gabe von Glukokortikoiden und Antihistaminika zu Beginn der Therapie kann anfängliche Symptome bei Hunden mit gastrointestinalen Symptomen und Urtikaria lindern (LUCKSCHANDER et al., 2006; ROSTAHER et al., 2017; MUELLER und UNTERER, 2018).

III. PUBLIKATION

Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea

Elisabeth Skotnitzki¹, Jan S. Suchodolski², Kathrin Busch¹, Melanie Werner¹,
Yury Zablotski¹, Bianca D. Ballhausen³, Felix Neuerer⁴, Stefan Unterer¹

¹Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary
Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

²Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences,
College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M
University, College Station, Texas, USA

³AniCura Clinic of Small Animal Medicine Haar, Haar, Germany

⁴Clinic of Small Animal Medicine Ismaning, Ismaning, Germany

Online veröffentlicht im „Journal of Veterinary Internal Medicine“ am 10.12.2021

<https://doi.org/10.1111/jvim.16312>




Received: 4 March 2021 | Accepted: 3 November 2021

DOI: 10.1111/jvim.16312

STANDARD ARTICLE

Journal of Veterinary Internal Medicine **ACVIM**
 American College of
 Veterinary Internal Medicine
 Open Access

Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea

Elisabeth Skotnitzki¹ | Jan S. Suchodolski²  | Kathrin Busch¹  |
 Melanie Werner¹  | Yury Zablotski¹ | Bianca D. Ballhausen³ | Felix Neuerer⁴ |
 Stefan Unterer¹

¹Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

²Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, Texas, USA

³AniCura Clinic of Small Animal Medicine Haar, Haar, Germany

⁴Clinic of Small Animal Medicine Ismaning, Ismaning, Germany

Correspondence

Stefan Unterer, Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany.
 Email: s.unterer@medizinische-kleintierklinik.de

Abstract

Background: Acute enteropathy is a trigger of chronic gastrointestinal (GI) disease in humans.

Objective: To report the prevalence of and explore possible risk factors for signs of chronic GI disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea (AHD).

Animals: One hundred and fifty-one dogs, 80 dogs with a historical diagnosis of AHD, 71 control dogs with no history of AHD.

Methods: In this retrospective longitudinal study, data were collected from dogs with a historical diagnosis of AHD and healthy controls matched by breed, age and sex, aged between 1 year and 15 years of age, for which a follow-up of at least 12 months after enrolment was available. Dog owners responded to a questionnaire to determine the history of signs of chronic GI disease.

Results: There was a higher prevalence of signs of chronic GI disease in the dogs with a previous episode of AHD compared to control dogs (AHD 28%; controls 13%; $P = .03$; odds ratio = 2.57; confidence interval [CI] 95% 1.12-6.31) over a similar observation time (median 4 years; range, 1-12 years).

Conclusions and Clinical Importance: Severe intestinal mucosal damage and associated barrier dysfunction might trigger chronic GI disease later in life.

KEYWORDS

AHDS, canine, enteropathy, HGE, IBD, intestinal

Abbreviations: AHD, acute hemorrhagic diarrhea; AHDS, acute hemorrhagic diarrhea syndrome; CADS-Index, Canine Acute Diarrhea Severity-Index; CE, chronic enteropathy; CI, confidence interval; CIBDAI, Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index; CPE, *Clostridium perfringens* enterotoxin gene; CPV, canine parvovirus; GI, gastrointestinal; HGE, hemorrhagic gastroenteritis; IBD, inflammatory bowel disease; IBS, irritable bowel syndrome; PI, postinfectious; qPCR, quantitative polymerase chain reaction; rRNA, ribosomal ribonucleic acid; T_{Reg}, regulatory T cells; WBC, white blood cells.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2021 The Authors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of American College of Veterinary Internal Medicine.

1 | INTRODUCTION

Acute enteropathy is a risk factor for development of chronic gastrointestinal (GI) disease in humans. Acute enteropathy could lead to an increased risk for chronic intestinal and extraintestinal disorders such as postinfectious (PI) irritable bowel syndrome (IBS),¹ inflammatory bowel disease (IBD)² and reactive arthritis.³ Data about long-term consequences of acute GI disorders in dogs are sparse. Puppies

surviving canine parvovirus (CPV) enteritis have an increased risk for developing chronic enteropathy (CE) later in life.⁴ A loss of tolerance to food components and altered intestinal microbiota after severe intestinal injury is a potential mechanism for development of CE.⁴ It is postulated that barrier dysfunction and dysbiosis during the acute phase of disease are factors responsible for sensitization of the immune system.^{5,6} During infancy and early childhood the immune system as well as the composition of the intestinal microbiome are immature.⁷⁻⁹ Therefore, young age might represent an additional risk factor for developing chronic disease.

An example for acute GI damage in adult dogs is acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS), which results in intestinal barrier dysfunction and dysbiosis. Characteristic histopathological findings in dogs with AHDS include severe lesions with destruction of intestinal villi and epithelial necrosis in the entire small and large intestine.¹⁰ According to recent findings, it seems likely that infection by *Clostridium perfringens* type A strains associated with release of NetF toxins, possibly in concert with other toxins such as NetE, NetG and *C. perfringens* enterotoxin gene (CPE), is responsible for the necrotic enterocolitis in many dogs with AHDS.¹¹ Moreover, dogs with AHDS have alterations in their microbiome.¹² Fecal samples analyzed by 16S rRNA gene sequencing and qPCR revealed increases in proportions for *C. perfringens*-like sequences as well as decreases in proportions for *Blautia* and *Turicibacter* spp.¹²

Although further studies are needed, we suspect that similar intestinal damage is present in other acute diseases leading to hemorrhagic diarrhea. Therefore, to assess the long-term impact of acute hemorrhagic diarrhea (AHD), longitudinal studies are warranted. This may allow future research on epidemiology, mechanisms, and possibly treatment to prevent development of signs of chronic GI disease. Therefore, the aim of this study was to investigate the prevalence of signs of chronic GI disease in dogs after an episode of AHD compared to that of a control group and to identify possible risk factors for a progression to chronicity.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study design

The study was designed as a retrospective longitudinal study. Data were collected from dogs that were presented with AHD. Control dogs, which had no reported previous signs consistent with AHD according to the owner, were matched by breed, sex, age and time of presentation. Dogs of both groups with a follow-up period of at least 1 year were identified by reviewing medical records from the Clinic of Small Animal Internal Medicine of the LMU Munich, Germany as well as of the Clinic of Small Animal Medicine Ismaning, Germany and the AniCura Clinic of Small Animal Medicine Haar, Germany from May 2006 to December 2018. Owners of dogs suitable for the study were contacted by telephone, and after giving consent to participate in the survey, a questionnaire was mailed. This study was approved by the ethics committee of the Centre of Veterinary Medicine, LMU Munich, Germany (approval number: 215-14-05-2020).

2.1.1 | AHD group

We searched our databases for dogs with the diagnosis “acute hemorrhagic diarrhea syndrome.” Dogs presenting with severe AHD were included in this group when no causes were identified and a provisional diagnosis of AHDS was made by the clinician. To detect underlying disorders for AHD, a CBC (79/80), biochemistry profile (70/80), fecal examination (flotation, Giardia ELISA; 52/80), abdominal sonography (44/80), abdominal x-ray (17/80), basal cortisol (7/80), coagulation times (24/80), and cPLi SNAP test (2/80) were performed. Dogs that received drugs potentially harmful to the intestinal mucosa (eg, NSAIDs, glucocorticoids) and with signs of chronic GI disease before the acute episode with hemorrhagic diarrhea were excluded. AHDS is still a diagnosis of exclusion and not every diagnostic test necessary to rule out other causes of AHD were performed consistently in every dog, we defined the included study sample as dogs with AHD.

2.1.2 | Control group

Dogs of the same sex and breed, with a similar age (± 1 year) presented for routine preventative health examinations, vaccinations, elective surgery or minor diseases in the same year (± 1 year) as the corresponding dogs with AHD were enrolled in the control group. These dogs were selected randomly but were not included if they had a history of AHD or signs of chronic GI disease before the matched time of presentation. Dogs receiving immunosuppressive drugs, including steroids, or antibiotics at the time of presentation were not included. For a few dogs (eg, rare breeds—see Supporting Information), no matched control dogs could be recruited.

2.1.3 | Questionnaire

The questionnaire comprised general questions such as age of the dog, origin of the animal, diet and wellness routines (vaccinations, deworming, etc) and specific questions regarding chronic GI disorders (see Supporting Information). The GI-related questions referred to the period with the most severe clinical signs of the chronic disease and were assessed by the Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI) according to Jergens and others.¹³ Chronic disease was defined as episodes of signs of GI disease that lasted longer than 3 weeks, or recurrent episodes after AHD which lasted longer than 3 days. An owner observation time of at least 1 year was required to identify the development of signs of chronic GI disease after an acute episode of AHD. The questionnaire was internally validated by testing comprehensibility in randomly chosen dog owners without a medical background and had been successfully used in a previous study.⁴

2.2 | Statistical analysis

Power analysis showed that a minimum of 60 dogs in each group were required to detect a clinically significant difference of 30% in the

TABLE 1 Comparison of baseline data between dogs with AHD and control group

Variable	AHD group (n = 80)	Control group (n = 71)	P value
Age at presentation (years)	Median 5 (range, 1-15)	Median 5 (1-15)	.55
Time span of observation (years)	Median 4 (1-12)	Median 4 (1-12)	.52
Sex			.44
Female	50% (n = 40)	56% (n = 40)	
Male	50% (n = 40)	44% (n = 31)	
Prevention of endoparasites			.37
Regularly	80% (n = 64)	87% (n = 62)	
Not regularly	18% (n = 14)	13% (n = 9)	
Unknown	2% unknown (n = 2)	0% unknown (n = 0)	

Abbreviation: AHD, acute hemorrhagic diarrhea.

prevalence of chronic disorders later in life with $P < .05$ and a power of $>90\%$. In order to assure the quality of the match between AHD and control groups, several variables were compared between these groups univariantly, namely, the breed using Fishers' exact test, sex and prevention of endoparasites using Pearson's chi-squared test, and age and time span of observation using Wilcoxon rank sum test. The confidence intervals (CIs) for the prevalence of having CE in AHD and control groups were calculated with the Wald method. The comparison of frequency of having CE between AHD and control groups ("groups" being 1 of 2 predictors) and sex ("sex" been the second predictor) was assessed with a multiple logistic regression. The difference in severity of the disease, expressed as a number (CIBDAI) on ordinal scale, between these 2 groups was studied by the Wilcoxon rank sum test. The influence of 5 variables (administration of antibiotics, duration of hospitalization, sex, age, leukocytes, albumin) on the risk of developing a chronic disease after an episode after AHD only in dogs with AHD (ie, only in AHD group, no control dogs in these models were present) was studied with multiple logistic regression. A manual backwards selection was applied to reduce the number of variables in the final model and to potentially improve the model fit. The models were compared using 3 performance quality indicators: Akaike's Information Criterion (AIC), Bayesian Information Criterion (BIC), and Tjur's R². Because of the absence of any significant improvement in model quality after backwards selection, the results of all 5 variables are presented in this paper. A potential collinearity among predictors was studied with variation inflation factor (VIF). A P value $<.05$ was considered significant. Power analysis was performed in Prism⁶, GraphPad, San Diego, all other statistical analyses by using R.

3 | RESULTS

3.1 | Comparison of baseline data between AHD and control group

One hundred and fifty-one completed questionnaires were available for final analysis, 80 questionnaires from the AHD group and 71 from the control group, respectively. The AHD group consisted of 65 purebred dogs, and the most represented breeds were Dachshund (n = 7),

Chihuahua (n = 5), and Yorkshire Terrier (n = 4). Fifteen dogs of the AHD group were mixed breed dogs. Median age at presentation was 5 years (range, 1-15), median time span of observation was 4 years (1-12). At the time of data acquisition 63 dogs were still alive. All 80 AHD dogs had presented with an acute onset of watery-bloody diarrhea and 74 dogs additionally had vomiting. In 54/80 dogs with AHD, treatment included administration of antibiotics: 44 with 1 single antibiotic of these 33 amoxicillin/clavulanic acid, 9 metronidazole, 1 amoxicillin, 1 tylosin. Seven dogs were treated with 2, 2 with 3 and 1 dog with 5 antibiotics.

Fifty-eight dogs of the control group were purebred, most represented breeds were Dachshund (n = 7) and Yorkshire Terrier (n = 4). Thirteen dogs were of mixed breed. Median age at presentation was 5 years (range, 1-15) and median observation time was 4 years (range, 1-12). The main reasons for presentation were orthopedic problems or elective surgery, for example, spaying (n = 26), routine preventative health examinations including vaccinations (n = 18), ophthalmologic problems (n = 8), or acute diseases excluding AHD (n = 19).

No significant differences with respect to sex, breed, median age at presentation, or median time span of observation were identified between the 2 groups (Tables 1 and 2).

3.2 | Comparison between the AHD and control groups

Twenty-two of 80 (28%; CI 95% 17.7-37.3) dog owners from the AHD group and 9/71 (13%; CI 95% 4.9-20.4) from the control group reported chronic or chronic recurrent signs of GI disease later in life, indicating a higher prevalence of chronic GI disorders in dogs after an episode of AHD ($P = .03$; odds ratio = 2.57; CI 95% 1.12-6.31). With specific reference to the severity of chronic disease, quantified by the CIBDAI, dogs with AHD had a similar disease activity (median 3; range, 1-12) compared to the control group (median 4; range, 1-10; $P = .93$; Figure 1). Nine of 22 dog owners from the AHD group reported an improvement of signs of GI disease with a change of diet, whereas 3 dogs were nonresponsive to a diet change. In 11 dogs, no elimination diet trial was performed. In the control group 2 of 9 dog owners reported an improvement of signs of GI disease with a change

TABLE 2 Breeds

Characteristic	Group		Total	P-value ^a
	AHD	Control		
Breed				>.9
Australian Shepherd	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Cairn Terrier	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Cavalier King Charles Spaniel	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Chihuahua	5 (62%)	3 (38%)	8 (100%)	
Collie	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Dachshund	7 (50%)	7 (50%)	14 (100%)	
Dalmatian	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Deutsch Drahthaar	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
French Bulldog	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
German Shorthaired Pointer	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Giant Schnauzer	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Golden Retriever	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Griffon	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Havanese	2 (40%)	3 (60%)	5 (100%)	
Hovavart	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	
Irish Setter	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	
Italian Greyhound	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Jack Russel Terrier	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Labrador	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Maltese	3 (60%)	2 (40%)	5 (100%)	
Mini Pinscher	1 (33%)	2 (67%)	3 (100%)	
Mini Schnauzer	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Mixed breed	15 (54%)	13 (46%)	28 (100%)	
Parson Russel Terrier	3 (60%)	2 (40%)	5 (100%)	
Pekingese	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Pinscher	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	
Pomeranian	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Poodle	2 (67%)	1 (33%)	3 (100%)	
Prague Rattler	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Pug	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Pumi	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Rhodesian Ridgeback	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Rottweiler	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Seguigo Italiano	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	
Shepherd	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)	
Shih Tzu	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Springer Spaniel	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Tibet Spaniel	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	
Yorkshire Terrier	4 (50%)	4 (50%)	8 (100%)	
Total	80 (53%)	71 (47%)	151 (100%)	

Abbreviation: AHD, acute hemorrhagic diarrhea.

^aFisher's exact test.

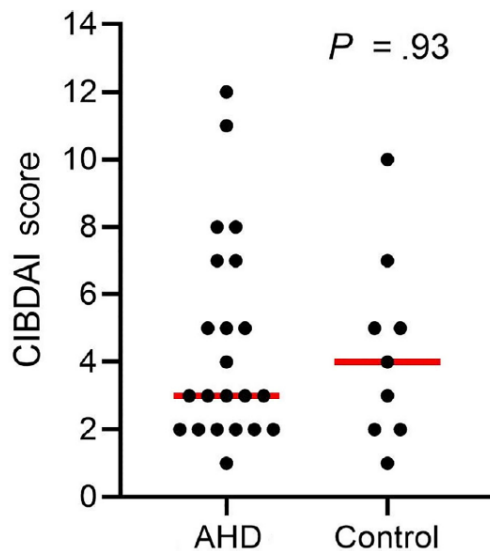


FIGURE 1 Comparison of the Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI) between dogs with AHD and control dogs. Red lines indicate the median. CIBDAI score was evaluated for the time point with the most severe clinical signs. AHD, acute hemorrhagic diarrhea

of diet, whereas 1 dog was nonresponsive to a diet change and in 6 dogs no elimination diet trial was performed.

3.3 | Risk factors for development of chronic diarrhea in dogs with AHD

No significant difference in the age at presentation for AHD between dogs with (median 5.5 years) and without development of signs of chronic GI disease (median 5 years) was observed ($P = .96$; Figure 2). In addition, in the group of dogs with AHD no association between the following investigated variables and an increased prevalence of signs of chronic GI disease later in life was identified: time of hospitalization ($P = .06$); administration of antibiotics during the episode of AHD ($P = .44$) and selected laboratory variables reflecting the severity of mucosal damage and systemic inflammatory response (number of white blood cell [WBC] $P = .65$, serum albumin level $P = .13$) recorded during hospitalization.

4 | DISCUSSION

The present study shows that dogs with a previous episode of AHD have an increased prevalence of signs of chronic GI disease later in life. This is in accordance with puppies surviving CPV infection, in which there is an increased risk for chronic GI disease.⁴

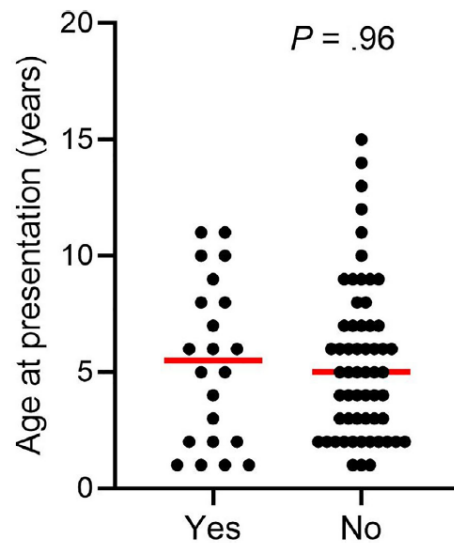


FIGURE 2 Age at the time of presentation for AHD in dogs with (yes) and without (no) development of signs of chronic GI disease later in life. Red lines indicate the median age. AHD, acute hemorrhagic diarrhea; GI, gastrointestinal

One major difference between dogs presented for CPV infection and dogs in our AHD group is the age at onset of the acute intestinal disease (median age: CPV 12 weeks vs AHD 5 years). Early life changes in the intestinal microbiota composition and diversity represent 1 mechanism that drives allergic diseases. In experimental studies using gnotobiotic mice, selective colonization of the intestinal tract has been demonstrated to protect against food allergen sensitization. In these same mice, antibiotic treatment enhances food allergen sensitization.¹⁴ Especially in early life a critical level of microbial diversity is required to induce an immunoregulatory network that protects from allergic disorders.¹⁵ In human medicine, there is a correlation between altered infant gut microbiome and childhood atopy or asthma,¹⁶ and there is an increased risk for allergies and autoimmune diseases after an early-life exposure to antibiotics.^{15,17,18} It is assumed that the human gut microbiome remains vulnerable until approximately 3 years of age, creating a so-called early life “window-of-opportunity.”¹⁷

While in a cohort of dogs with CPV infection the young age at the onset of an acute intestinal disorder might represent 1 factor increasing the risk for chronic diarrhea later in life, our study shows that the time point of an insult is not the only or main predisposing factor for chronic disorders later in life. Therefore, other mechanisms such as severity of intestinal barrier dysfunction, changes in the composition and function of the commensal microbiota, and the type of the infectious agent inciting acute enteropathy might also play a role.

In humans, IBS represents a frequently observed PI long-term sequelae. IBS is characterized by increased visceral hypersensitivity leading to chronic abdominal pain and altered intestinal motility resulting in either diarrhea or constipation without evidence of an

underlying disorder (eg, lactose intolerance, coeliac disease) and without evidence of damage or inflammation of the intestinal mucosa.¹⁹ The risk for IBS is higher in individuals exposed to infectious agents and moreover depends on the type of the causative agent. For example, in 1252 people with verified giardiasis the prevalence of PI-IBS is 47.9% (339/707) in the infected and only 14.3% (149/1042) in the control group.²⁰ This prevalence of long-term PI consequences after an acute giardiasis is much higher than the pooled prevalence of PI-IBS with 10.1%. In a meta-analysis comprising 21 421 humans, 42% develop IBS after diarrhea incited by protozoa or parasites and 14% by bacterial infection.¹ There is strong evidence that clostridial overgrowth and toxin release is responsible for the AHD in our dogs.²¹

Dogs with AHDS characteristically have mucosal necrosis over the entire length of the small and large intestine.²¹ Such severe destruction of the GI barrier, which is also suspected in our study sample, could enable the transmucosal translocation of bacteria and food antigens. It is hypothesized that allergens crossing the epithelial barrier trigger a breakdown of tolerance and this represents 1 main risk factor for developing food allergy.^{5,6} Nine of the 22 dogs in the AHD group, which developed chronic diarrhea, had a complete resolution of clinical signs on an elimination diet. This might indeed imply that barrier dysfunction in dogs with AHD represents a risk factor for developing food allergy in a subset of dogs. Unfortunately, the exact number of dogs with chronic diarrhea responding to a diet is unknown, because in half of the dogs with chronic diarrhea no diet trials were performed. It is also unknown if the dogs which responded to an elimination diet had a true hypersensitivity to food components or a nonimmunological condition.²²

Commensal bacteria are important to protect against food allergen sensitization.¹⁴ Bacterial products are taken up by colonic dendritic cells that induce differentiation of bacterial-specific regulatory T cells (T_{Regs}). These T_{Regs} migrate to all areas of the intestine, where they release Interleukin 10 to maintain a tolerogenic immune environment; which means tolerance to harmless bacteria and food components.²³ A relevant number of dogs with AHD have a dysbiosis mainly caused by the overgrowth of *C. perfringens*.^{10,12} Moreover, a large number of dogs with AHD are treated with broad-spectrum antibiotics, which additionally induces major shifts in the intestinal microbiota.²⁴ Dysbiosis associated with functional or immunological alterations (eg, reduced immunomodulatory secondary bile acids, short-chain fatty acids, indoles, and other immunomodulatory metabolites) could potentiate an allergic response.²⁵ No significant correlation between the use of antibiotics and the development of signs of chronic GI disease was detected in our study. However, the impact of alterations on the microbiome due to antibiotics depends on several factors including antibiotic spectrum, dosage, duration and administration route, the pharmacokinetics, and pharmacodynamic properties.²⁶

Children with food allergy have intestinal permeability that correlates positively with severity of symptoms.²⁷ We correlated variables potentially reflecting the severity of AHD and mucosal damage (eg, time of hospitalization, number of WBC, serum albumin concentration) with the prevalence of signs of chronic GI disease later in life but could not identify any additional risk factor.

This study has some limitations. First, AHDS is still a diagnosis of exclusion and the diagnostic tests were not performed identically in a standardized study design. Therefore, the term AHDS was not used for our sample group, although it was specifically searched for dogs with the diagnosis AHDS. However, the clinical sign "hemorrhagic diarrhea," reflecting severe intestinal mucosal damage, was present in every dog. Second, the limited number of dogs in specific subcategories (eg, dogs not administered antibiotics, dogs without abnormally high WBC) might be the reason that additional risk factors for progression to chronicity could not be identified. Third, the most important component (eg, severity of barrier dysfunction, intestinal dysbiosis, type of infectious agent) responsible for driving chronicity after an acute intestinal disease cannot be determined based on the design of our study. Nevertheless, the authors believe it can be concluded that dogs with AHD have an increased risk for signs of chronic GI disease later in life. A large number of dogs with chronic diarrhea after an episode with AHD will respond to elimination diets, which is essential information to convey to the owner in such cases. It is important to have data about long-term prognosis in dogs of AHD and this information should serve as the basis for further research to identify specific risk factors for progression to chronicity and to identify new treatment strategies.

ACKNOWLEDGMENT

No funding was received for this study. Presented at the 29th Annual ECVIM-CA Congress, September 19-21, 2019, Milano, Italy.

CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

Authors declare no conflict of interest.

OFF-LABEL ANTIMICROBIAL DECLARATION

Authors declare no off-label use of antimicrobials.

INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE (IACUC) OR OTHER APPROVAL DECLARATION


Approved by the ethics committee of the Centre of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany (approval number: 215-14-05-2020).

HUMAN ETHICS APPROVAL DECLARATION

Authors declare human ethics approval was not needed for this study.

ORCID

Jan S. Suchodolski  <https://orcid.org/0000-0002-2176-6932>

Kathrin Busch  <https://orcid.org/0000-0002-3107-2440>

Melanie Werner  <https://orcid.org/0000-0003-1284-2048>

REFERENCES

1. Klem F, Wadhwa A, Prokop LJ, et al. Prevalence, risk factors, and outcomes of irritable bowel syndrome after infectious enteritis: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017;152:1042-1054. e1041.
2. Garcia Rodriguez LA, Ruigomez A, Panes J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2006;130:1588-1594.

3. Ajene AN, Walker CLF, Black RE. Enteric pathogens and reactive arthritis: a systematic review of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella*-associated reactive arthritis. *J Health Popul Nutr.* 2013;31:299.
4. Kilian E, Suchodolski JS, Hartmann K, Mueller RS, Wess G, Unterer S. Long-term effects of canine parvovirus infection in dogs. *PLoS One.* 2018;13:e0192198.
5. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:3-12.
6. Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol.* 2012;5:232-239.
7. Johnson AMF, DePaolo RW. Window-of-opportunity: neonatal gut microbiota and atopy. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2017;6:190-192.
8. Nylund L, Satokari R, Salminen S, de Vos WM. Intestinal microbiota during early life—impact on health and disease. *Proc Nutr Soc.* 2014; 73:457-469.
9. Blake AB, Cigarroa A, Klein HL, et al. Developmental stages in microbiota, bile acids, and clostridial species in healthy puppies. *J Vet Intern Med.* 2020;34:2345-2356.
10. Unterer S, Busch K, Leipzig M, et al. Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med.* 2014;28:52-58.
11. Sindern N, Suchodolski JS, Leutenegger CM, et al. Prevalence of *Clostridium perfringens* netE and netF toxin genes in the feces of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med.* 2019; 33:100-105.
12. Suchodolski JS, Markel ME, Garcia-Mazcorro JF, et al. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2012;7:e51907.
13. Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, et al. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med.* 2003; 17:291-297.
14. Stefka AT, Feehley T, Tripathi P, et al. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc Natl Acad Sci.* 2014;111: 13145-13150.
15. Cahenzli J, Koller Y, Wyss M, et al. Intestinal microbial diversity during early-life colonization shapes long-term IgE levels. *Cell Host Microbe.* 2013;14:559-570.
16. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med.* 2016;22:1187-1191.
17. Hirsch AG, Pollak J, Glass TA, et al. Early-life antibiotic use and subsequent diagnosis of food allergy and allergic diseases. *Clin Exp Allergy.* 2017;47:236-244.
18. Roubaud-Baudron C, Ruiz VE, Swan AM Jr, et al. Long-term effects of early-life antibiotic exposure on resistance to subsequent bacterial infection. *mBio.* 2019;10(6):1-19.
19. Chey WD, Kurlander J, Eswaran S. Irritable bowel syndrome: a clinical review. *JAMA.* 2015;313:949-958.
20. Wensaas KA, Hanevik K, Hausken T, et al. Postinfectious and sporadic functional gastrointestinal disorders have different prevalences and rates of overlap: results from a controlled cohort study 3 years after acute giardiasis. *Neurogastroenterol Motil.* 2016;28: 1561-1569.
21. Leipzig-Rudolph M, Busch K, Prescott JF, et al. Intestinal lesions in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome associated with netF-positive *Clostridium perfringens* type A. *J Vet Diagn Invest.* 2018; 30:495-503.
22. Mueller R, Unterer S. Adverse food reactions: pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet J.* 2018;236:89-95.
23. Plunkett CH, Nagler CR. The influence of the microbiome on allergic sensitization to food. *J Immunol.* 2017;198:581-589.
24. Ortiz V, Klein L, Channell S, et al. Evaluating the effect of metronidazole plus amoxicillin-clavulanate versus amoxicillin-clavulanate alone in canine haemorrhagic diarrhoea: a randomised controlled trial in primary care practice. *J Small Anim Pract.* 2018;59:398-403.
25. Suchodolski JS. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet J.* 2016;215:30-37.
26. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology (Reading).* 2010;156:3216-3223.
27. Järvinen KM, Konstantinou GN, Pilapil M, et al. Intestinal permeability in children with food allergy on specific elimination diets. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24:589-595.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found in the online version of the article at the publisher's website.

How to cite this article: Skotnitzki E, Suchodolski JS, Busch K, et al. Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea. *J Vet Intern Med.* 2022;36(1):59-65. doi:10.1111/jvim.16312

IV. DISKUSSION

In der vorliegenden retrospektiven Kohortenstudie wurde zunächst untersucht, ob ehemals an AHD erkrankte Hunde ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome haben. Im Anschluss wurden potenzielle Risikofaktoren ermittelt, welche diese Chronizität auslösen könnten.

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass akute Enteropathien das Risiko für chronische intestinale und extraintestinale Erkrankungen erhöhen können (BUZBY et al., 1997; GARCIA RODRIGUEZ et al., 2006; AJENE et al., 2013; WENSAAS et al., 2016; KLEM et al., 2017). Auch Hunde haben nach einer Infektion mit caninem Parvovirus ein signifikant höheres Risiko für chronische Darmerkrankungen als gesunde Hunde (KILIAN et al., 2018). Bei der caninen Parvovirose handelt es sich um eine Jungtiererkrankung. Nicht bekannt ist bis jetzt, ob auch adulte Hunde nach einer akuten Enteropathie ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome entwickeln. Eine bessere Datenlage in diesem Themengebiet der Gastroenterologie kann zu einer genaueren Besitzeraufklärung und eventuell zu einer gesteigerten Besitzercompliance im Rahmen von Diagnostik und Therapie chronischer Symptome beitragen. Neue Erkenntnisse über AHD beim Hund und eine Risikoanalyse potenzieller chronischer Symptome können zudem als Grundlage weiterer Studien dienen. Behandlungsmethoden zur Prävention von Folgeerscheinungen könnten an Wichtigkeit gewinnen und mehr in den Mittelpunkt des veterinärmedizinischen Interesses rücken.

Im Rahmen dieser Studie, wurden Besitzer von ehemals an AHD erkrankten Hunden mittels Fragebogen zu Erkrankungen ihres Hundes befragt. Der detaillierte Fragebogen ist im Anhang unter Kapitel VIII aufgeführt. Die Hunde wurden mit der Diagnose „AHDS“ aus den Datenbanken der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München, der AniCura Tierklinik Haar und der Tierklinik Ismaning ermittelt. Der Zeitpunkt der Vorstellung war zwischen Mai 2006 und Dezember 2018. Da es sich beim AHDS des Hundes um eine Ausschlussdiagnose handelt, wird im Folgenden allgemeingefasster von AHD gesprochen, insofern andere potenzielle Ursachen für blutigen Durchfall nicht sicher auszuschließen sind. Der Beobachtungszeitraum wurde definiert als die Zeit

zwischen Vorstellung des Hundes mit AHD in der Klinik und Ausfüllen des Fragebogens durch den Hundebesitzer. Er musste zur Inklusion in die vorliegende Studie mindestens ein Jahr betragen. Es wurden Hunde aus der Probandengruppe exkludiert, welche bereits vor der Episode mit AHD chronische oder chronisch rezidivierende GI-Symptome hatten oder welche dauerhaft potenziell die Darmbarriere schädigende Medikamente enthielten.

Es wurden Hunde gleichen Alters, gleicher Rasse und gleichen Geschlechts, welche noch nie eine Episode mit AHD hatten, als Kontrollgruppe herangezogen. Diese wurden zufällig aus den Klinikdatenbanken ausgewählt. Sie durften nicht aufgrund schwerwiegender internistischer Erkrankungen vorstellig geworden sein und keine chronischen gastrointestinalen Symptome vor dem festgelegten Beobachtungszeitraum aufweisen. Auch hier wurde der Beobachtungszeitraum definiert als Zeit zwischen Vorstellung in der Klinik und Ausfüllen des Fragebogens durch den Hundebesitzer. Der mediane Beobachtungszeitraum beider Gruppen betrug insgesamt vier Jahre. Schlussendlich lagen achtzig ausgefüllte Fragebögen aus der AHD-Gruppe und 71 ausgefüllte Fragebögen aus der Kontrollgruppe zur Auswertung bereit.

Die Auswertung der Fragebögen bestätigte die Hypothese, dass Hunde nach einer Episode mit AHD (22/80, 28 %) ein signifikant höheres Risiko für chronische gastrointestinale Symptome haben als Kontrollhunde (9/71, 13 %).

Das AHDS beim Hund ist ein häufiger Vorstellungsgrund in der tierärztlichen Praxis (UNTERER et al., 2014; MORTIER et al., 2015). Gekennzeichnet ist die Erkrankung durch akutes Auftreten wässrig-blutigen Durchfalls, welchem oft Erbrechen vorausgeht (UNTERER et al., 2011). Diese Symptome decken sich mit den Inklusionsvoraussetzungen der AHD-Gruppe in der vorliegenden Studie. Weitere häufige Symptome bei Vorstellung sind Hypothermie und Abdominalschmerz (RÖDLER, 2016). Unbehandelt kann es je nach Schweregrad der Symptome durch den Flüssigkeitsverlust zu Dehydratation und infolgedessen hypovolämischem Schock kommen. Seltene Komplikationen sind zudem eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), eine Sepsis oder eine akute Pankreatitis (UNTERER und HARTMANN, 2009). Ursprünglich wurde das AHDS als hämorrhagische Gastroenteritis (HGE) bezeichnet (BURROWS, 1977). Da histologisch jedoch keine Entzündungsreaktion im Darm festgestellt werden konnte und der Magen nicht am Krankheitsprozess beteiligt ist, wurde die HGE in AHDS

umbenannt (UNTERER et al., 2014).

Prinzipiell gibt es für das Entstehen eines AHDS keine bewiesene Rasse-, Alters- oder Geschlechtsprädisposition. Kleine Rassen sowie mittelalte Hunde scheinen jedoch häufiger betroffen zu sein (BURROWS, 1977). In der vorliegenden Studie wurden Hunde im Durchschnitt mit fünf Jahren aufgrund einer Episode mit AHD vorstellig. Die Geschlechterverteilung war mit jeweils 50 % ausgeglichen. Eine Rasseprädisposition gab es keine, wobei die drei häufigsten repräsentierten Rassen der AHD-Gruppe (Dackel n = 7, Chihuahua n = 5, Yorkshire Terrier n = 4) übereinstimmend mit Burrows und Mitarbeitern den kleinen Hunden zuzuordnen sind.

Die Ätiologie des AHDS ist noch nicht vollständig geklärt. *C. perfringens*, vor allem Enterotoxin (CPE) und NetF-bildende Stämme, spielen vermutlich eine Rolle in der Pathogenese (GOHARI et al., 2015; SINDERN et al., 2019). Weitere in der Diskussion stehende Auslöser für das AHDS sind neben bakteriellen Endotoxinen Futtermittelallergien und Autoimmunreaktionen (LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018).

Weitere Erkrankungen, welche mit AHD einhergehen können, sind unter anderem infektiöse Gastroenteritiden, akute Pankreatitiden, metabolische Erkrankungen wie Hypoadrenokortizismus, mechanische Schleimhautschädigungen durch Fremdkörper oder Durchblutungsstörungen durch Invaginationen (UNTERER und HARTMANN, 2009). Für eine vollständige klinische Aufarbeitung und den Ausschluss anderer potenzieller Ursachen sind neben der allgemeinen klinischen Untersuchung folgende Untersuchungen sinnvoll: Blutbild und Serumchemie, Bestimmung der Gerinnungszeiten und des Basalcortisolspiegels, parasitologische und bakteriologische Untersuchung des Kots inklusive Giardien- und Parvovirus-Antigen-ELISA. Des Weiteren sollte zum Ausschluss fokaler intestinaler oder extraintestinaler Ursachen ein abdominaler Ultraschall durchgeführt werden (MORTIER et al., 2015). In der Realität werden in der tierärztlichen Praxis selten all diese Untersuchungen durchgeführt (UNTERER und HARTMANN, 2009). Auch in der vorliegenden Studie fand nicht bei allen Hunden der AHD-Gruppe eine vollständige klinische Aufarbeitung statt. Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns lagen Diagnostik sowie Therapie jeweils im Ermessen des ursprünglich behandelnden Tierarztes. Aufgrund des klinischen Symptoms wässrig-blutiger Durchfall mit oder ohne Erbrechen, wird jedoch bei allen Hunden der AHD-Gruppe von einer schwerwiegenden Schädigung der Darmbarriere

ausgegangen.

Aus der Humanmedizin sind Risikofaktoren, welche die Entstehung chronischer Erkrankungen nach akuter Enteropathie begünstigen, bekannt. Je nach Studie tragen Frauen ein höheres Risiko für ein postinfektiöses Reizdarmsyndrom nach akuter infektiöser Enteritis als Männer. Zudem können ein akuter schwerer Verlauf sowie die Einnahme von Antibiotika das Risiko für ein postinfektiöses Reizdarmsyndrom erhöhen (KLEM et al., 2017).

Im Folgenden soll auf mögliche Pathomechanismen eingegangen werden, welche im Rahmen eines AHDs Auslöser für chronische gastrointestinale Symptome sein können.

1. Schädigung der gastrointestinalen Barriere

Der hochgradige hämorrhagische Durchfall ist ein Symptom der akuten Schädigung der Darmbarriere. Nekrosen des Dün- und Dickdarms konnten bei Hunden mit AHD nachgewiesen werden (UNTERER et al., 2014). Endoskopisch wurden *intra vitam* bei Hunden mit AHD folgende Veränderungen beobachtet: ein hyperämischer, brüchiger Intestinaltrakt sowie intestinale Blutungen und Erosionen bzw. Ulzerationen (UNTERER et al., 2014). Unterer und Mitarbeiter halten im Falle eines AHDS Enterotoxine von *C. perfringens* als Auslöser für die intestinale Zerstörung am wahrscheinlichsten (UNTERER et al., 2014). Eine Migration der im Dickdarm natürlich vorkommenden Clostridien oder eine absteigende Infektion aus dem Magen mit anschließender Produktion von Toxinen könnten Erklärungen für das Auftreten der Erkrankung sein (LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018). Aufgrund der unbekanntem therapeutischen Relevanz wurde die Präsenz dieser Toxine in der Probandengruppe der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen. Andere Ursachen als *C.-perfringens*-Enterotoxine, welche die intestinale Barriere schädigen, können in dieser Studie nicht sicher ausgeschlossen werden. Weniger wahrscheinliche Ursachen für die intestinale Schädigung bei Hunden mit AHD sind unter anderem Ischämie (HAN et al., 1999) und Hyperthermie (GER et al., 1986).

Eine weitere Erkrankung beim Hund, welche mit hämorrhagischem Durchfall und einer schwerwiegenden Schädigung der Darmbarriere einhergeht, ist die canine Parvovirose. Betroffene Hunde haben nach überstandener Infektion ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome (KILIAN et al., 2018). Auch hier können schwerwiegende Nekrosen des Darmepithels nachgewiesen werden

(COOPER et al., 1979). Verantwortlich für die Läsionen sind die Parvoviren selbst (MACARTNEY et al., 1984).

Beim Menschen ist blutiger Stuhl ebenfalls ein negativer prognostischer Faktor für die Entwicklung eines postinfektiösen Reizdarmsyndroms (KLEM et al., 2017). Bestimmte Durchfallerreger des Menschen wie *C. perfringens* Toxin A sowie *Giardia lamblia* stören erwiesenermaßen die Integrität der intestinalen Barriere (HECHT et al., 1988; CHIN et al., 2002). Eine Erklärung für die Entstehung eines postinfektiösen Reizdarmsyndroms könnte auch hier also eine erhöhte intestinale Permeabilität sein.

Die intestinale Mukosa besitzt die Fähigkeit, sich nach akutem Trauma schnell zu regenerieren (ROBINSON et al., 1981). Die Zeit der Regeneration ist dabei abhängig von der Dauer der Noxe, sodass sich im Tierversuch das Ileum des Hundes nach einstündiger Ischämie innerhalb von einem Tag erholt. Nach zweistündiger Ischämie benötigt es bereits eine Woche für eine vollständige Regeneration (ROBINSON und MIRKOVITCH, 1972; ROBINSON et al., 1974). Das Colonepithel ist weniger anfällig für ischämische Noxen als das Dünndarmepithel, hat bei Schädigung jedoch eine längere Regenerationsphase (ROBINSON et al., 1981). Initiiert wird die Regeneration des Epithels durch die Kontraktion der Villi, um das Ausmaß der Oberflächenschädigung zu reduzieren. Anschließend findet eine Epithelzellmigration an den Ort der Schädigung und der Verschluss durchlässiger Interzellularstrukturen und Tight Junctions statt (BLIKSLAGER et al., 2007). Dieser akuten Phase der Regeneration folgt Stunden später die Kumulation von Kryptzellen, welche die abgestorbenen Darmzellen ersetzen (BLIKSLAGER et al., 2007). Eine schnelle Regeneration des Darmepithels ist essenziell, um die Migration von Bakterien und deren Toxinen aus dem Darm in den Körperkreislauf zu vermeiden (STONEY und CUNNINGHAM, 1993). Durch eine erhöhte intestinale Permeabilität wird auch proinflammatorischen Antigenen der Durchtritt durch die Mukosa erleichtert. Dies kann zu einer Überstimulation des Immunsystems und in Folge zu chronischen gastrointestinalen und systemischen Erkrankungen führen (FARHADI et al., 2003). Es ist nicht bekannt, inwiefern und wie schnell sich die intestinale Barriere bei Hunden mit AHDS erholt. Geht man von einer Korrelation der Integrität der intestinalen Barriere mit den klinischen Symptomen aus, so ist bei unkompliziertem Krankheitsverlauf mit drei bis vier Tagen zu rechnen (ZIESE et al., 2018).

Histopathologische Untersuchungen zum Verlauf und zur Regeneration der intestinalen Barriere nach überstandener AHDS sind allerdings keine bekannt. Eine nicht adäquate Regeneration der Darmschranke nach überstandener AHD beim Hund könnte eine Ursache für die Entstehung chronischer gastrointestinaler Symptome sein. Eine alternative Erklärung kann auch hier der Übertritt proinflammatorischer Antigene während der akuten intestinalen Schädigung und eine damit einhergehende Stimulation des Immunsystems sein. Um den genauen Pathomechanismus zu verstehen, welcher zu chronischen Symptomen führt, sind sicherlich weitere Follow-up-Studien an Hunden notwendig, welche nach AHD chronische gastrointestinale Symptome zeigen. Eine Duodeno- und Kolonoskopie sowie Biopsieentnahmen aus Dünn- und Dickdarm der betroffenen Tiere könnten Aufschluss über potenziell bleibende Schäden des Darmepithels liefern. Für die Tiermedizin könnten zudem aus der Humanmedizin diskutierte Testverfahren zur Evaluation der Darmpermeabilität interessant werden. Beispiele sind der Laktulose-Mannitol-Test (SEQUEIRA et al., 2014; HAGMAN et al., 2015) oder die Bestimmung des Serummarkers Zonulin (STURGEON und FASANO, 2016).

2. Dysbiose

Mehrere Mechanismen zur Entstehung chronischer Erkrankungen durch intestinale Dysbiosen sind beschrieben. Pathogene Keime oder opportunistisch pathogene Keime überwuchern im Darm und fördern durch ihre pathogenen Eigenschaften sowie Metabolite Krankheitsprozesse. Unter diese sogenannte Funktionsgewinn-Dysbiose fallen beim Menschen unter anderem Infektionen mit *C. difficile*, Cholera und Pneumokokken-Erkrankungen (MILLER et al., 2019; WILKINS et al., 2019).

In neun von zehn Hunden mit AHDS konnten adhäsive Clostridien nachgewiesen werden, welche eine Schicht auf den nekrotischen intestinalen Läsionen bildeten. Mittels bakterieller Kultur konnten diese Clostridien in sechs von neun Hunden als *C. perfringens* identifiziert werden (UNTERER et al., 2014).

C. perfringens ist Teil des intestinalen Mikrobioms bei gesunden Menschen und Tieren, außerdem ist es ubiquitär in der Umwelt anzufinden (NIILLO, 1980). Nichtsdestotrotz ist *C. perfringens* verantwortlich für eine Reihe histotoxischer Infektionen, Enteritiden und Enterotoxämien (GOHARI et al., 2015). Die Bakterienspezies gehört den *Clostridia*, Gram-positive stäbchenförmige obligat anaerob wachsende und Sporen bildende Bakterien. Eingeteilt wird *C. perfringens*

anhand seiner Virulenzfaktoren in die Toxintypen A bis G (BFR, 20.01.2022). Grundlage für die Unterteilung in die fünf Toxintypen A, B, C, D und E sind die sogenannten großen letalen Toxine alpha (CPA), beta (CPB), epsilon (ETX) und iota (ITX) und die Fähigkeit der Toxovare, diese in unterschiedlichen Kombinationen zu produzieren (PETIT et al., 1999). Rood und Mitarbeiter ergänzten die Toxintypen um die Typen F (CPE-produzierend, keine Produktion von CPB, ETX und ITX) und G (NetB-produzierend) (ROOD et al., 2018). Im Jahr 2015 konnte ein *C. perfringens* Typ A-Stamm aus einem an AHDS verstorbenen Hund und einem an nekrotisierender Enterokolitis verstorbenen Fohlen isoliert werden. Mittels Genomsequenzierung des kynologischen Isolats wurden drei neuartige Gene nachgewiesen, *netE*, *netF* und *netG*, welche porenformende Toxine, NetE, NetF und NetG exprimieren (GOHARI et al., 2015). Eine zytotoxische Aktivität konnte nur in *netF* nachgewiesen werden, sodass vor allem NetF-produzierenden *C. perfringens* eine Rolle in der Pathogenese des AHDS zugeschrieben wird. Durch den Nachweis von *cpe* in *netF*-positiven Stämmen wird vermutet, dass auch CPE eine Rolle bei der Entstehung des AHDS spielen könnte (GOHARI et al., 2015). Hunde mit AHDS mit oder ohne den Nachweis von CPE oder *cpe* haben jedoch keine signifikanten Unterschiede in klinischen Symptomen und Laborparametern, sodass CPE als Hauptursache für AHD unwahrscheinlich ist (BUSCH et al., 2015).

Der toxische Wirkmechanismus des CPE erfolgt durch Interaktion mit intestinalen Tight Junctions. Durch die Ausbildung transmembranöser Poren erhöht sich die epitheliale Permeabilität (MCCLANE, 1991). CPE ist beim Menschen unter anderem Auslöser für antibiotikaassoziierten Durchfall (ABRAHAO et al., 2001), Nahrungsmittelvergiftungen (LAHTI et al., 2008) und nosokomiale Durchfallerkrankungen (WATANABE et al., 2008). Der Pathomechanismus von NetF ist abschließend noch nicht geklärt (MEHDIZADEH GOHARI et al., 2018). Neben den großen Toxinen produziert *C. perfringens* eine Reihe kleiner nicht-letaler Toxine sowie Enzyme, deren Rolle im Rahmen der Virulenz noch nicht bekannt ist (MEHDIZADEH GOHARI et al., 2020).

Sindern und Mitarbeiter konnten mittels quantitativer PCR *netE* und *netF* in 48 % der Kotproben von Hunden mit AHDS, allerdings auch in 12 % der Kotproben gesunder Hunde nachweisen. Ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Erkrankung und dem Nachweis von *netE* und *netF* konnte nicht hergestellt werden

(SINDERN et al., 2019). Ein toxischer Insult als Ursache für die intestinalen epithelialen Läsionen bei Hunden mit AHDS ist jedoch wahrscheinlich (LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018).

Aufgrund der fraglichen klinischen Relevanz wurden bei Patienten der vorliegenden Studie keine Kotuntersuchungen auf toxinbildende *C. perfringens* durchgeführt. Weitere Studien sind notwendig, um einen potenziellen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen toxinbildender *C. perfringens* und einem Risiko für chronische gastrointestinale Symptome festzustellen.

Von einer Funktionsverlust-Dysbiose spricht man bei Depletion oder Suppression protektiver Bakterien und deren Funktion. Assoziiert wird diese Art der Dysbiose beim Menschen mit Erkrankungen und Symptomen wie IBD, Urolithiasis und Adipositas (WILKINS et al., 2019).

An Parvovirose erkrankte Hunde, aber auch Hunde mit akutem unkompliziertem Durchfall, weisen intestinale Dysbiosen auf (SUCHODOLSKI et al., 2012b; PARK et al., 2019). In Kotproben von Hunden mit AHD können besonders profunde Dysbiosen nachgewiesen werden (SUCHODOLSKI et al., 2012b).

Ermittelt wird der Grad der Dysbiose mittels des Dysbiose-Index (DI). Der DI beschreibt die Differenz der in einer Kotprobe vorkommenden Bakterien zu einem zuvor ermittelten normobiotischen Richtwert (ALSHAWAQFEH et al., 2017a). Im DI inkludierte bakterielle Taxa wurden in Vorgängerstudien mittels qPCR oder 16S rRNA-Gensequenzierung ermittelt. Das Vorkommen von *Faecalibacterium* spp., *Turicibacter* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Blautia* spp., *Fusobacterium* spp. und *C. hiranonis* ist im Rahmen einer Vielzahl gastrointestinaler Erkrankungen beim Hund verändert (XENOULIS et al., 2008; SUCHODOLSKI et al., 2010; SUCHODOLSKI et al., 2012a; SUCHODOLSKI et al., 2012b; HONNEFFER et al., 2014; MINAMOTO et al., 2014; ROSSI et al., 2014; GUARD et al., 2015; MINAMOTO et al., 2015; VÁZQUEZ-BAEZA et al., 2016; ALSHAWAQFEH et al., 2017b; ISIAIAH et al., 2017). Diese sieben bakteriellen Taxa sowie die totale Bakterienmenge werden zur Ermittlung des DI mittels qPCR gemessen und durch einen mathematischen Algorithmus in einen numerischen Wert umgewandelt. Ein $DI < 0$ beschreibt ein normobiotisches Mikrobiom, ein $DI > 0$ ein dysbiotisches Mikrobiom. Je höher der DI, desto stärker die Dysbiose (ALSHAWAQFEH et al., 2017a). Neben einem bereits beschriebenen vermehrten Vorkommen von *C.*

perfringens im Mikrobiom von Hunden mit AHD können auch vermehrt *Sutterella* spp. und *Fusobacterium* spp. nachgewiesen werden (SUCHODOLSKI et al., 2012b). *Sutterella* spp. werden in der Humanmedizin geringgradig proinflammatorische Eigenschaften zugeschrieben, zudem ist eine immunmodulatorische Eigenschaft in der Diskussion (HIIPPALA et al., 2016). *Actinobacteria*, *Firmicutes* (vor allem *Ruminococcaceae*, *Blautia* spp. und *Turicibacter* spp.) und *C. hiranonis* sind im Mikrobiom bei Hunden mit AHD in verminderter Anzahl nachzuweisen (SUCHODOLSKI et al., 2012b; ZIESE et al., 2018). *Turicibacter* spp. spielt eine Rolle in der Produktion der kurzkettigen Fettsäure Butyrat (SUCHODOLSKI et al., 2012b; ZHONG et al., 2015). Kurzkettige Fettsäuren tragen zur Aufrechterhaltung der Darmgesundheit bei. Neben der Bereitstellung von Energie aus unverdaulichen Kohlehydraten haben sie antientzündliche Eigenschaften. Sie regulieren die Darmmotilität und den intestinalen pH-Wert, welcher wiederum vor pH-sensitiven Enteropathogenen schützt (ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021). Ebenso können kurzkettige Fettsäuren Krankheiten wie Colitis ulcerosa, Diabetes mellitus Typ 2 und Adipositas beim Menschen vorbeugen (PRYDE et al., 2002; CANFORA et al., 2019). Der verringerte Nachweis von *Blautia* spp. wird beim Menschen mit negativen Effekten auf den Organismus assoziiert, wie einem negativ prognostischen Faktor bei Frühstadien von Brustkrebs (LUU et al., 2017). *Blautia* spp. ist zudem Teil des Glukosestoffwechsels und produziert Metabolite wie die kurzkettige Fettsäure Acetat (LIU et al., 2008). *C. hiranonis* wandelt primäre in sekundäre Gallensäuren um (KITAHARA et al., 2001). Sekundäre Gallensäuren haben unter anderem antiinflammatorische Eigenschaften (SINHA et al., 2020) und sind in der Lage, potenzielle Enteropathogene wie *C. perfringens*, *C. difficile* und *E. coli* zu hemmen (WANG et al., 2019). Die Kommensalen der intestinalen Mikrobiota produzieren eine Reihe weiterer Metaboliten, deren Signalwege durch akute Enteropathien beeinflusst werden können (SUCHODOLSKI et al., 2012b). Ein Beispiel ist Indol, welches antientzündliche Eigenschaften hat und zur Integrität der Darmbarriere beiträgt (ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021). Zellen des angeborenen Immunsystems sind in der Lage mit dem intestinalen Mikrobiom und Metabolom zu kommunizieren und deren Signale in einer Wirtsantwort umzusetzen (THAISS et al., 2016). Möglicherweise potenziert eine Dysbiose und die damit einhergehenden immunologischen Veränderungen das Risiko einer allergischen Reaktion im Rahmen eines AHDs und trägt somit zur Entstehung chronischer GI-

Symptome bei (SUCHODOLSKI, 2016). Eine Kombination aus Funktionsgewinn- und Funktionsverlust-Dysbiose ist beim Menschen mit rezidivierenden *C.-difficile*-Infektionen beschrieben (WILKINS et al., 2019). Hypothetisch könnte sie auch bei Hunden mit AHD in dieser Form eine Rolle für die Entstehung chronischer gastrointestinaler Symptome spielen.

Nachdem mögliche Ursachen für die Entstehung chronischer GI-Symptome nach AHD diskutiert wurden, werden im weiteren Verlauf potenzielle Risikofaktoren diskutiert, welche die Störung der GI-Barriere und eine Dysbiose beeinflussen können.

1. Einsatz von Antibiotika

Nicht nur der AHD selbst sorgt für Veränderungen des Mikrobioms, auch mögliche in der Therapie eingesetzte Antibiotika verursachen langanhaltende Dysbiosen. Menschen haben nach einer akuten infektiösen Enteritis ein signifikant höheres Risiko für die Entwicklung eines Reizdarmsyndroms, wenn zusätzlich Antibiotika eingenommen wurden (KLEM et al., 2017). Antibiotikaassoziierter Durchfall ist eine häufige Komplikation in der Humanmedizin und betrifft 5-20 % der mit Antibiotika behandelten Patienten (BERGOGNE-BEREZIN, 2000). Pathophysiologische Grundlage ist vor allem die Entstehung einer Dysbiose und die damit einhergehenden gestörten Stoffwechselwege der Mikrobiota sowie die begünstigte intestinale Vermehrung pathogener Keime (BERGOGNE-BEREZIN, 2000). Risikofaktoren zur Entstehung eines antibiotikaassozierten Durchfalls gehen zum einen vom Patienten selbst als auch vom Einsatz des Antibiotikums aus. Diese Risikofaktoren sind unter anderem: sehr junges oder hohes Alter des Patienten, schwerwiegende Erkrankungen und Dauer einer Hospitalisierung, Spektrum des Antibiotikums, Dauer der Einnahme und Kombination verschiedener Antibiotika (BERGOGNE-BEREZIN, 2000). Studien aus der Veterinärmedizin, welche einen Zusammenhang zwischen der Einnahme von Antibiotika und chronischen Erkrankungen beweisen, sind bisher keine bekannt.

Die Mehrzahl der Hunde (54/80) in der vorliegenden Studie wurde zum Zeitpunkt des AHDs mit Antibiotika behandelt. Das am häufigsten eingesetzte Antibiotikum war das Beta-Lactam-Antibiotikum Amoxicillin-Clavulansäure mit Breitbandaktivität, gefolgt von Metronidazol aus der Gruppe der Nitroimidazole. Es besteht kein signifikanter Unterschied in der Entwicklung chronischer GI-Symptome

zwischen Hunden, welche mit Antibiotika behandelt wurden und Hunden, welche kein Antibiotikum erhielten.

Eine klinische Studie von Werner und Mitarbeitern untersuchte den therapeutischen Einsatz von Amoxicillin-Clavulansäure bei Hunden mit akutem unkompliziertem Durchfall. Verglichen mit einer mit Placebo behandelten Kontrollgruppe, konnte in der Antibiotikagruppe kein signifikanter Unterschied im DI nachgewiesen werden (WERNER et al., 2020). Die Resultate dieser Studie decken sich mit den Ergebnissen aus der vorliegenden Studie, in welcher der Einsatz von Amoxicillin-Clavulansäure kein Risiko für Langzeitfolgen darstellt. Eine weitere Studie wiederum konnte einen Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Metronidazol und langanhaltenden Dysbiosen herstellen. Gesunde Hunde, welche mit Metronidazol behandelt wurden, zeigten einen signifikant erhöhten DI über mindestens vier Wochen (PILLA et al., 2020). Eine Studie aus der Humanmedizin konnte zudem beweisen, dass sich ein dysbiotisches Mikrobiom nach Einnahme einer Tripleantibiose innerhalb von sechs Monaten zwar weitestgehend erholen kann, die Diversität der Mikrobiota jedoch auch nach sechs Monaten noch deutlich reduziert ist (PALLEJA et al., 2018). Langzeitstudien zur Regeneration des caninen Mikrobioms nach akuter Dysbiose sind keine bekannt. Die genannten Studien legen jedoch nahe, dass die Art des Antibiotikums eine Rolle in der Entstehung anhaltender Dysbiosen sein kann.

2. Schweregrad des AHDs

Im Verlauf der vorliegenden Studie wurde versucht, mittels Dauer der Hospitalisierung sowie ausgewählter Laborparameter den Schweregrad des AHDs zu bestimmen. Die Anzahl der im Blut nachgewiesenen Leukozyten sowie der Serumalbumin-Spiegel sollten Rückschlüsse auf eine mögliche systemische Entzündung bzw. auf den Schweregrad der Schädigung der intestinalen Barriere zulassen. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Dauer der Hospitalisierung und einer chronischen Symptomatik festgestellt werden.

Laborparameter (Leukozyten, Albumin)

Die Höhe der Leukozyten im peripheren Blut kann Hinweise auf eine mögliche bakterielle Translokation aus dem GI-Trakt ins Blut geben. Leukozytosen beim Hund sind relativ unspezifisch, treten im Rahmen von Entzündungen jedoch häufiger bei systemischen als bei lokalen Prozessen auf (LABOKLIN, 18.05.2022).

Eine Leukozytose von > 25000 Zellen/ μL bzw. eine Leukopenie von < 6000 Zellen/ μL kann Anzeichen für ein systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (SIRS) bzw. eine Sepsis sein (UNTERER et al., 2015a). In der vorliegenden Studie konnte bei sechs von 79 (8 %) getesteten Hunden eine Leukopenie < 6000 Zellen/ μL nachgewiesen werden. Eine Leukozytose nach oben genannten Richtwerten konnte bei keinem der Hunde nachgewiesen werden. Ein direkt proportionaler Zusammenhang zwischen dem gemessenen Leukozytenwert und chronischen gastrointestinalen Symptomen besteht keiner.

Der Serumalbumin-Spiegel ist bei Hunden mit AHD durch einen intestinalen Plasmaproteinverlust signifikant niedriger als bei gesunden Hunden (MORTIER et al., 2015). Eine Hypalbuminämie aufgrund eines Proteinverlusts über den Darm ist Indikator für eine erhebliche Zerstörung der mukosalen Epithelschicht (UNTERER et al., 2015a). Definiert ist eine Hypalbuminämie beim Hund ab einem Albumin-Wert < 30 g/L, klinische Symptome werden in der Regel jedoch erst ab einem Albumin-Wert < 20 g/L sichtbar (SYNLAB, 28.04.2022; CONNER, 2017). In der vorliegenden Studie konnte bei zwanzig von siebenzig (29 %) der Hunde, bei welchen das Albumin ermittelt wurde, ein Wert < 30 g/L nachgewiesen werden, eine hochgradige Hypalbuminämie mit einem Wert < 20 g/L hatten jedoch nur zwei von siebenzig Hunden (3 %). Ein Zusammenhang zwischen einer Hypalbuminämie während der Episode mit AHD und chronischen gastrointestinalen Symptomen konnte somit nicht bewiesen werden.

3. Alter der betroffenen Hunde

In einer aktuellen Studie konnte ein Zusammenhang zwischen Hunden, welche im Welpenalter an Parvovirose erkrankt waren, und chronischen gastrointestinalen Symptomen gezogen werden (KILIAN et al., 2018). In dieser Studie konnte abschließend nicht geklärt werden, ob das junge Alter der betroffenen Hunde bei Vorstellung mit caninem Parvovirus (im Durchschnitt zwölf Wochen) einen Hauptrisikofaktor für die Entstehung der Chronizität darstellt. Die Hunde in der vorliegenden Studie waren bei Vorstellung mit AHD im Durchschnitt fünf Jahre alt. Für die Entstehung chronischer gastrointestinaler Symptome spielt das Alter hier keine signifikante Rolle. Das Alter bei Hunden, welche chronische GI-Symptome entwickelten, betrug bei Vorstellung mit AHD 5,5 Jahre. Hunde ohne chronische GI-Symptome wurden mit fünf Jahren vorstellig. Die Hypothese des immunologischen Fensters beim jungen Patienten scheint hier für die Entstehung

einer Chronizität keine Rolle zu spielen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass auch adulte Hunde nach akuter Enteropathie ein erhöhtes Risiko für chronische Erkrankungen haben, und decken sich mit Studien aus der Humanmedizin. Beispielsweise beträgt die Prävalenz für ein postinfektiöses Reizdarmsyndrom zehn Jahre nach einer Giardieninfektion altersunabhängig 43 % (LITLESKARE et al., 2018).

Ätiologie der chronischen GI-Symptome

Primäre chronische Enteropathien beim Hund können unterschiedlicher Genese sein. Diagnostiziert werden diese durch Ausschluss anderer infektiöser, neoplastischer oder endokrinologischer Erkrankungen sowie durch den histopathologischen Nachweis der Erkrankung selbst (EISSA et al., 2019). Immunmedierte oder nicht-immunmedierte Futtermittelunverträglichkeiten, chronisch entzündliche Darmerkrankungen und antibiotikaresponsive Enteropathien machen einen großen Teil der chronischen Enteropathien des Hundes aus. Differenziert werden diese Erkrankungen durch ihr unterschiedliches Ansprechen auf Therapien (ALLENSPACH et al., 2007). In der klinischen Studie von Allenspach und Mitarbeitern wurden Hunde mit chronischen Enteropathien im Durchschnitt mit 5,3 Jahren vorstellig (ALLENSPACH et al., 2007). Übereinstimmend wurden in einer Studie von Craven und Mitarbeitern Hunde mit IBD im Durchschnitt mit 4,3 Jahren vorstellig (CRAVEN et al., 2004). Das mediane Alter bei Vorstellung der Hunde mit AHD, welche chronische GI-Symptome entwickelten (5,5 Jahre), deckt sich mit den Ergebnissen dieser vorherigen Studien. In der hier vorliegenden Studie hatten neun von 22 Hunden (41 %), welche nach AHD chronische gastrointestinale Symptome entwickelten, eine vollständige klinische Remission nach Futterumstellung. Wie viele der Hunde tatsächlich eine futtermittelresponsive Symptomatik entwickelten, ist leider unklar, da bei etwa der Hälfte der betroffenen Hunde kein diätetisches Trial durchgeführt wurde. Bekannt ist, dass etwa die Hälfte der an einer primären Enteropathie erkrankten Hunde eine futtermittelresponsive Komponente haben (ALLENSPACH et al., 2016; VOLKMANN et al., 2017). In der Studie von Allenspach und Mitarbeitern waren die Symptome bei Hunden mit futtermittelresponsiver Enteropathie milder als bei Hunden mit Enteropathien anderer Genese (ALLENSPACH et al., 2007). In der vorliegenden Studie wurde der Schweregrad chronischer Symptome mittels des *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity*

Index (CIBDAI) nach Jergens und Mitarbeitern evaluiert. Anhand dieses Scoring-Index werden betroffene Hunde je nach Ausprägung chronischer GI-Symptome in Gruppen von eins bis vier eingeteilt, wobei der Schweregrad der Symptome in Gruppe eins am schwächsten ist und proportional zunimmt (JERGENS et al., 2003). Der Median der ehemals mit AHD vorstellig gewesenen Hunde als auch der Kontrollhunde lag bei chronischen GI-Symptomen in Gruppe eins (s. *Figure 1* Publikation). Chronische GI-Symptome nach AHD sind also als durchschnittlich mild zu interpretieren. Passend zur Studie von Allenspach und Mitarbeitern macht dies eine futtermittelresponsive Enteropathie auch bei den nicht getesteten Hunden wahrscheinlicher.

Limitationen

Die vorliegende Studie weist mehrere Limitationen auf. Eine nicht zu vernachlässigende Limitation ist, dass es sich bei dem AHDS um eine Ausschlussdiagnose handelt. Potenziell andere AHD-auslösende Krankheiten könnten aufgrund einer nicht standardisierten klinischen Aufarbeitung des AHD übersehen worden sein. Für die Fragestellung, ob AHD chronische Spätfolgen nach sich ziehen kann, spielt die Grunderkrankung jedoch keine tragende Rolle. Aufgrund des blutigen Durchfalls bei allen in der Studienpopulation inkludierten Hunden ist schlussendlich von einer schweren intestinalen Schädigung auszugehen.

Eine weitere Limitation ist die geringe Anzahl der Hunde in Unterkategorien, z. B. Hunde, welche ohne Antibiotika behandelt wurden. Es ist möglich, dass aufgrund der eher kleinen Studienpopulation und deren Unterkategorien Risikofaktoren für die Entwicklung chronischer gastrointestinaler Symptome übersehen wurden. Mit der vorliegenden Fragestellung konnte zudem nicht ermittelt werden, welcher Hauptrisikofaktor, z. B. Dysfunktion der intestinalen Barriere oder intestinale Dysbiose, chronische gastrointestinale Symptome fördert.

Die chronischen gastrointestinalen Symptome wurden rein durch die subjektive Einschätzung der Hundebesitzer definiert. Zur Objektivierung der Antworten wurden die Fragen (s. Anhang) jedoch entsprechend des validierten CIBDAI nach Jergens und Mitarbeitern formuliert (JERGENS et al., 2003). Fragen zu chronischen dermatologischen Symptomen oder chronischen Erkrankungen wurden aufgrund der Schwierigkeit der Objektivierung der Antworten nachträglich aus der Auswertung exkludiert.

Limitierend für die Risikobewertung von Antibiotika in der vorliegenden Studie ist der Einsatz unterschiedlicher Antibiotika, die Varianz der Anzahl der eingesetzten Antibiotika und deren Kombination sowie die unterschiedlichen Verabreichungswege (oral, intravenös, subkutan). Eine größere Studienpopulation könnte das Risiko von Antibiotika auf die Chronizität neu bewerten. Ein weiterer limitierender Faktor ist, dass der DI nicht standardmäßig im Rahmen der klinischen Aufarbeitung eines AHDs ermittelt wird, und somit keine Daten hinsichtlich einer Dysbiose für die Population der vorliegenden Studie vorhanden sind.

Einige der Besitzer, welche mit ihrem Hund ehemals in der Klinik aufgrund von AHD vorstellig geworden waren, konnten nicht mehr kontaktiert werden. Vor allem Besitzer, bei welchen der Zeitpunkt der Vorstellung schon lange zurücklag, waren unter den angegebenen Kontaktdaten nicht mehr erreichbar. Auch willigten vereinzelt Besitzer nicht in die Teilnahme an der Studie ein oder konnten sich an die Vorstellung in der Klinik nicht mehr erinnern. Durch eine geringe Rückläuferquote von Fragebögen entsteht das Risiko einer verzerrten Stichprobe (EBERT et al., 2018).

Schlussendlich lässt sich durch die vorliegende Studie nicht die Art der chronischen gastrointestinalen Erkrankung ermitteln. Bei einem Großteil der Hunde fand keine Aufarbeitung der chronischen GI-Symptome statt, sodass nicht zwischen intestinalen und extraintestinalen Ursachen, bzw. zwischen immunmedierten und nicht-immunmedierten Erkrankungen unterschieden werden kann.

Ausblick

Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Hunde nach einer Episode mit AHD ein erhöhtes Risiko für chronische GI-Symptome entwickeln können. Potenzielle Ursachen können die Schädigung der GI-Barriere durch Infektionserreger oder eingesetzte Medikamente, wie z. B. PPIs, oder eine intestinale Dysbiose durch die Erkrankung an sich, aber auch durch Antibiotika sein. Ein multifaktorielles Geschehen ist wahrscheinlich. Die vorliegende Studie zeigt ebenso, dass Hunde jeden Alters chronische GI-Symptome nach akuter Schädigung des Intestinaltrakts entwickeln können.

Strategien zur Vermeidung von Spätfolgen nach akuter Enteropathie sollten an Wichtigkeit gewinnen. Die Prävention langanhaltender Dysbiosen kann eine solche Strategie sein. Der Einsatz von Multistrain-Probiotika während einer akuten Phase

mit AHD führt zu einer schnelleren Regeneration des intestinalen Mikrobioms (ZIESE et al., 2018). In einer Studie von White und Mitarbeitern wurde bei Hunden mit IBD ein Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Multistrain-Probiotika und der gesteigerten Expression von *Tight-Junction*-Proteinen gestellt (WHITE et al., 2017). Somit können Probiotika ebenso zur Reperation der intestinalen Mukosa beitragen. Ein weiterer Ansatz zur Regeneration des intestinalen Mikrobioms sind Kottransplantationen. In einer aktuellen Studie zeigten an Parvovirose erkrankte Welpen, welche zusätzlich zu einer standardisierten Therapie mit Antibiotika eine Kottransplantation erhielten, eine schnellere Besserung des Durchfalls verglichen mit Hunden, welche nur die standardisierte Therapie erhielten (PEREIRA et al., 2018). Ähnlich hierzu wurden in einer weiteren Studie Hunde mit akutem unkompliziertem Durchfall mit Metronidazol oder Kottransplantationen behandelt. Die Hunde der Kottransplantationsgruppe zeigten eine signifikant schnellere Besserung der Kotkonsistenz im Vergleich zur Metronidazolgruppe sowie eine Normalisierung des intestinalen Mikrobioms. Die Hunde der Metronidazolgruppe wiesen vergleichend langanhaltende Dysbiosen auf (CHAITMAN et al., 2020). Randomisierte kontrollierte Studien zum Einsatz von Kottransplantationen bei Hunden mit AHD sind keine bekannt.

Eine weitere Strategie zur Vermeidung von Spätfolgen ist der gerichtete und limitierte Einsatz von Antibiotika. Der Einsatz von Antibiotika kann nicht nur zu intestinalen Dysbiosen führen, sondern erhöht auch das Risiko für Resistenzbildungen (WEESE et al., 2015). Das Kombinationspräparat Amoxicillin-Clavulansäure birgt bei Hunden mit akutem, nicht blutigem Durchfall keinen klinischen Vorteil gegenüber einem Placebo und begünstigt die Entstehung Amoxicillin-resistenter *E. coli* (WERNER et al., 2020). Beim akuten unblutigen Durchfall des Hundes handelt es sich meist um eine selbstlimitierende Erkrankung (LANGLOIS et al., 2020). Zudem haben Hunde mit AHDS im Vergleich zu gesunden Hunden kein erhöhtes Risiko einer Bakteriämie als Folge der massiven Schädigung der intestinalen Barriere (UNTERER et al., 2015b). Dies steht im Kontrast zu an caninem Parvovirus erkrankten Hunden, welche ähnliche intestinale Läsionen aufweisen, jedoch meist eine Sepsis entwickeln (GODDARD und LEISEWITZ, 2010). Der Antibiotikaeinsatz sollte auf infektiöse Enteritiden mit Anzeichen von systemischen Erkrankungen oder Sepsis limitiert werden (UNTERER et al., 2011; UNTERER et al., 2015b; SINGLETON et al., 2019;

WERNER et al., 2020).

Eine frühe enterale Ernährung hilft, die Integrität der Darmbarriere aufrechtzuerhalten (VELEZ et al., 1997). In einer Studie wurden an Parvovirose erkrankte Hunde untersucht, welche innerhalb von zwölf Stunden nach Einlieferung in die Klinik mittels nasoösophagealer Sonde ernährt wurden. Im Vergleich zu einer länger gefasteten Kontrollgruppe zeigte die Probandengruppe eine signifikant schnellere klinische Remission der Symptome. Ein Permeabilitätstest gab außerdem Hinweise auf eine bessere gastrointestinale Barriere der Probandengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (MOHR et al., 2003).

Die Art der Nahrung während des akuten Durchfalls könnte ebenfalls eine Rolle in der Prävention chronischer gastrointestinaler Symptome spielen. Eine hydrolysierte Diät während des AHDs könnte die Translokation proinflammatorischer Allergene aus dem Gastrointestinaltrakt vermindern. Studien hierzu sind jedoch bis dato keine bekannt. Auch die Zusammensetzung der Diät sollte an den akut veränderten Zustand des Gastrointestinaltrakts angepasst sein. Durch eine Malassimilation und Maldigestion von Proteinen, Kohlehydraten und Fetten im Rahmen einer Enteropathie werden beispielsweise die Alteration des intestinalen Mikrobioms, die Überwucherung pathogener Keime sowie die Entstehung proinflammatorischer Abbauprodukte getriggert (ZORAN, 2003).

Schlussendlich könnten Langzeitstudien helfen, Präventionsmaßnahmen zur Vermeidung chronischer gastrointestinaler Symptome nach AHD beim Hund festzulegen und die Prognose als auch die Aufklärung der Besitzer betroffener Hunde nachhaltig zu verbessern.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Akute Enteropathien sind Risikofaktoren für eine Vielzahl chronischer Erkrankungen beim Menschen. Auch Hunde haben nach überstandener Parvovirose im Welpen- bzw. Jungtieralter ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome. Langzeitfolgen akuter gastrointestinaler Erkrankungen beim adulten Hund sind bis jetzt nicht untersucht. Das akute hämorrhagische Durchfall-Syndrom (AHDS) stellt eine häufige Erkrankung in der tierärztlichen Praxis dar. Betroffen sind meist adulte, kleine bis mittelgroße Hunde. Die Symptome äußern sich in hochgradig blutig-wässrigem Durchfall sowie häufig zusätzlichem Erbrechen. Eine Rolle in der Pathogenese spielen Enterotoxine des Bakteriums *C. perfringens*. Der klinische Verlauf des AHDS ist akut und die Prognose in behandelten Fällen meist gut. Dysbiosen sowie intestinale Läsionen führen jedoch zu einer hochgradigen Schädigung der Barriere im gesamten Darmtrakt. Inwieweit sich der Intestinaltrakt nach überstandener Erkrankung regeneriert, ist nicht bekannt. Ein größeres Verständnis potenzieller Langzeitkonsequenzen von akutem hämorrhagischem Durchfall (AHD) kann zu einer verbesserten Aufklärung und Sensibilisierung betroffener Hundebesitzer führen. Behandlungsoptionen im Rahmen der Prävention chronischer gastrointestinaler Symptome können zudem an Aufmerksamkeit gewinnen und sich in der tiermedizinischen Praxis etablieren.

Ziel dieser Studie war es zu evaluieren, ob Hunde nach einer Episode mit AHD ein erhöhtes Risiko für chronische gastrointestinale Symptome aufweisen. Zudem sollten potenzielle Risikofaktoren untersucht werden, welche eine Chronizität begünstigen können. Repräsentativ wurden hierfür Hunde ausgewählt, welche aufgrund der Diagnose AHDS behandelt wurden. Bei AHDS handelt es sich um eine Ausschlussdiagnose. Da nicht bei jedem Hund der Studienpopulation derselbe Umfang an Diagnostik durchgeführt wurde, wird im Folgenden von AHD gesprochen. Mittels retrospektiver Datenakquirierung wurde eine Kohortenstudie erstellt. Inkludiert wurden Hunde, welche an der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, der Tierklinik Ismaning und der AniCura Tierklinik Haar aufgrund von AHD zwischen 2006 und 2018 vorgestellt wurden. Der Beobachtungszeitraum nach überstandenen AHD betrug mindestens ein Jahr. Hunde mit bereits vor der Episode mit AHD vorhandenen chronischen gastrointestinalen Symptomen und Hunde, welche potenziell die Darmbarriere

schädigende Medikamente erhielten, wurden exkludiert. Eine zufällig aus den Klinikdatenbanken gewählte Gruppe Hunde mit gleicher Rasse, gleichem Geschlecht und gleichem Alter wurde als Kontrolle herangezogen. Diese Hunde durften nicht aufgrund von AHD oder schwerwiegenden internistischen Erkrankungen vorstellig geworden sein. Der mediane Beobachtungszeitraum beider Gruppen (Vorstellung in der Klinik bis Beantwortung des Fragebogens) betrug vier Jahre.

In die Studienteilnahme einwilligende Besitzer erhielten einen Fragebogen. Dieser enthielt Fragen zu allgemeinen Haltungsumständen, wie Fütterung und Entwurmung, sowie zu chronischen gastrointestinalen, dermatologischen und weiteren potenziellen chronischen Erkrankungen. Viele der teilnehmenden Besitzer konnten den Beginn von dermatologischen oder sonstigen Erkrankungen zeitlich nicht mehr einordnen. Daher wurde der Schwerpunkt auf die Auswertung des gastrointestinalen Teils des Fragebogens gelegt. Zur Objektivierung der Besitzerantworten wurden die Fragen zu Magen-Darm-Erkrankungen angelehnt an den *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* (CIBDAI) formuliert.

Zur Auswertung lagen schließlich achtzig Fragebögen aus der AHD-Gruppe und 71 Fragebögen aus der Kontrollgruppe vor. Für Tiere hohen Alters oder für einige seltene Hunderassen konnte teilweise keine passende Kontrolle akquiriert werden. Hunde der AHD-Gruppe (22/80; 28 %; CI 95 % 17.7-37.3) zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe (9/71; 13 %; CI 95 % 4.9-20.4) ein signifikant erhöhtes Risiko, an chronischen oder chronisch rezidivierenden gastrointestinalen Symptomen zu erkranken ($P = .03$; odds ratio = 2.57; CI 95 % 1.12-6.31).

Im zweiten Teil der Studie wurden potenzielle Risikofaktoren ausgewertet, welche eine Chronizität triggern könnten. Inkludiert wurden folgende Variablen: Alter des Hundes bei Vorstellung mit AHD, Verabreichung von Antibiotika sowie, zur Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung, die Dauer der Hospitalisierung und ausgewählte Laborparameter (Anzahl der Leukozyten, Höhe des Serumalbuminlevels) während der Episode mit AHD. Es wurde kein Zusammenhang zwischen den untersuchten Variablen und dem Auftreten chronischer gastrointestinaler Symptome festgestellt.

Zusammenfassend bestätigt sich durch die vorliegende Studie die Hypothese, dass Hunde nach einer Episode mit AHD ein erhöhtes Risiko für chronische

gastrointestinale Symptome haben. Das Alter bei Auftreten der akuten Symptome spielt höchstwahrscheinlich eine Rolle in der Entstehung chronischer gastrointestinaler Symptome nach akutem Insult des Intestinaltrakts. Da adulte Hunde nach AHD altersunabhängig ein Risiko für chronische Symptome entwickeln, sind vermutlich auch weitere, bislang ungeklärte Risikofaktoren involviert. Mit diesem Studiendesign konnten diese Faktoren nicht evaluiert werden. Größere Kohortengruppen, eine standardisierte Therapie während des klinischen Aufenthaltes und eine standardisierte Dokumentation des akuten Krankheitsverlaufes, zum Beispiel mittels des AHDS-severity-Index, könnten Aufschluss über weitere mögliche Risikofaktoren geben.

VI. SUMMARY

Acute enteropathies are risk factors for the development of chronic disease in humans. Puppies and young dogs surviving an infection with canine parvovirus are prone for the development of chronic gastrointestinal signs as well. Data about long-term consequences after acute gastrointestinal disease in adult dogs is sparse. Acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) is a well-known and often seen disease in veterinary practice. It particularly affects adult, small to medium-sized dogs. Clinical signs are acute severe watery-bloody diarrhea with or without vomiting. Enterotoxins of *C. perfringens* play a role in the pathogenesis. The clinical course of AHDS is acute, the prognosis is good if treated correctly. However, dysbiosis and intestinal lesions lead to severe destruction of the intestinal tract. Knowledge about the intestinal tract's ability to regenerate after acute disease is sparse. An increased understanding of potential long-term consequences of acute hemorrhagic diarrhea (AHD) may lead to an improved dog owner education and sensitization. Furthermore, treatment options preventing chronic gastrointestinal signs could gain focus of veterinary practitioners' interest.

The aim of this study was to evaluate the risk of chronic gastrointestinal signs after an episode of AHD as well as to evaluate potential risk factors leading to chronicity. Dogs formerly receiving the diagnosis AHDS were included in the study sample. Since AHDS is still a diagnosis of exclusion and not every diagnostic test necessary to rule out other potential causes of AHD was performed in every dog, the study sample was defined as AHD-group. Dogs with a previous episode of AHD were included in this cohort study via retrospective data acquisition. Included dogs were presented to three small animal clinics with acute bloody diarrhea from 2006 to 2018: the Clinic of Small Animal Internal Medicine of the Ludwig-Maximilians-University Munich, the Clinic of Small Animal Medicine Ismaning and the AniCura Clinic of Small Animal Medicine Haar, all located in Germany. Dogs had a follow-up period after the AHD episode of at least one year. Dogs with chronic gastrointestinal signs prior to the episode of AHD and dogs regularly receiving drugs potentially harmful to the intestinal barrier were excluded. Randomly selected dogs with matching breed, sex and age were selected out of the clinical databases and served as control group. Dogs presenting with AHD or severe internal disease were not included as control. Median observation time of both groups was four

years (period between the time of enrollment and completion of the questionnaire).

Owners willing to participate in the study received a questionnaire. Questions concerned general data such as feeding and deworming management, as well as chronic gastrointestinal and dermatological signs and potential other disease. Because of difficulties for participating dog owners to remember time-points of onset of dermatological and other diseases, eventually focus was laid on gastrointestinal signs. To objectify owners' answers concerning gastrointestinal health of their dogs, questions were designed using the Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI).

Eighty questionnaires of the AHD-group and 71 questionnaires of the control group were ready for evaluation. For some elderly dogs as well as rare breed dogs, no fitting control could be found. Compared to the control group (9/71; 13 %; CI 95 % 4.9-20.4), dogs of the AHD-group (22/80; 28 %; CI 95 % 17.7-37.3) had a significantly increased risk for chronic or chronic recurrent gastrointestinal signs ($P = .03$; odds ratio = 2.57; CI 95 % 1.12-6.31).

In the second part of the study, we evaluated possible risk factors triggering chronic disease in the AHD group. Following variables were included: age of dog at time of presentation with AHD and administration of antibiotics. As a reflection of severity of the disease, time of hospitalization and selected laboratory parameters, such as number of white blood cells and serum albumin level, were included as well. No correlation between any of the variables and an increased risk for signs of chronic gastrointestinal disease could be found.

The results of this study confirm the hypothesis that dogs have an increased risk for chronic gastrointestinal signs after an episode with AHD. Age at timepoint of acute disease plays most likely a role in the development of chronic gastrointestinal signs after an insult to the GI tract. However, adult dogs independent of age have an increased risk for chronic signs after an episode of AHD as well. For this reason, other risk factors are likely to be involved as well. This study design could not determine any of these risk factors. Larger cohort studies, a standardized therapy of AHD as well as a standardized documentation of the clinical course, e.g., via AHDS severity index, could expose more information about processes driving chronicity.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Abrahamsson T, Jakobsson H, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm M. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clinical & Experimental Allergy* 2014; 44: 842-50.

Abraham C, Carman R, Hahn H, Liesenfeld O. Similar frequency of detection of *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxins in patients with antibiotic-associated diarrhea. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2001; 20: 676.

Ajene AN, Walker CLF, Black RE. Enteric pathogens and reactive arthritis: a systematic review of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella*-associated reactive arthritis. *Journal of health, population, and nutrition* 2013; 31: 299.

Ajslev T, Andersen C, Gamborg M, Sørensen T, Jess T. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *International journal of obesity* 2011; 35: 522-9.

Allam J-P, Novak N. Mukosale Homöostase und orale Toleranz. *Allergo Journal* 2013; 22: 317-23.

Allenspach K, Gaschen F. Chronische Darmerkrankungen beim Hund: Eine Übersicht. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2003a; 145: 209-22.

Allenspach K, Gaschen F. Chronic intestinal diseases in the dog: a review. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2003b; 145: 209-19, 21.

Allenspach K, Vaden S, Harris T, Gröne A, Doherr M, Griot-Wenk M, Bischoff S, Gaschen F. Evaluation of colonoscopic allergen provocation as a diagnostic tool in dogs with proven food hypersensitivity reactions. *Journal of Small Animal Practice* 2006; 47: 21-6.

Allenspach K, Wieland B, Gröne A, Gaschen F. Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007; 21: 700-8.

Allenspach K, Culverwell C, Chan D. Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases. *Veterinary Record* 2016; 178: 368-.

AlShawaqfeh M, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury J, Steiner J, Serpedin E, Suchodolski J. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS microbiology ecology* 2017a; 93: fix136.

Alshawaqfeh M, Bashaireh A, Serpedin E, Suchodolski J. Consistent metagenomic biomarker detection via robust PCA. *Biology direct* 2017b; 12: 1-16.

Barreau F, Hugot J. Intestinal barrier dysfunction triggered by invasive bacteria. *Current opinion in microbiology* 2014; 17: 91-8.

Bergogne-Berezin E. Treatment and prevention of antibiotic associated diarrhea. *International journal of antimicrobial agents* 2000; 16: 521-6.

Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Veterinary immunology and immunopathology* 2012; 145: 582-9.

BfR. 20.01.2022:

<https://www.bfr.bund.de/de/clostridien-54348.html>.

Bischoff S, Mayer J, Wedemeyer J, Meier P, Zeck-Kapp G, Wedi B, Kapp A, Cetin Y, Gebel M, Manns M. Colonoscopic allergen provocation (COLAP): a new diagnostic approach for gastrointestinal food allergy. *Gut* 1997a; 40: 745-53.

Bischoff SC, Mayer J, Meier PN, Zeck-Kapp G, Manns MP. Clinical significance

of the colonoscopic allergen provocation test. *International archives of allergy and immunology* 1997b; 113: 348-51.

Blake AB, Cigarroa A, Klein HL, Khattab MR, Keating T, Van De Coevering P, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS. Developmental stages in microbiota, bile acids, and clostridial species in healthy puppies. *Journal of veterinary internal medicine* 2020; 34: 2345-56.

Blikslager AT, Moeser AJ, Gookin JL, Jones SL, Odle J. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiological reviews* 2007; 87: 545-64.

Böttcher MF, Jenmalm MC, Björkstén B. Cytokine, chemokine and secretory IgA levels in human milk in relation to atopic disease and IgA production in infants. *Pediatric allergy and immunology* 2003; 14: 35-41.

Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell M. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal immunology* 2008; 1: 31-7.

Bryan J, Frank LA. Food allergy in the cat: a diagnosis by elimination. *Journal of feline medicine and surgery* 2010; 12: 861-6.

Burrows CF. Canine hemorrhagic gastroenteritis [Diseases of unknown etiology, dogs]. *Journal of The American Animal Hospital Association* 1977;

Busch K, Suchodolski J, Kühner K, Minamoto Y, Steiner J, Mueller RS, Hartmann K, Unterer S. *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxin A/B do not play a role in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Veterinary Record* 2015; 176: 253.

Buzby JC, Allos BM, Roberts T. The economic burden of *Campylobacter*-associated Guillain-Barre syndrome. *Journal of Infectious Diseases* 1997; 176: S192-S7.

Calabi F, Milstein C. A novel family of human major histocompatibility complex-related genes not mapping to chromosome 6. *Nature* 1986; 323: 540-3.

Canani RB, Ruotolo S, Auricchio L, Caldore M, Porcaro F, Manguso F, Terrin G, Troncone R. Diagnostic accuracy of the atopy patch test in children with food allergy-related gastrointestinal symptoms. *Allergy* 2007; 62: 738-43.

Canfora EE, Meex RC, Venema K, Blaak EE. Gut microbial metabolites in obesity, NAFLD and T2DM. *Nature Reviews Endocrinology* 2019; 15: 261-73.

Cave N, Guilford W. A method for in vitro evaluation of protein hydrolysates for potential inclusion in veterinary diets. *Research in veterinary science* 2004; 77: 231-8.

Cave N. Adverse food reactions. In: *Canine and Feline Gastroenterology*: Elsevier 2013: 398-408.

Cave NJ. Hydrolyzed protein diets for dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2006; 36: 1251-68.

Čelakovská J, Krcmova I, Bukac J, Vaneckova J. Sensitivity and specificity of specific IgE, skin prick test and atopy patch test in examination of food allergy. *Food and agricultural immunology* 2017; 28: 238-47.

Chaitman J, Ziese A-L, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, Isaiah A, Lidbury JA, Steiner JM, Unterer S. Fecal microbial and metabolic profiles in dogs with acute diarrhea receiving either fecal microbiota transplantation or oral metronidazole. *Frontiers in veterinary science* 2020; 7: 192.

Chase MW. Inhibition of experimental drug allergy by prior feeding of the sensitizing agent. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1946; 61: 257-9.

Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2005; 115: 3-12.

Chin AC, Teoh DA, Scott KG-E, Meddings JB, Macnaughton WK, Buret AG. Strain-dependent induction of enterocyte apoptosis by *Giardia lamblia* disrupts epithelial barrier function in a caspase-3-dependent manner. *Infection and immunity* 2002; 70: 3673-80.

Cianferoni A, Spergel JM. Food allergy: review, classification and diagnosis. *Allergology International* 2009; 58: 457-66.

Clark JC. Endoscopic Equipment for the Veterinary Practitioner. *Today's Veterinary Practice* 2012; 2: 20-5.

Cocco R, Solé D. Patch test in the diagnosis of food allergy. *Allergologia et immunopathologia* 2009; 37: 205-7.

Cohn Jr I, Heneghan JB. Germfree animals and technics in surgical research. *The American journal of surgery* 1991; 161: 279-83.

Conner BJ. Treating hypoalbuminemia. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2017; 47: 451-9.

Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nature reviews immunology* 2008; 8: 435-46.

Cooper B, Carmichael L, Appel M, Greisen H. Canine viral enteritis. II. Morphologic lesions in naturally occurring parvovirus infection. *The Cornell Veterinarian* 1979; 69: 134-44.

Coyner K, Schick A. Hair and saliva test fails to identify allergies in dogs. *J Small Anim Pract* 2019; 60: 121-5.

Craig J. Food intolerance in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 2019; 60: 77-85.

Craven M, Simpson J, Ridyard A, Chandler M. Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995–2002). *Journal of Small Animal Practice* 2004; 45: 336-42.

Cresswell P. Assembly, transport, and function of MHC class II molecules. *Annual review of immunology* 1994; 12: 259-91.

Crowe SE, Perdue MH. Gastrointestinal food hypersensitivity: basic mechanisms of pathophysiology. *Gastroenterology* 1992; 103: 1075-95.

Dandrieux JRS, Mansfield CS. Chronic enteropathy in canines: prevalence, impact and management strategies. *Veterinary Medicine: Research and Reports* 2019; 10: 203.

Darsow U, Vieluf D, Ring J. Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: an approach to standardization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1995; 95: 677-84.

de Vos WM, de Vos EA. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutrition reviews* 2012; 70: S45-S56.

Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011; 108: 4554-61.

Diab SS, Kinde H, Moore J, Shahriar M, Odani J, Anthenill L, Songer G, Uzal FA. Pathology of *Clostridium perfringens* type C enterotoxemia in horses. *Veterinary Pathology* 2012; 49: 255-63.

Dodds W. Food intolerance: diagnostic testing & dietary management. *Journal of*

the American Holistic Veterinary Medical Association 2014; 36: 36-42.

Ebert JF, Huibers L, Christensen B, Christensen MB. or web-based questionnaire invitations as a method for data collection: cross-sectional comparative study of differences in response rate, completeness of data, and financial cost. *Journal of medical Internet research* 2018; 20: e8353.

Ebruster H. The prick test, a recent cutaneous test for the diagnosis of allergic disorders. *Wiener klinische Wochenschrift* 1959; 71: 551-4.

Eissa N, Kittana H, Gomes-Neto JC, Hussein H. Mucosal immunity and gut microbiota in dogs with chronic enteropathy. *Research in veterinary science* 2019; 122: 156-64.

Endre L, Osvath P. Antigen-induced lymphoblast transformation in the diagnosis of cow's milk allergic diseases in infancy and early childhood. *Acta allergologica* 1975; 30: 34-42.

ESCCAP. 27.11.2020:

<https://www.esccap.de/empfehlung/helminthen/>.

Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E (2017) *Textbook of Veterinary Internal Medicine-eBook*, 8th edition. Elsevier health sciences

Farhadi A, Banan A, Fields J, Keshavarzian A. Intestinal barrier: an interface between health and disease. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2003; 18: 479-97.

Faria AM, Reis BS, Mucida D. Tissue adaptation: Implications for gut immunity and tolerance. *Journal of Experimental Medicine* 2017; 214: 1211-26.

Farquhar MG, Palade GE. Junctional complexes in various epithelia. *The Journal of cell biology* 1963; 17: 375-412.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary dermatology* 2010; 21: 23-31.

Foliaki S, Pearce N, Björkstén B, Mallol J, Montefort S, Von Mutius E, of Asthma IS, Group AiCPIS. Antibiotic use in infancy and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in children 6 and 7 years old: International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase III. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009; 124: 982-9.

Foster A, Knowles T, Moore AH, Cousins P, Day M, Hall E. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Veterinary immunology and immunopathology* 2003; 92: 113-24.

Frank DN, Amand ALS, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007; 104: 13780-5.

Franssen F, Swart A, van der Giessen J, Havelaar A, Takumi K. Parasite to patient: A quantitative risk model for *Trichinella* spp. in pork and wild boar meat. *International journal of food microbiology* 2017; 241: 262-75.

Friedman A, Weiner HL. Induction of anergy or active suppression following oral tolerance is determined by antigen dosage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1994; 91: 6688-92.

Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, Lin DL, Levan S, Fadrosch D, Panzer AR, LaMere B, Rackaityte E, Lukacs NW, Wegienka G, Boushey HA, Ownby DR, Zoratti EM, Levin AM, Johnson CC, Lynch SV. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med* 2016; 22: 1187-91.

Fujimura M, Masuda K, Hayashiya M, Okayama T. Flow cytometric analysis of

lymphocyte proliferative responses to food allergens in dogs with food allergy. *Journal of Veterinary Medical Science* 2011; 1106070537-.

Gaboriau-Routhiau V, Rakotobe S, Lécuyer E, Mulder I, Lan A, Bridonneau C, Rochet V, Pisi A, De Paepe M, Brandi G. The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity* 2009; 31: 677-89.

Garcia-Mazcorro JF, Suchodolski JS, Jones KR, Clark-Price SC, Dowd SE, Minamoto Y, Markel M, Steiner JM, Dossin O. Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS microbiology ecology* 2012; 80: 624-36.

Garcia Rodriguez LA, Ruigomez A, Panes J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 1588-94.

Garn H, Potaczek DP, Pfefferle PI. The hygiene hypothesis and new perspectives—Current challenges meeting an old postulate. *Frontiers in Immunology* 2021; 12: 847.

Gaschen FP, Merchant SR. Adverse food reactions in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2011; 41: 361-79.

Ger R, Ravo B, Harris M, Waxman M, Addei KA. Mucosal destruction and regeneration of the colon by local hyperthermia. *Diseases of the colon & rectum* 1986; 29: 177-81.

Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2010; 40: 1041-53.

Gohari IM, Parreira VR, Nowell VJ, Nicholson VM, Oliphant K, Prescott JF. A novel pore-forming toxin in type A *Clostridium perfringens* is associated with both

fatal canine hemorrhagic gastroenteritis and fatal foal necrotizing enterocolitis. *PLoS One* 2015; 10: e0122684.

Grønvold A-MR, L'Abée-Lund TM, Sørum H, Skancke E, Yannarell AC, Mackie RI. Changes in fecal microbiota of healthy dogs administered amoxicillin. *FEMS microbiology ecology* 2009; 71: 313-26.

Groschwitz KR, Hogan SP. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009; 124: 3-20.

Guard BC, Barr JW, Reddivari L, Klemashevich C, Jayaraman A, Steiner JM, Vanamala J, Suchodolski JS. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. *PLoS One* 2015; 10: e0127259.

Guard BC, Mila H, Steiner JM, Mariani C, Suchodolski JS, Chastant-Maillard S. Characterization of the fecal microbiome during neonatal and early pediatric development in puppies. *PLoS One* 2017; 12: e0175718.

Guarner F. Enteric flora in health and disease. *Digestion* 2006; 73: 5-12.

Guilford WG. Adverse reactions to foods: A gastrointestinal perspective. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)* 1994;

Guilford WG, Strombeck DR, Rogers Q, Frick OL, Lawoko C. Development of gastroscopic food sensitivity testing in dogs. *Journal of veterinary internal medicine* 1994; 8: 414-22.

Guilford WG, Jones BR, Markwell PJ, Arthur DG, Collett MG, Harte JG. Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. *Journal of veterinary internal medicine* 2001; 15: 7-13.

Hagman R, Rosberg P, Al-Saffar A, Luc-Webb D. A new test for canine intestinal mucosa permeability. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2015; 57: 1.

HAN Y-M, LEE J-M, JIN K-Y, LEE S-Y, KIM C-S. Embolization of superior mesenteric artery branches in dogs: ischemic bowel changes depend on location of vessel occlusion and embolic materials. *Investigative radiology* 1999; 34: 629.

Hardy JI, Hendricks A, Loeffler A, Chang YM, Verheyen KL, Garden OA, Bond R. Food-specific serum I g E and I g G reactivity in dogs with and without skin disease: lack of correlation between laboratories. *Veterinary dermatology* 2014; 25: 447-e70.

Heazlewood CK, Cook MC, Eri R, Price GR, Tauro SB, Taupin D, Thornton DJ, Png CW, Crockford TL, Cornall RJ. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis. *PLoS medicine* 2008; 5: e54.

Hecht G, Pothoulakis C, LaMont JT, Madara JL. Clostridium difficile toxin A perturbs cytoskeletal structure and tight junction permeability of cultured human intestinal epithelial monolayers. *The Journal of clinical investigation* 1988; 82: 1516-24.

Hertzen Lv. The hygiene hypothesis in the development of atopy and asthma--still a matter of controversy? *QJM: monthly journal of the Association of Physicians* 1998; 91: 767-71.

Higuchi K, Umegaki E, Watanabe T, Yoda Y, Morita E, Murano M, Tokioka S, Arakawa T. Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury. *Journal of gastroenterology* 2009; 44: 879-88.

Hiippala K, Kainulainen V, Kalliomäki M, Arkkila P, Satokari R. Mucosal prevalence and interactions with the epithelium indicate commensalism of *Sutterella* spp. *Frontiers in microbiology* 2016; 7: 1706.

Hill DJ, Heine RG, Hosking CS. The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy. *Pediatric allergy and immunology* 2004; 15: 435-41.

Hoffman KM, Ho DG, Sampson HA. Evaluation of the usefulness of lymphocyte proliferation assays in the diagnosis of allergy to cow's milk. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1997; 99: 360-6.

Honneffer JB, Minamoto Y, Suchodolski JS. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World journal of gastroenterology: WJG* 2014; 20: 16489.

Howell W, Turner S, O'B Hourihane J, Dean T, Warner J. HLA class II DRB1, DQB1 and DPB1 genotypic associations with peanut allergy: evidence from a family-based and case-control study. *Clinical & Experimental Allergy* 1998; 28: 156-62.

Igarashi H, Maeda S, Ohno K, Horigome A, Odamaki T, Tsujimoto H. Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs. *PLoS One* 2014; 9: e107909.

Imhann F, Bonder MJ, Vila AV, Fu J, Mujagic Z, Vork L, Tigchelaar EF, Jankipersadsing SA, Cenit MC, Harmsen HJ. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut* 2016; 65: 740-8.

Isaiah A, Parambeth JC, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *Anaerobe* 2017; 45: 50-8.

Ishida R, Masuda K, Sakaguchi M, Kurata K, Ohno K, Tsujimoto H. Antigen-specific histamine release in dogs with food hypersensitivity. *Journal of veterinary medical science* 2003; 65: 435-8.

Ishida R, Masuda K, Kurata K, Ohno K, Tsujimoto H. Lymphocyte blastogenic responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity. *Journal of veterinary internal medicine* 2004; 18: 25-30.

Jackson H, Jackson M, Coblenz L, Hammerberg B. Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Veterinary dermatology* 2003; 14: 181-7.

Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5: e9836.

Jeffers J, Shanley K, Meyer E. Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1991; 198: 245-50.

Jeffers JG, Meyer E, Sosis E. Responses of dogs with food allergies to single-ingredient dietary provocation. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1996; 209: 608-11.

Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, Niyo Y, Ahrens FE, Eckersall P, Benson TJ, Evans R. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003; 17: 291-7.

Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME journal* 2007; 1: 56-66.

Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology (Reading)* 2010; 156: 3216-23.

Joffe DJ, Schlesinger DP. Preliminary assessment of the risk of Salmonella infection in dogs fed raw chicken diets. *The Canadian Veterinary Journal* 2002; 43: 441.

Johansen C, Mariani C, Mueller RS. Evaluation of canine adverse food reactions

by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Veterinary dermatology* 2017; 28: 473-e109.

Johnson AMF, DePaolo RW. Window-of-opportunity: neonatal gut microbiota and atopy. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2017; 6: 190-2.

Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498: 99-103.

Kawano K, Oumi K, Ashida Y, Horiuchi Y, Mizuno T. The prevalence of dogs with lymphocyte proliferative responses to food allergens in canine allergic dermatitis. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2013.

Kennis RA. Food allergies: update of pathogenesis, diagnoses, and management. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2006; 36: 175-84.

Kilian E, Suchodolski JS, Hartmann K, Mueller RS, Wess G, Unterer S. Long-term effects of canine parvovirus infection in dogs. *PLoS One* 2018; 13: e0192198.

Kitahara M, Takamine F, Imamura T, Benno Y. *Clostridium hiranonis* sp. nov., a human intestinal bacterium with bile acid 7 α -dehydroxylating activity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001; 51: 39-44.

Klem F, Wadhwa A, Prokop LJ, Sundt WJ, Farrugia G, Camilleri M, Singh S, Grover M. Prevalence, Risk Factors, and Outcomes of Irritable Bowel Syndrome After Infectious Enteritis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* 2017; 152: 1042-54 e1.

Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, Flavell RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005; 307: 731-4.

Kondo N, Agata H, Fukutomi O, Motoyoshi F, Orii T. Lymphocyte responses to food antigens in patients with atopic dermatitis who are sensitive to foods. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1990; 86: 253-60.

Koppelman SJ, Lakemond CM, Vlooswijk R, Hefle SL. Detection of soy proteins in processed foods: literature overview and new experimental work. *Journal of AOAC International* 2004; 87: 1398-407.

Kunkle G, Horner S. Validity of skin testing for diagnosis of food allergy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1992; 200: 677-80.

Kwochka KW. Cutaneous Adverse Reactions to Foods Food Trials and Diet Options.

Laboklin. 18.05.2022:

<https://laboklin.com/en/laboklin-newsletters/details/article/diagnostisches-vorgehen-bei-leukozytosen/>.

Lahti Pi, Heikinheimo A, Johansson T, Korkeala H. Clostridium perfringens s Type A Strains Carrying a Plasmid-Borne Enterotoxin Gene (Genotype IS 1151-cpe or IS 1470-like-cpe) as a Common Cause of Food Poisoning. *Journal of clinical microbiology* 2008; 46: 371-3.

Lamont A, Mowat AM, Browning M, Parrott D. Genetic control of oral tolerance to ovalbumin in mice. *Immunology* 1988; 63: 737.

Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome medicine* 2016; 8: 1-16.

Langlois DK, Koenigshof AM, Mani R. Metronidazole treatment of acute diarrhea in dogs: a randomized double blinded placebo-controlled clinical trial. *Journal of veterinary internal medicine* 2020; 34: 98-104.

Leipig-Rudolph M, Busch K, Prescott JF, Mehdizadeh Gohari I, Leutenegger CM, Hermanns W, Wolf G, Hartmann K, Verspohl J, Unterer S. Intestinal lesions in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome associated with netF-positive *Clostridium perfringens* type A. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2018; 30: 495-503.

Leistra MH, Markwell PJ, Willemsse T. Evaluation of selected-protein-source diets for management of dogs with adverse reactions to foods. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2001; 219: 1411-4.

Litleskare S, Rortveit G, Eide GE, Hanevik K, Langeland N, Wensaas K-A. Prevalence of irritable bowel syndrome and chronic fatigue 10 years after *Giardia* infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2018; 16: 1064-72. e4.

Liu C, Finegold SM, Song Y, Lawson PA. Reclassification of *Clostridium coccoides*, *Ruminococcus hansenii*, *Ruminococcus hydrogenotrophicus*, *Ruminococcus luti*, *Ruminococcus productus* and *Ruminococcus schinkii* as *Blautia coccoides* gen. nov., comb. nov., *Blautia hansenii* comb. nov., *Blautia hydrogenotrophica* comb. nov., *Blautia luti* comb. nov., *Blautia producta* comb. nov., *Blautia schinkii* comb. nov. and description of *Blautia wexlerae* sp. nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2008; 58: 1896-902.

Ljunggren H-G, Kärre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology today* 1990; 11: 237-44.

Luckschander N, Allenspach K, Hall J, Seibold F, Gröne A, Doherr MG, Gaschen F. Perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibody and response to treatment in diarrheic dogs with food responsive disease or inflammatory bowel disease. *Journal of veterinary internal medicine* 2006; 20: 221-7.

Luu TH, Michel C, Bard J-M, Dravet F, Nazih H, Bobin-Dubigeon C. Intestinal proportion of *Blautia* sp. is associated with clinical stage and histoprognostic grade in patients with early-stage breast cancer. *Nutrition and cancer* 2017; 69: 267-75.

Mabry K, Hill T, Tolbert MK. Prevalence of gastrointestinal lesions in dogs chronically treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of veterinary internal medicine* 2021; 35: 853-9.

Macartney L, McCandlish I, Thompson H, Cornwell H. Canine parvovirus enteritis 1: Clinical, haematological and pathological features of experimental infection. *The Veterinary Record* 1984; 115: 201-10.

Mandigers P, Biourge V, Van Den Ingh T, Ankringa N, German A. A randomized, open-label, positively-controlled field trial of a hydrolyzed protein diet in dogs with chronic small bowel enteropathy. *Journal of veterinary internal medicine* 2010a; 24: 1350-7.

Mandigers P, Biourge V, German AJ. Efficacy of a commercial hydrolysate diet in eight cats suffering from inflammatory bowel disease or adverse reaction to food. *Tijdschr Diergeneeskd* 2010b; 135: 668-72.

Mansell J, Willard MD. Biopsy of the gastrointestinal tract. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2003; 33: 1099-116.

Mårild K, Ye W, Lebwohl B, Green PH, Blaser MJ, Card T, Ludvigsson JF. Antibiotic exposure and the development of coeliac disease: a nationwide case-control study. *BMC gastroenterology* 2013; 13: 1-9.

Marks SL, Laflamme DP, McAloose D. Dietary trial using a commercial hypoallergenic diet containing hydrolyzed protein for dogs with inflammatory bowel disease. *Vet Ther* 2002; 3: 109-18.

Martinez-Gonzalez I, Steer CA, Takei F. Lung ILC2s link innate and adaptive responses in allergic inflammation. *Trends in immunology* 2015; 36: 189-95.

Matsui H, Shimokawa O, Kaneko T, Nagano Y, Rai K, Hyodo I. The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced

mucosal injuries in stomach and small intestine. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 2011; 48: 107-11.

McCLANE BA. Clostridium perfringens enterotoxin: structure, action and detection. *Journal of food safety* 1991; 12: 237-52.

McGuckin MA, Eri R, Simms LA, Florin TH, Radford-Smith G. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases* 2009; 15: 100-13.

Mehdizadeh Gohari I, Brefo-Mensah EK, Palmer M, Boerlin P, Prescott JF. Sialic acid facilitates binding and cytotoxic activity of the pore-forming Clostridium perfringens NetF toxin to host cells. *PLoS One* 2018; 13: e0206815.

Mehdizadeh Gohari I, Unterer S, Whitehead AE, Prescott JF. NetF-producing Clostridium perfringens and its associated diseases in dogs and foals. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2020; 32: 230-8.

Meresse B, Ripoché J, Heyman M, Cerf-Bensussan N. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal immunology* 2009; 2: 8-23.

Miclard J, Jäggi M, Sutter E, Wyder M, Grabscheid B, Posthaus H. Clostridium perfringens beta-toxin targets endothelial cells in necrotizing enteritis in piglets. *Veterinary microbiology* 2009; 137: 320-5.

Miller AW, Orr T, Dearing D, Monga M. Loss of function dysbiosis associated with antibiotics and high fat, high sugar diet. *The ISME journal* 2019; 13: 1379-90.

Minamoto Y, Dhanani N, Markel ME, Steiner JM, Suchodolski JS. Prevalence of Clostridium perfringens, Clostridium perfringens enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Veterinary microbiology* 2014; 174: 463-73.

Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, Büyükleblebici O, Steiner JM, Jergens AE, Suchodolski JS. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut microbes* 2015; 6: 33-47.

Mohr AJ, Leisewitz AL, Jacobson LS, Steiner JM, Ruaux CG, Williams DA. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003; 17: 791-8.

Morafo V, Srivastava K, Huang C-K, Kleiner G, Lee S-Y, Sampson HA, Li X-M. Genetic susceptibility to food allergy is linked to differential TH2-TH1 responses in C3H/HeJ and BALB/c mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003; 111: 1122-8.

Mortier F, Strohmeyer K, Hartmann K, Unterer S. Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases. *Vet Rec* 2015; 176: 627.

Mosmann T, Coffman R. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annual review of immunology* 1989; 7: 145-73.

Mowat AM, Lamont AG, Bruce MG. A genetically determined lack of oral tolerance to ovalbumin is due to failure of the immune system to respond to intestinally derived tolerogen. *European journal of immunology* 1987; 17: 1673-6.

Mueller R, Jackson H. Atopy and food adverse reaction. *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*. Foster AP, Foil CS, eds. Quedgeley: British Small Animal Association 2003: 125-36.

Mueller R, Unterer S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *The Veterinary Journal* 2018; 236: 89-95.

Mueller RS, Olivry T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (4): can we diagnose adverse food reactions in dogs and cats with in vivo or in vitro tests? *BMC Veterinary Research* 2017; 13: 275.

Mueller RS, Olivry T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (6): prevalence of noncutaneous manifestations of adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Veterinary Research* 2018; 14: 1-5.

Murphy K, Weaver C. Das mukosale Immunsystem. In: Janeway Immunologie: Springer 2018: 641-91.

Nelson R, Couto C (2010) Innere Medizin der Kleintiere. Vol. 1, 2. Deutsche Aufl. Elsevier GmbH, Stuttgart: Urban & Fischer

Niggemann B, Grüber C. Unproven diagnostic procedures in IgE-mediated allergic diseases. *Allergy* 2004; 59: 806-8.

Niilo L. Clostridium perfringens in animal disease: a review of current knowledge. *The Canadian Veterinary Journal* 1980; 21: 141.

Noma T, Yoshizawa I, Maeda K, Baba M, Yata J. Initial events and T cell activation in lymphokine-mediated allergic responses in patients with hen egg allergy. *Annals of allergy* 1994; 73: 76-84.

Nylund L, Satokari R, Salminen S, de Vos WM. Intestinal microbiota during early life—impact on health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society* 2014; 73: 457-69.

Olivry T, Bizikova P. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary dermatology* 2010; 21: 32-41.

Olivry T, Mueller RS, Prélaud P. Critically appraised topic on adverse food

reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Veterinary Research* 2015; 11: 1-3.

Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol* 2012; 5: 232-9.

Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, Hansen TH, Liang S, Feng Q, Zhang C. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. *Nature microbiology* 2018; 3: 1255-65.

Park JS, Guevarra RB, Kim B-R, Lee JH, Lee SH, Cho JH, Kim H, Cho JH, Song M, Lee J-H. Intestinal microbial dysbiosis in Beagles naturally infected with canine parvovirus. 2019;

Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of medical microbiology* 2005; 54: 987-91.

Paterson S. Food hypersensitivity in 20 dogs with skin and gastrointestinal signs. *Journal of Small Animal Practice* 1995; 36: 529-34.

Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese J, Costa MC. Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2018; 32: 707-11.

Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular microbiology* 2014; 16: 1024-33.

Petit L, Gibert M, Popoff MR. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in microbiology* 1999; 7: 104-10.

Pilla R, Gaschen FP, Barr JW, Olson E, Honneffer J, Guard BC, Blake AB, Villanueva D, Khattab MR, AlShawaqfeh MK. Effects of metronidazole on the

fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2020; 34: 1853-66.

Pilla R, Suchodolski JS. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Frontiers in veterinary science* 2020; 6: 498.

Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS microbiology letters* 2002; 217: 133-9.

Raditic D, Remillard R, Tater K. ELISA testing for common food antigens in four dry dog foods used in dietary elimination trials. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 2011; 95: 90-7.

Rao A, Avni O. Molecular aspects of T-cell differentiation. *British medical bulletin* 2000; 56: 969-84.

Reimann HJ, Ring J, Ultsch B, Wendt P. Intra-gastral provocation under endoscopic control (IPEC) in food allergy: mast cell and histamine changes in gastric mucosa. *Clinical & Experimental Allergy* 1985; 15: 195-202.

Ricci R, Granato A, Vascellari M, Boscarato M, Palagiano C, Andrighetto I, Diez M, Mutinelli F. Identification of undeclared sources of animal origin in canine dry foods used in dietary elimination trials. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 2013; 97: 32-8.

Rigottier-Gois L. Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis. *The ISME journal* 2013; 7: 1256-61.

Rink L, Kruse A, Haase H (2012) *Immunologie für Einsteiger*, 1. Aufl. Springer

Robinson J, Mirkovitch V. The recovery of function and microcirculation in small intestinal loops following ischaemia. *Gut* 1972; 13: 784-9.

Robinson J, Haroud M, Winistorfer B, Mirkovitch V. Recovery of function and structure of dog ileum and colon following two hours' acute ischaemia. *European Journal of Clinical Investigation* 1974; 4: 443-52.

Robinson J, Mirkovitch V, Winistörfer B, Saegesser F. Response of the intestinal mucosa to ischaemia. *Gut* 1981; 22: 512.

Rödler F. Akutes hämorrhagisches Diarrhoesyndrom beim Hund—ein Überblick. *kleintier konkret* 2016; 19: 10-6.

Rood JI, Adams V, Lacey J, Lyras D, McClane BA, Melville SB, Moore RJ, Popoff MR, Sarker MR, Songer JG. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe* 2018; 53: 5-10.

Rosser Jr E. Diagnosis of food allergy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1993; 203: 259.

Rossi G, Pengo G, Caldin M, Palumbo Piccionello A, Steiner JM, Cohen ND, Jergens AE, Suchodolski JS. Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL# 3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2014; 9: e94699.

Rostaher A, Hofer-Inteeworn N, Kümmerle-Fraune C, Fischer NM, Favrot C. Triggers, risk factors and clinico-pathological features of urticaria in dogs—a prospective observational study of 24 cases. *Advances in Veterinary Dermatology* 2017; 8: 39-46.

Rüeff F, Bergmann K-C, Brockow K, Fuchs T, Grübl A, Jung K, Klimek L, Müsken H, Pfaar O, Przybilla B. Hauttests zur Diagnostik von allergischen Soforttypreaktionen. *Allergo Journal* 2010; 19: 402-15.

Sachs G, Shin JM, Briving C, Wallmark B, Hersey S. The pharmacology of the

gastric acid pump: the H⁺, K⁺ ATPase. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1995; 35: 277-305.

Salzman NH, Ghosh D, Huttner KM, Paterson Y, Bevins CL. Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin. *Nature* 2003; 422: 522-6.

Sauter S, Benyacoub J, Allenspach K, Gaschen F, Ontsouka E, Reuteler G, Cavadini C, Knorr R, Blum J. Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 2006; 90: 269-77.

Scheinmann P, Gendrel D, Charlas J, Paupe J. Value of lymphoblast transformation test in cow's milk protein intestinal intolerance. *Clinical & Experimental Allergy* 1976; 6: 515-21.

Schmidt M, Unterer S, Suchodolski JS, Honneffer JB, Guard BC, Lidbury JA, Steiner JM, Fritz J, Kölle P. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS One* 2018; 13: e0201279.

Sepahi A, Liu Q, Friesen L, Kim CH. Dietary fiber metabolites regulate innate lymphoid cell responses. *Mucosal immunology* 2021; 14: 317-30.

Sequeira IR, Lentle RG, Kruger MC, Hurst RD. Standardising the lactulose mannitol test of gut permeability to minimise error and promote comparability. *PLoS One* 2014; 9: e99256.

Sheikh A, Strachan DP. The hygiene theory: fact or fiction? *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 2004; 12: 232-6.

Sicherer SH, Sampson HA. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: pathophysiology, epidemiology, diagnosis, and management. *Journal of Allergy*

and *Clinical Immunology* 1999; 104: S114-S22.

Simpson KW, Jergens AE. Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2011; 41: 381-98.

Sindern N, Suchodolski JS, Leutenegger CM, Mehdizadeh Gohari I, Prescott JF, Proksch AL, Mueller RS, Busch K, Unterer S. Prevalence of *Clostridium perfringens* netE and netF toxin genes in the feces of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *Journal of veterinary internal medicine* 2019; 33: 100-5.

Singleton DA, Noble P, Sánchez-Vizcaíno F, Dawson S, Pinchbeck GL, Williams NJ, Radford AD, Jones PH. Pharmaceutical prescription in canine acute diarrhoea: a longitudinal electronic health record analysis of first opinion veterinary practices. *Frontiers in veterinary science* 2019; 6: 218.

Sinha SR, Haileselassie Y, Nguyen LP, Tropini C, Wang M, Becker LS, Sim D, Jarr K, Spear ET, Singh G. Dysbiosis-induced secondary bile acid deficiency promotes intestinal inflammation. *Cell host & microbe* 2020; 27: 659-70. e5.

Sobel J, Mixter CG, Kolhe P, Gupta A, Guarner J, Zaki S, Hoffman NA, Songer JG, Fremont-Smith M, Fischer M. Necrotizing enterocolitis associated with *Clostridium perfringens* type A in previously healthy North American adults. *Journal of the American College of Surgeons* 2005; 201: 48-56.

Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux J-J, Blugeon S, Bridonneau C, Furet J-P, Corthier G. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008; 105: 16731-6.

Sokol H, Seksik P, Furet J, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflammatory bowel diseases* 2009; 15: 1183-9.

Solé D, Zaha MM, Leser PG, Naspitz CK. Secretory IgA levels in normal and atopic individuals. Influence of breast and/or bottle feeding. *Allergologia et immunopathologia* 1988; 16: 385-92.

Stockman J, Fascetti AJ, Kass PH, Larsen JA. Evaluation of recipes of home-prepared maintenance diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2013; 242: 1500-5.

Stoney RJ, Cunningham CG. Acute mesenteric ischemia. *Surgery* 1993; 114: 489-90.

Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ: British Medical Journal* 1989; 299: 1259.

Strobel S, Ferguson A. Immune responses to fed protein antigens in mice. 3. Systemic tolerance or priming is related to age at which antigen is first encountered. *Pediatric research* 1984; 18: 588-94.

Strömberg L. Diagnostic accuracy of the atopy patch test and the skin-prick test for the diagnosis of food allergy in young children with atopic eczema/dermatitis syndrome. *Acta paediatrica* 2002; 91: 1044-9.

Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue barriers* 2016; 4: e1251384.

Suchodolski JS, Morris EK, Allenspach K, Jergens AE, Harmoinen JA, Westermarck E, Steiner JM. Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. *Veterinary microbiology* 2008; 132: 379-88.

Suchodolski JS, Dowd SE, Westermarck E, Steiner JM, Wolcott RD, Spillmann T, Harmoinen JA. The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity

in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. *BMC microbiology* 2009; 9: 1-16.

Suchodolski JS, Xenoulis PG, Paddock CG, Steiner JM, Jergens AE. Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary microbiology* 2010; 142: 394-400.

Suchodolski JS. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal of animal science* 2011; 89: 1520-30.

Suchodolski JS, Dowd SE, Wilke V, Steiner JM, Jergens AE. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PloS one* 2012a; 7: e39333.

Suchodolski JS, Markel ME, Garcia-Mazcorro JF, Unterer S, Heilmann RM, Dowd SE, Kachroo P, Ivanov I, Minamoto Y, Dillman EM. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2012b; 7: e51907.

Suchodolski JS. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet J* 2016; 215: 30-7.

Synlab. 28.04.2022:

https://www.synlab.de/fileadmin/user_vet/Bilder_Tier%C3%A4rzte_und_Fachkreise/Referenzwerte_hund_website_1.pdf.

Tang ML, Mullins RJ. Food allergy: is prevalence increasing? *Internal medicine journal* 2017; 47: 256-61.

Tapp T, Griffin C, Rosenkrantz W, Muse R, Boord M. Comparison of a commercial limited-antigen diet versus home-prepared diets in the diagnosis of canine adverse food reaction. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine* 2002; 3: 244-51.

Taylor S, Lemanske Jr R, Bush R, Busse W. Food allergens: structure and immunologic properties. *Annals of allergy* 1987; 59: 93-9.

Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature* 2016; 535: 65-74.

Thomas C, Stevenson M, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a systematic review. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2003; 51: 1339-50.

Thompson G, Trexler P. Gastrointestinal structure and function in germ-free or gnotobiotic animals. *Gut* 1971; 12: 230.

Tizard IR, Jones SW. The microbiota regulates immunity and immunologic diseases in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2018; 48: 307-22.

Tuck CJ, Biesiekierski JR, Schmid-Grendelmeier P, Pohl D. Food intolerances. *Nutrients* 2019; 11: 1684.

Turnbull J, Adams H, Gorard D. The diagnosis and management of food allergy and food intolerances. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2015; 41: 3-25.

Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *The Journal of nutrition* 2011; 141: 769-76.

Unterer S, Hartmann K. Akuter blutiger Durchfall beim Hund–Ursachen und diagnostische Aufarbeitung. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere* 2009; 37: 261-8.

Unterer S, Strohmeyer K, Kruse B, Sauter-Louis C, Hartmann K. Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: a

prospective blinded study. *Journal of veterinary internal medicine* 2011; 25: 973-9.

Unterer S, Busch K, Leipzig M, Hermanns W, Wolf G, Straubinger R, Mueller R, Hartmann K. Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *Journal of veterinary internal medicine* 2014; 28: 52-8.

Unterer S, Lechner E, Mueller RS, Wolf G, Straubinger RK, Schulz BS, Hartmann K. Prospective study of bacteraemia in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet Rec* 2015a; 176: 309.

Unterer S, Lechner E, Mueller RS, Wolf G, Straubinger RK, Schulz BS, Hartmann K. Prospective study of bacteraemia in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Veterinary Record* 2015b; 176: 309.

Vaden SL, Hammerberg B, Davenport DJ, Orton SM, Trogdon MM, Melgarejo LT, VanCamp SD, Williams DA. Food hypersensitivity reactions in Soft Coated Wheaten Terriers with protein-losing enteropathy or protein-losing nephropathy or both: gastroscopic food sensitivity testing, dietary provocation, and fecal immunoglobulin E. *Journal of veterinary internal medicine* 2000; 14: 60-7.

Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuning I, Renes IB. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131: 117-29.

Van Sickle GJ, Powell GK, McDonald PJ, Goldblum RM. Milk-and soy protein-induced enterocolitis: evidence for lymphocyte sensitization to specific food proteins. *Gastroenterology* 1985; 88: 1915-21.

Vázquez-Baeza Y, Hyde ER, Suchodolski JS, Knight R. Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks. *Nature microbiology* 2016; 1: 1-5.

Velez JP, Lince LF, Restrepo JI. Early enteral nutrition in gastrointestinal surgery: a pilot study. *Nutrition* 1997; 13: 442-5.

Verkasalo M, Kuitunen P, Tiilikainen A, Savilahti E. HLA antigens in intestinal cow's milk allergy. *Acta paediatrica* 1983; 72: 19-22.

Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens G. Food allergy in dogs and cats: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 2006; 46: 259-73.

Volkman M, Steiner J, Fosgate GT, Zentek J, Hartmann S, Kohn B. Chronic diarrhea in dogs—retrospective study in 136 cases. *Journal of veterinary internal medicine* 2017; 31: 1043-55.

Udraite-Vovk LU, Watson A, Dodds W, Klinger C, Classen J, Mueller R. Testing for food-specific antibodies in saliva and blood of food allergic and healthy dogs. *The Veterinary Journal* 2019; 245: 1-6.

Wambre E, Jeong D. Oral tolerance development and maintenance. *Immunology and Allergy Clinics* 2018; 38: 27-37.

Wang S, Martins R, Sullivan MC, Friedman ES, Misic AM, El-Fahmawi A, De Martinis ECP, O'Brien K, Chen Y, Bradley C. Diet-induced remission in chronic enteropathy is associated with altered microbial community structure and synthesis of secondary bile acids. *Microbiome* 2019; 7: 1-20.

Warshaw AL, Walker WA, Isselbacher KJ. Protein uptake by the intestine: evidence for absorption of intact macromolecules. *Gastroenterology* 1974; 66: 987-92.

Waserman S, Watson W. Food allergy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 2011; 7: 1-7.

Watanabe M, Sawahata T, Hitomi S. Nosocomial diarrhea caused by *Clostridium*

perfringens in the Tsukuba-Tsuchiura district, Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2008; 14: 228-31.

Weese J, Giguère S, Guardabassi L, Morley P, Papich M, Ricciuto D, Sykes JE. ACVIM consensus statement on therapeutic antimicrobial use in animals and antimicrobial resistance. *Journal of veterinary internal medicine* 2015; 29: 487-98.

Wensaas KA, Hanevik K, Hausken T, Eide GE, Langeland N, Morch K, Rortveit G. Postinfectious and sporadic functional gastrointestinal disorders have different prevalences and rates of overlap: results from a controlled cohort study 3 years after acute giardiasis. *Neurogastroenterol Motil* 2016; 28: 1561-9.

Werner M, Suchodolski JS, Straubinger RK, Wolf G, Steiner JM, Lidbury JA, Neuerer F, Hartmann K, Unterer S. Effect of amoxicillin-clavulanic acid on clinical scores, intestinal microbiome, and amoxicillin-resistant *Escherichia coli* in dogs with uncomplicated acute diarrhea. *J Vet Intern Med* 2020; 34: 1166-76.

Westermarck E. Chronic diarrhea in dogs: what do we actually know about it? *Topics in companion animal medicine* 2016; 31: 78-84.

Whitacre C, Gienapp I, Orosz C, Bitar D. Oral tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis. III. Evidence for clonal anergy. *The Journal of Immunology* 1991; 147: 2155-63.

White R, Atherly T, Guard B, Rossi G, Wang C, Mosher C, Webb C, Hill S, Ackermann M, Sciabarra P. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut microbes* 2017; 8: 451-66.

Wilkins LJ, Monga M, Miller AW. Defining dysbiosis for a cluster of chronic diseases. *Scientific reports* 2019; 9: 1-10.

Willis-Mahn C, Remillard R, Tater K. ELISA testing for soy antigens in dry dog

foods used in dietary elimination trials. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2014; 50: 383-9.

Wills J. Dietary hypersensitivity in cats. *In Practice* 1991; 13: 87-93.

Wilson CL, Ouellette AJ, Satchell DP, Ayabe T, López-Boado YS, Stratman JL, Hultgren SJ, Matrisian LM, Parks WC. Regulation of intestinal α -defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense. *Science* 1999; 286: 113-7.

Xenoulis PG, Palculict B, Allenspach K, Steiner JM, Van House AM, Suchodolski JS. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS microbiology ecology* 2008; 66: 579-89.

Zeng M, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal immunology* 2017; 10: 18-26.

Zhang Y, Hou Z, Ma J. Hemorrhagic enterocolitis and death in two felines (*Panthera tigris altaica* and *Panthera leo*) associated with *Clostridium perfringens* type A. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2012; 43: 394-6.

Zhong Y, Nyman M, Fåk F. Modulation of gut microbiota in rats fed high-fat diets by processing whole-grain barley to barley malt. *Molecular nutrition & food research* 2015; 59: 2066-76.

Ziese A-L, Suchodolski JS, Hartmann K, Busch K, Anderson A, Sarwar F, Sindern N, Unterer S. Effect of probiotic treatment on the clinical course, intestinal microbiome, and toxigenic *Clostridium perfringens* in dogs with acute hemorrhagic diarrhea. *PLoS One* 2018; 13: e0204691.

Ziese A-L, Suchodolski JS. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*

2021; 51: 155-69.

Zoran D. Nutritional management of gastrointestinal disease. Clinical techniques in small animal practice 2003; 18: 211-7.

VIII. ANHANG

1. Fragebogen

Fragebogen für Besitzer, deren Hund in der Vergangenheit an akutem blutigem Durchfall erkrankt war

Dieser Fragebogen wird anonym ausgewertet. Ihre Angaben werden vertraulich behandelt.

Als AHDS (Akutes Hämorrhagisches Durchfall Syndrom) bezeichnet man in der Veterinärmedizin eine Erkrankung beim Hund, die sich vor allem durch blutigen Durchfall und Erbrechen charakterisiert. Als Ursache werden Toxine von Darmbakterien der Gattung Clostridien vermutet. Verschiedene mögliche Auslöser für diese Erkrankung werden diskutiert.

Bei AHDS handelt es sich derzeit um eine Ausschlussdiagnose, d.h. andere mögliche Ursachen für die beschriebene Symptomatik wie zum Beispiel Parasiten, Vergiftungen oder Funktionsstörungen von Organen müssen vor Diagnosestellung ausgeschlossen werden.

Die Langzeitprognose für Patienten mit AHDS ist gut, im akuten Stadium der Erkrankung kann es allerdings bei ausbleibender oder inadäquater Therapie schnell zu Austrocknung und Komplikationen kommen, die auch zum Tod führen können.

In der Humanmedizin konnte ein Zusammenhang zwischen schweren akuten Magen-Darm-Erkrankungen und chronischen Symptomen festgestellt werden. Über mögliche Spätfolgen der Krankheit beim Hund, beispielsweise hinsichtlich chronischer Magen-Darm-Beschwerden oder eines erhöhten Allergierisikos, ist bisher nichts bekannt. Dieser Fragebogen dient dazu, mehr über die Spätfolgen der Krankheit herauszufinden, um künftig Besitzer eines an AHDS erkrankten Hundes besser aufklären zu können und therapeutische Strategien zur Vermeidung von Langzeitschäden/ Folgeschäden zu entwickeln.

Teil 1. Allgemeine Angaben

1.1 Allgemeine Angaben	
Name, Vorname	
Name Ihres Hundes	
Geburtsdatum Ihres Hundes	
Tierarzt, bei dem der Hund in Behandlung ist/ war	
Sind Sie damit einverstanden, dass wir Ihren Tierarzt bezüglich eventuell vorhandener aktueller Laborergebnisse/ Blutwerte/ Befunde kontaktieren?	
<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
1.2 Haben Sie Ihren Hund als Welpen vom Züchter bekommen?	
<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
	Woher haben Sie Ihren Hund?
1.3 Lebt/ lebte Ihr Hund schon immer bei Ihnen?	
<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
	Wie alt war Ihr Hund ungefähr, als er zu Ihnen kam?
1.4 Lebt Ihr Hund noch?	
<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
	Wann ist Ihr Hund gestorben/ eingeschläfert worden?
	Wurde Ihr Hund eingeschläfert?
	Was war die Todesursache/der Grund der Euthanasie Ihres Hundes?
1.5 Was füttern/ fütterten Sie Ihrem Hund (Trocken-/ Feuchtfutter/ Selbstgekocht/ Gebarft, welche Marke)?	
.....	
1.6 Was fütterten Sie Ihrem Hund während seines 1. Lebensjahres?	
.....	
1.7 Wird/ wurde Ihr Hund regelmäßig geimpft?	

<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wann war die letzte Impfung?	
.....	

1.8 Wird/ wurde Ihr Hund regelmäßig entwurmt?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wie oft wird/ wurde Ihr Hund entwurmt und wann war die letzte Entwurmung?	
.....	

1.9 Wird/ wurde Ihr Hund regelmäßig prophylaktisch gegen Ektoparasiten (Flöhe, Zecken) behandelt?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wie oft wird/ wurde Ihr Hund gegen Ektoparasiten behandelt und wann war die letzte Behandlung?	
.....	

Teil 2. Fragen zu einer möglichen chronischen Magen-Darm-Erkrankung

Unter chronischen Magen-Darm-Beschwerden versteht man in diesem Zusammenhang Episoden mit länger als 3 Wochen andauernden Symptomen oder immer wiederkehrende Episoden von Magen-Darm-Beschwerden, die jeweils länger als 3 Tage andauern oder sich ohne Behandlung nicht bessern.

Die Fragen 2.2 bis 2.10 beziehen sich auf diese Episoden mit chronischen Magen-Darm-Beschwerden. Falls der Schweregrad der Symptome variiert, beziehen Sie die Antworten auf die Zeit der stärksten Symptome, die jemals auftraten.

2.1 Leidet/Litt Ihr Hund an chronischen Magen-Darm-Beschwerden?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
In welchem Alter traten die Symptome zuerst auf?	
.....	
Wie häufig leidet/ litt Ihr Hund an Magen-Darm-Beschwerden?	
<input type="radio"/> ständig	
<input type="radio"/> immer wiederkehrend	
Durchschnittliche Dauer der Episoden:	
.....	
Häufigkeit der Episoden:	
.....	
<input type="radio"/> einmalig von bis	
Traten die chronischen Beschwerden erstmals nach einer Episode mit blutigem Durchfall auf?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Litt Ihr Hund häufiger als einmal an AHDS (blutigem Durchfall)?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

2.2 Wie ist/ war die Aktivität Ihres Hundes?
<input type="radio"/> normal
<input type="radio"/> geringgradig reduziert
<input type="radio"/> mittelgradig reduziert
<input type="radio"/> hochgradig reduziert

2.3 Wie ist/ war der Appetit Ihres Hundes?

<input type="radio"/> normal <input type="radio"/> geringgradig reduziert <input type="radio"/> mittelgradig reduziert <input type="radio"/> hochgradig reduziert <input type="radio"/> vermehrt		
2.4 Wie oft erbricht/ erbrach Ihr Hund?		
<input type="radio"/> 1 x/Woche <input type="radio"/> 2-3 x/Woche <input type="radio"/> > 3 x/Woche <input type="radio"/> < 1 x/Monat		
2.5 Wie ist/ war die Kotkonsistenz Ihres Hundes?		
<input type="radio"/> normal <input type="radio"/> weich <input type="radio"/> sehr weich <input type="radio"/> wässrig		
2.6 Wie ist/ war die Kotabsatzfrequenz Ihres Hundes?		
<input type="radio"/> normal <input type="radio"/> 2-3 x/Tag oder mit Schleim/Blut <input type="radio"/> 4-5 x/Tag <input type="radio"/> > 5 x/Tag		
2.7 Zeigt/ Zeigte Ihr Hund einen Gewichtsverlust?		
<input type="radio"/> nein <input type="radio"/> < 5 % <input type="radio"/> 5-10 % <input type="radio"/> > 10 %		
2.8 Wurde bei Ihrem Hund der Albumin-Serumspiegel bestimmt?		
<input type="radio"/> ja: <input type="radio"/> > 20 g/L <input type="radio"/> 15-19 g/L <input type="radio"/> 12-14 g/L <input type="radio"/> < 12 g/L	<input type="radio"/> unbekannt	<input type="radio"/> nein
2.9 Leidet/ Litt Ihr Hund an Aszites (freie Flüssigkeit im Bauchraum) oder Ödemen (Wassereinlagerungen)?		
<input type="radio"/> nein <input type="radio"/> geringgradig <input type="radio"/> mittelgradig <input type="radio"/> hochgradig		
2.10 Zeigt/ Zeigte Ihr Hund zusätzlich zu den Magen-Darm-Symptomen Juckreiz?		
<input type="radio"/> nein <input type="radio"/> selten <input type="radio"/> täglich <input type="radio"/> wacht auf um zu kratzen		
2.11 Bekam Ihr Hund schon einmal einen Ultraschall/ eine Endoskopie?		
<input type="radio"/> ja (o Ultraschall o Endoskopie o beides) Wie lautet/ lautete die Diagnose?		<input type="radio"/> nein

2.12 Ist Ihr Hund derzeit unter Therapie oder war Ihr Hund unter Therapie?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wurden die Symptome daraufhin besser/ verschwanden?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Welche(s) Medikament(e) bekommt/ bekam Ihr Hund?	
.....	
.....	

2.13 Wurde bei Ihrem Hund schon einmal eine Eliminationsdiät durchgeführt? <i>(Eliminationsdiät ist das ausschließliche Füttern nur einer Eiweißquelle (Fleisch) und einer Kohlenhydratquelle, die Ihr Tier vorher noch nie in seinem Leben bekommen hat (kommerziell erhältliche Diät, z.B. Pferd/ Pastinake, oder selbstgekocht), über einen Zeitraum von mindestens 8 Wochen, zum Ausschluss oder Nachweis einer Futtermittelallergie.)</i>	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Was bekam Ihr Hund als Eliminationsdiät?	
.....	
.....	
Führte sie zu einer Verbesserung?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

2.14 Bekam Ihr Hund eine spezielle Magen-Darm-Diät oder eine Diät gegen Futtermittelunverträglichkeiten?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wenn ja, welche (Marke, Selbstgekocht)?	
.....	
Wurden die Symptome damit besser?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

Teil 3. Fragen zu einer möglichen Hauterkrankung

3.1 Leidet/ Litt Ihr Hund an einer Hauterkrankung?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wie wurde diese diagnostiziert?	
.....	
.....	
Welche Symptome zeigt/ zeigte Ihr Hund?	
.....	
.....	
In welchem Alter traten die Symptome zuerst auf?	
.....	
Traten die Beschwerden erstmals nach einer Episode mit blutigem Durchfall auf?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Begannen die Symptome vor dem dritten Lebensjahr?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Treten/ Traten die Beschwerden saisonal auf?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
In welcher Jahreszeit sind die Symptome am schlimmsten?	
.....	

Sind/ Waren die Vorderbeine Ihres Hundes mitbetroffen?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Sind/ Waren die Ohrmuscheln Ihres Hundes mitbetroffen?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Sind/ Waren die Ohrränder Ihres Hund mitbetroffen?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Ist/ War die Rückenpartie Ihres Hundes mitbetroffen?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

3.2 Zeigt/ Zeigte Ihr Hund Juckreiz?
<input type="radio"/> nein
<input type="radio"/> selten
<input type="radio"/> täglich
<input type="radio"/> wacht auf um zu kratzen

3.3 Leidet/ Litt Ihr Hund unter chronischen oder wiederkehrenden Hefepilzinfektionen oder bakteriellen Infektionen? (o Hefepilzinfektionen o bakterielle Infektionen o beides)		
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> unbekannt	<input type="radio"/> nein

3.4 Hält/ Hielt Ihr Hund sich überwiegend im Haus auf?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

3.5 Wurde bei Ihrem Hund schon einmal eine Eliminationsdiät durchgeführt?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Was bekam Ihr Hund als Eliminationsdiät?	
.....	
.....	
Führte sie zu einer Verbesserung?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

3.6 Wurde bei Ihrem Hund schon einmal ein Allergietest (Intrakutantest oder Serumallergietest) durchgeführt?	
<input type="radio"/> ja (o Intrakutantest o Serumallergietest o beides)	<input type="radio"/> nein
Wie lautet/ lautete die Diagnose?	
.....	

3.7 Ist Ihr Hund derzeit unter Therapie oder war Ihr Hund unter Therapie?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wurden die Symptome daraufhin besser/ verschwanden?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Welche(s) Medikament(e) bekommt/ bekam Ihr Hund?	
.....	
.....	

3.8 Verschwand/ Besserte sich der Juckreiz Ihres Hundes unter Glukokortikoidtherapie (Kortison)?		
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> nie bekommen

Teil 4. Weitere Fragen

4.1 Leidet/ Litt Ihr Hund an weiteren Beschwerden/ Krankheiten im Laufe seines Lebens?	
<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Woran leidet/ litt Ihr Hund?	
.....	

IX. DANKSAGUNG

Zuallererst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Stefan Unterer bedanken. Vielen Dank für deine unermüdliche Unterstützung, Geduld und Inspiration während der gesamten Arbeit. Ich habe viel von dir gelernt und schätze die Zeit und Mühe, die du in mich investiert hast. Danke vor allem auch für die super Zeit im GI-Team!

Ein weiterer Dank geht an Prof. Dr. Katrin Hartmann für die Möglichkeit, an ihrer Klinik zu promovieren und an das gesamte Team der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München für die schöne Zeit.

Ich möchte mich bei Prof. Dr. Jan Suchodolski für seine wertvolle Unterstützung während des Schreibens meines Papers bedanken. Lieber Jan, ohne deinen stetigen Input und deine Verbesserungsvorschläge wäre diese Veröffentlichung nicht möglich gewesen. Vielen Dank für deine wertvolle Zeit und dein Fachwissen.

Danke an Dr. Kathrin Busch für ihren geistigen Input vor Fertigstellung meines Papers, Dr. Yury Zablotzki für die Unterstützung in allen statistischen Belangen, Dr. Felix Neuerer und Dr. Bianca Désirée Ballhausen für die Bereitstellung von Ressourcen aus den Klinikdatenbanken, sowie Dr. Katrin Huhn und Dr. Julia Katzenberger fürs Korrekturlesen meiner Doktorarbeit.

Meinem geliebten Mann Juri danke ich ganz besonders. Ohne deine unerschöpfliche Motivation würde ich wahrscheinlich heute noch an der Doktorarbeit schreiben. Danke vor allem auch für alles andere, für deine Liebe, unseren großartigen Sohn und unser schönes gemeinsames Leben.

Danke Mama und Papa, für die Unterstützung auf allen Ebenen während meines gesamten Studiums und darüber hinaus. Dafür, dass ich immer zu euch kommen kann und ihr immer ein offenes Ohr habt. Danke Philipp und Hannah, dass ihr so super Geschwister seid. Ohne euch alle wäre ich heute nicht da, wo ich schlussendlich angekommen bin.