

Reproduzierbarkeit von Serumtests für Umweltallergen- spezifisches IgE in Hunden

von Katja Nadine Baumann

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

Reproduzierbarkeit von Serumtests für Umweltallergen-
spezifisches IgE in Hunden

von Katja Nadine Baumann
aus Weiden i.d.Opf.

München 2024

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. Ralf S. Mueller

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

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

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Sonja Härtle

Tag der Promotion: 06. Juli 2024

In Gedenken an meinen Großvater

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-------------|---|-----------|
| I. | EINLEITUNG | 1 |
| II. | LITERATURÜBERSICHT | 3 |
| 1. | Flohspeichelallergie..... | 3 |
| 1.1. | Klinik..... | 4 |
| 1.2. | Diagnostik | 4 |
| 1.3. | Therapie und Prävention | 5 |
| 2. | Futtermittelallergie | 6 |
| 2.1. | Klinik..... | 8 |
| 2.2. | Diagnose..... | 10 |
| 2.3. | Therapie und Prävention | 12 |
| 3. | Canine atopische Dermatitis | 13 |
| 3.1. | Pathogenese | 13 |
| 3.1.1. | IgE Antikörper - Aufbau und Funktion..... | 15 |
| 3.1.2. | Fcε Rezeptor..... | 18 |
| 3.1.3. | Dendritische Zellen und Langerhans-Zellen | 20 |
| 3.1.4. | Mastzellen, basophile und eosinophile Granulozyten..... | 21 |
| 3.1.5. | Lymphozyten..... | 25 |
| 3.1.6. | Zytokine | 27 |
| 3.1.7. | Allergische Reaktionen | 29 |
| 3.1.7.1. | Allergische Sofortreaktion | 30 |
| 3.1.7.2. | Spätphase der allergischen Reaktion..... | 31 |
| 3.2. | Klinik..... | 32 |
| 3.3. | Diagnose..... | 33 |
| 3.4. | Therapie..... | 35 |
| III. | SERUMALLERGIETEST | 43 |
| IV. | MATERIAL UND METHODEN | 47 |
| 1. | Hunde | 47 |
| 2. | Laboratorien | 47 |
| 3. | Studienaufbau..... | 47 |

| | | |
|--------------|-----------------------------------|-----------|
| V. | STATISTIK | 49 |
| VI. | ERGEBNISSE | 51 |
| VII. | DISKUSSION | 53 |
| VIII. | ZUSAMMENFASSUNG | 59 |
| IX. | SUMMARY..... | 61 |
| X. | LITERATURVERZEICHNIS | 63 |
| XI. | ANHANG | 89 |
| XII. | DANKSAGUNG | 93 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-----------------------------------|--|
| AD | Atopische Dermatitis |
| AFR | Adverse Futtermittelreaktion |
| AIT | Allergen - Immuntherapie |
| APC | Antigen – präsentierende Zellen, engl. Antigen presenting Cells |
| cAD | Canine Atopische Dermatitis |
| CCD | Kreuzreaktive Kohlenhydrat- Determinanten, engl. Cross-reactive carbohydrate determinants |
| C – Region/ C – Terminus | Carboxylterminus |
| CSF | Koloniestimulierender Faktor, engl. Colony stimulating factor |
| Cte f 1 | Ctenocephalides felis 1, major flea salivary allergen |
| DC | Dendritische Zellen, engl. Dendritic cells |
| EFS | Essentielle Fettsäuren |
| ELISA | Enzyme – linked Immunsorbent Assay |
| F _{ab} | Antigen – bindendes Fragment |
| F _c | Kristallisierbares Fragment |
| F _c εRIα | Hochaffinitätsrezeptor für IgE |
| GK | Glukokortikoide |
| GM – CSF | Granulozyten – Makrophagen – Koloniestimulierender Faktor |
| IFN | Interferon |

| | |
|-----------------------------------|---|
| Ig | Immunglobulin |
| IKT | Intrakutantest |
| IL | Interleukin |
| ILIT | Intralymphatische Immuntherapie |
| ITAM | Immunrezeptor – Tyrosin – basiertes Aktivierungsmotiv |
| JAK | Januskinase |
| macELISA | Monoklonaler Antikörper – Cocktail – ELISA |
| MHC | Haupt – Histokompatibilitäts- komplex, engl. Major Histocompatibility Complex |
| PCR | Polymerase – Kettenreaktion, engl. Polymerase – chain reaction |
| RANTES | Regulated And Normal T cell Expressed and Secreted |
| r _{sp} | Spearman's Rangordnungs – Korrelations – Koeffizient |
| SAT | Serumallergietest |
| SD | Standabweichung, engl. Standard deviation |
| Spp. | Spezies (Plural) |
| T _{FH} | Follikuläre Helfer – T – Zelle |
| T _H | Helfer – T – Zelle |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| VK | Variationskoeffizient |
| V – Region/ N – Terminus | Aminoterminus |
| ZNS | Zentralnervensystem |

I. EINLEITUNG

Die canine atopische Dermatitis (cAD) ist eine entzündliche und juckende Hauterkrankung, die in der Regel mit Immunglobulin (Ig)E-Antikörpern assoziiert ist, die hauptsächlich gegen Umweltallergene gerichtet sind (HALLIWELL, 2006). Betroffene Hunde weisen meist eine genetische Prädisposition auf. Primär tritt häufig ein steroidresponsiver Juckreiz auf, gefolgt von kutanen Entzündungen sowie Sekundärinfektionen mit Bakterien oder Hefepilzen. In 50% der atopischen Hunde treten außerdem Otitiden auf. Die am häufigsten betroffenen Körperregionen umfassen die Pfoten, die Axillae, das Abdomen, das Gesicht sowie die Pinnae und den Perianalbereich (FAVROT et al., 2010; MILLER et al., 2013a). Je nach geografischer Lage, Klimazone, Umweltverschmutzung bzw. Hygiene und der Wohnumgebung variieren die Allergie auslösenden Allergene (KIM et al., 2011; PARK et al., 2012). Zur Therapie der Umweltallergie stehen derzeit hauptsächlich entzündungshemmende Medikamente zur Verfügung. Diese sind aber nicht für die ursächliche, sondern einzig für die symptomatische Behandlung geeignet. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es nur eine Form der spezifischen Behandlung: die allergen (- spezifische) Immuntherapie (AIT).

Die AIT ist eine individualisierte Therapie, bei der für jedes Tier entweder die Ergebnisse eines Intrakutantests (IKT) (HILLIER & DEBOER, 2001) und/oder eines Serumallergietests (SAT) für umweltallergenspezifische IgE-Antikörper mit der klinischen Anamnese korreliert und ausgewertet werden (DEBOER & HILLIER, 2001b). Allgemeinmediziner, aber auch Veterinärdermatologen setzen SATs aufgrund ihrer hohen Verfügbarkeit und einfachen Durchführbarkeit häufig und gerne ein. SATs haben mehrere Vorteile gegenüber IKTs: Blutproben können schnell und einfach gewonnen werden, ohne das Risiko einer möglichen anaphylaktischen Reaktion auf injizierte Allergene wie bei einem IKT. SATs können zudem bei Patienten mit stark entzündeter Haut eingesetzt werden, was bei einem IKT nicht möglich ist. AITs auf Grundlage der Ergebnisse eines SATs oder eines IKTs weisen die gleichen Wirksamkeiten auf (MILLER et al., 2013a). Da jedoch oft umweltallergen-spezifische IgE-Antikörper auch bei klinisch nicht erkrankten Hunden auftreten, oder bei klinisch verdächtigen Hunden keine umweltallergen-spezifischen IgE-Antikörper detektierbar sind (HALLIWELL, 2006), sind sämtliche Allergietests als Diagnostikum ungeeignet (HILL et al., 1995;

HALLIWELL et al., 1998; LIAN & HALLIWELL, 1998). Sie sollten somit nur zur Identifizierung möglicher Allergene für eine AIT bei Patienten mit bereits diagnostizierter cAD eingesetzt werden.

Der am häufigsten verwendete Allergen-spezifische IgE-Assay ist ein Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay (ELISA), bei dem das Patientenserum mit einem spezifischen Allergenextrakt versetzt wird. Anschließend werden die ungebundenen Antikörper ausgewaschen und ein markiertes IgE-spezifisches Reagenz hinzugefügt, sodass am Ende beispielsweise durch eine photometrische Messung die Menge des gebundenen allergenspezifischen IgE gemessen werden kann. Die Menge der gebundenen IgE ist hierbei proportional zur gemessenen Signalstärke (DEBOER & HILLIER, 2001b; FAVROT et al., 2010).

Bis zum heutigen Zeitpunkt sind die berichteten Reproduzierbarkeiten von SATs noch sehr variabel (WILLIAMS et al., 2000; PATTERSON et al., 2005; THOM et al., 2010; LEE et al., 2012; PLANT et al., 2014; LEE et al., 2015; ZHOU et al., 2019). IgE-spezifische Serumtests sind weder zu 100% spezifisch noch sensitiv (GINEL et al., 1998; HÄMMERLING & DE WECK, 1998; WASSOM & GRIEVE, 1998; MUELLER et al., 1999; POPIEL & CEKIERA, 2015), wobei sich die Beurteilung der Studien als schwierig darstellt, da es noch keinen etablierten „Goldstandard“ zum Nachweis allergischer Reaktionen auf Umweltallergene bei Hund und Katze gibt.

In der Veterinärmedizin gibt es derzeit noch kein zentrales Prüflabor, durch das die SATs angeglichen und die Ergebnisse besser ausgewertet werden könnten. Eine Reihe von Studien hat die Reproduzierbarkeit von allergenspezifischen IgE-Tests in verschiedenen Laboren untersucht, wobei viele europäische Labore noch nicht evaluiert wurden (PATTERSON et al., 2005; THOM et al., 2010; LEE et al., 2015).

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Flohspeichelallergie

Flöhe sind Ektoparasiten, mit denen unsere Haustiere oft in Berührung kommen, deren Prävention heute aber Dank vielseitiger Therapiemöglichkeiten leicht durchzuführen ist. Weltweit sind mehr als 2000 Flohspezies bekannt, wobei *Ctenocephalides felis felis* (der „Katzenfloh“) und *Ctenocephalides canis* die beiden wichtigsten und häufigsten bei Hund und Katze darstellen (MILLER et al., 2013e). Der komplette Lebenszyklus der Flohspezies *C. felis felis* dauert durchschnittlich zwölf bis 14 Tage; in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann dieser aber auch auf bis zu 174 Tage verlängert sein (SILVERMAN & RUST, 1985; MILLER et al., 2013e). Abgesehen von den Hautschäden, die sie durch massiven Juckreiz und selbstinduzierte Traumata verursachen, sind Flöhe zudem Zwischenwirte des Bandwurms *Dipylidium caninum* und können Vektoren für *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae*, Hämoplasma (*Mycoplasma*) spp. und die Promastigoten von *Leishmania* spp. sein (BLAGBURN & DRYDEN, 2009; MILLER et al., 2013e). Bei massivem Befall kann zudem eine Anämie auftreten. Ein weiblicher Floh konsumiert durchschnittlich ca. 13,6 µl (+/- 2,7 µl) Blut pro Tag, was ungefähr dem 15 - fachen seines Körpergewichts entspricht (DRYDEN & GAAFAR, 1991). Die Eiablage erfolgt bereits 24 bis 36 Stunden nach der ersten Blutmahlzeit. In einem Zeitraum von 30 Tagen kann ein einzelner weiblicher Floh bis zu 1000 Eier ablegen (LAM & YU, 2009). Zweiundsiebzig weibliche Flöhe können am Tag eine Gesamtmenge von ca. 1ml Blut konsumieren, was bei besonders kleinen Rassen oder bei Welpen ein erhöhtes Risiko für eine Anämie darstellt (MILLER et al., 2013e).

Bereits 1985 untersuchten GROSS und HALLIWELL (1985) Flohbissläsionen erstmals näher klinisch und histopathologisch. An den Bissstellen zeigte sich anfänglich eine Sofortreaktion, gekennzeichnet durch Ausbildung einer Quaddel, welche zunächst für ein bis zwei Stunden in ihrer vollen Größe von 3mm bis 1cm bestehen blieb. Nachfolgend verlor sie langsam an Größe und wurde schließlich ersetzt durch eine kleinere, festere, gerötete Papel mit umgebendem Ödem. Die klinisch sichtbaren Spätreaktionen erreichten nach 24 Stunden ihren Höhepunkt

und waren nach 72 Stunden kaum mehr nachweisbar. Die Histopathologie der Reaktionsstellen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zeigte sowohl Merkmale einer Sofortreaktion mit Ödemen zwischen den Kollagenbündeln und beginnendem Austritt eosinophiler Granulozyten aus den dermalen Gefäßen als auch Merkmale einer zellvermittelten Spätreaktion mit perivaskulärem Infiltrat aus hauptsächlich mononukleären Zellen und langsam abklingendem Ödem (GROSS & HALLIWELL, 1985; HALLIWELL, 2009).

1.1. Klinik

Flohspeichelallergie kann jedes Alter und jede Rasse betreffen, präsentiert sich in endemischen Gebieten aber durchschnittlich mit einem Alter von fünf Jahren. Das typische klinische Bild, geprägt durch eine papulöse Dermatitis, konzentriert sich vor allem auf den Rumpf, den dorsalen Thorax, die Flanken, den Schwanz sowie die Perianalgegend und wird begleitet von Juckreiz, welcher sich meist auf die kaudalen Bereiche des Körpers beschränkt (BRUET et al., 2012; MILLER et al., 2013b). In schwereren Fällen kann auch eine generalisierte Ausbreitung der Läsionen und/oder generalisierter Juckreiz beobachtet werden (MILLER et al., 2013b). Durch die selbstinduzierten Traumata entwickeln sich im weiteren Verlauf Exkorationen, Krusten sowie Hyperpigmentation. Bei manchen Hunden entstehen sogar Leckgranulome oder pyotraumatische Dermatitis, vor allem am Rumpf und/oder im seitlichen Gesicht (MILLER et al., 2013b). Komplikationen stellen sekundäre Infektionen dar, etwa in Form einer bakteriellen Follikulitis oder Malasseziendermatitis, welche den Juckreiz und damit die Selbstmutilation verstärken und eine direkte Diagnose erschweren (MILLER et al., 2013b). Je nach geografischer Lage kann eine Flohspeichelallergie saisonal bedingt oder auch ganzjährig auftreten. Bei saisonaler Betonung sind die Symptome im Frühjahr und Herbst am ausgeprägtesten (MILLER et al., 2013b).

1.2. Diagnostik

Bevor die Diagnose „Flohspeichelallergie“ gestellt werden kann, müssen andere Juckreiz-auslösende Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden, wie Futtermittelunverträglichkeiten, Ektoparasitosen und Sekundärinfektionen (MILLER et al., 2013b). Flohspeichelallergie wird letztlich durch Anamnese, klinische Symptomatik und positives Ansprechen auf die Therapie diagnostiziert.

Der Nachweis von Flöhen oder Flohkot auf dem Tier kann die Diagnose bestärken, wobei gesunde Hunde bei einem Flohbefall nicht zwingend klinische Symptome zeigen müssen und allergische Hunde hingegen selten einen nachweisbaren Flohbefall haben (MILLER et al., 2013b). Ein Intrakutantest kann bei der Diagnose helfen, allerdings schließt ein negativer Test eine Flohspeichelallergie nicht aus (MILLER et al., 2013b). In einer Studie von LAFFORT-DASSOT (2004) wurde die Gesamtpräzision von *In-vivo* und in *In-vitro* Tests verglichen. Es wurden für die Intrakutantests vier verschiedene Flohantigen-Quellen unterschiedlicher Hersteller verwendet, für den Serumtest einen Assay basierend auf dem IgE-spezifischen Rezeptor FcεRIα. Für einen Extrakt (Isotec) betragen die Sensitivität, Spezifität und Gesamtpräzision 27 %, 83 % und 64 %, für einen weiteren Extrakt (Greer) 67 %, 90 % und 82 %, für den Flohspeichелеxtrakt (Heska) 93 %, 90 % und 91 %, für das rekombinante *Ctenocephalides felis* 1 (Cte f 1) (Heska) 40 %, 90 % und 73 %. Für den IgE Assay betragen die Werte 87 %, 53 % und 64 %. Diese Ergebnisse verdeutlichen zum einen, dass Intrakutantests scheinbar akkuratere Ergebnisse liefern als *In-vitro*-Tests und zum anderen aber auch, dass 33 – 73 % der Hunde mit klinischer Flohspeichelallergie im Intrakutantest negative Ergebnisse vorwiesen (LAFFORT-DASSOT et al., 2004).

1.3. Therapie und Prävention

Um eine Flohspeichelallergie effektiv unter Kontrolle zu bekommen, müssen einerseits ein bestehender Flohbefall ausgeschlossen bzw. behandelt, andererseits auch präventive Maßnahmen ergriffen werden, um diesen zukünftig zu vermeiden. Bei einem bereits vorliegenden Flohbefall sollten sowohl die Umwelt als auch das Tier selbst behandelt werden, vor allem wenn sich mehrere Tiere im Haushalt befinden (BLAGBURN & DRYDEN, 2009; MILLER et al., 2013e). Die Umgebungsbehandlung umfasst das gründliche Saugen der Wohnung mit besonderem Augenmerk auf Polstermöbel sowie dunkle und vor Sonnenlicht bzw. Kälte geschützte Bereiche (z.B. unter der Couch, Fußbodenritzen). Das Waschen von Teppichen und Decken kann helfen, allerdings sollte nach dem Waschen ein Pestizid aufgesprüht werden, um eine Entwicklung neu herabgefallener Eier in den tieferen, feuchten Lagen zu verhindern (BLAGBURN & DRYDEN, 2009; MILLER et al., 2013e).

Bei Tierarzneimitteln lassen sich topische (Imidacloprid, Dinotefuran, Fipronil, Metaflumizon, Selamectin, Isoxazolin) und orale (Isoxazolin, Spinosad, Nitenpyram) Adultizide unterscheiden. Manche Flohmedikamente kombinieren Adultizide mit Insektenwachstumsregulatoren (z.B. Methopren, Pyriproxyfen) oder mit Insektenentwicklungsinhibitoren (z.B. Lufenuron) (BLAGBURN & DRYDEN, 2009; RANJAN et al., 2018; RUST, 2020).

2. Futtermittelallergie

Per Definition unterscheiden die "American Academy of Allergy and Immunology" und das "National Institute of Allergy and Infectious Disease" die immunologische von der nicht-immunologischen Reaktion auf Lebensmittel (VERLINDEN et al., 2006).

Kommt es zu einer immunologischen Reaktion auf die Ingestion eines Lebensmittels oder Lebensmittelzusatzstoffes, so spricht man von einer Lebensmittelallergie. Als Lebensmittelintoleranz hingegen bezeichnet man alle abnormen physiologischen Reaktionen auf Nahrungsmittel oder Zusatzstoffe, welche nicht nachweislich immunologisch sind (ANDERSON, 1986). Nach MUELLER und UNTERER (2018) zählen zu den nicht-immunologischen Reaktionen metabolische, pharmakologische, toxische oder idiosynkratische Futtermittelreaktionen. Laktoseintoleranz, welche sich in Form von Malassimilation und osmotischem Durchfall zeigt, stellt eine metabolische Reaktion dar. Sofortreaktionen (innerhalb von Minuten) auf vasoaktive und biogene Amine wie Histamin zählen zu den pharmakologischen Reaktionen. Histamin, bzw. die Vorstufe Histidin findet sich selten in Futtermitteln, kann aber in Zusammenhang mit roher oder hausgekochter Fischdiät bei Haustieren auftreten. Auch Methylxanthin-Intoxikation durch Aufnahme von Schokolade stellt eine solche pharmakologische Futtermittelreaktion dar. Toxine aus Bakterien oder Schimmelpilzen in kontaminierten Nahrungsmitteln können eine akute Enteritis auslösen und werden hauptsächlich bei Rohfütterung beobachtet (MUELLER & UNTERER, 2018).

Zu den häufigsten Futtermittelallergenen bei Hunden zählen Rind, Milchprodukte, Huhn und Weizen; bei Katzen Rind, Huhn und Fisch (DAY, 2005; PROVERBIO et al., 2010; MUELLER & UNTERER, 2018).

Die gastrointestinale Abwehr wird durch mehrere Faktoren beeinflusst: die Schleimhautbarriere, die Regulierung der Immunreaktion, die Eliminierung von

Allergenen sowie die Toleranzentwicklung. Sobald eine dieser natürlichen Schutzvorrichtungen versagt, prädisponiert es den Patienten für eine Futtermittelallergie (VERLINDEN et al., 2006).

Die Schleimhautbarriere verhindert mithilfe ihrer unterschiedlichen immunologischen und nicht-immunologischen Komponenten die Aufnahme bestimmter Substanzen in das Darmlumen (VERLINDEN et al., 2006). Zu den wichtigsten immunologischen Komponenten zählt das sezernierte IgA, welches mit Nahrungsmittelantigenen Komplexe bilden kann, die nachfolgend nicht mehr über die Mukosa aufgenommen werden können, sondern proteolytisch abgebaut werden (VERLINDEN et al., 2006). Eine wichtige Rolle in der gastrointestinalen Abwehr stellt außerdem die sog. orale Toleranz dar. Dies bedeutet eine spezifische immunologische Unempfindlichkeit gegenüber einem Antigen aufgrund einer bereits vorherigen Exposition (CROWE & PERDUE, 1992). Die orale Toleranz basiert auf der gezielten Suppression des lymphatischen Gewebes des Darms, des sog. Gut Associated Lymphoid Tissue. Sie sind nicht angeboren, sondern entwickeln sich erst im jungen Alter von wenigen Wochen durch die kontinuierliche Exposition gegenüber den Antigenen (CROWE & PERDUE, 1992; VERLINDEN et al., 2006).

Nahrungsmittelüberempfindlichkeiten sind beim Menschen meist IgE-vermittelte (Typ I) Reaktionen (MUELLER & UNTERER, 2018). In der sog. Sensibilisierungsphase treten T-Zellen mit den Lebensmittelantigenen in Kontakt und führen über eine T_H2 -Immunantwort mit Hochregulierung bestimmter Zytokine (IL-4, IL-5 und IL-13) zu einem Klassenwechsel der Antikörperproduktion zu IgE (MUELLER & UNTERER, 2018). Durch eine fehlende orale Toleranz reagiert ein Individuum mit einer vermehrten IgE-Antikörper Produktion auf bestimmte Antigene (VERLINDEN et al., 2006). In der nachfolgenden Effektorphase, sprich bei erneutem Kontakt mit dem Allergen, können $Fc\epsilon RI$ -Rezeptor-exprimierende Zellen (Mastzellen, Basophile und Eosinophile) das lebensmittelspezifische IgE binden und dadurch Entzündungsmediatoren freisetzen (MUELLER & UNTERER, 2018). Diese Zellen setzen ihresgleichen Mediatoren frei, die eine chronische Entzündung zur Folge haben können (VERLINDEN et al., 2006). In der Regel passiert die Mediatorenfreisetzung innerhalb von Minuten nach der Exposition und wird als allergische Sofortreaktion oder Typ-I-Reaktion bezeichnet, was sich klinisch in Form von Angioödemem und/oder Urtikaria zeigt (VERLINDEN et al., 2006;

MUELLER & UNTERER, 2018).

Befindet sich die sensibilisierte Mastzelle im Magen-Darm-Trakt, so bewirkt eine lokale, intestinale Typ-I-Reaktion einen Verlust von Flüssigkeit, Plasmaproteinen und Blut in das Darmlumen (CROWE & PERDUE, 1992). Zudem wird durch die Stimulation der Sekretion von Schleim und Chlorid die Darmmotilität sowie die Disaccharidase-Aktivität gestört. In Folge dessen kommt es zu Diarrhoe, Vomitus und Gewichtsverlust durch Maldigestion (VERLINDEN et al., 2006).

MUELLER und OLIVRY (2017) verglichen mehrere Studien auf das Vorkommen nahrungsmittelspezifischer Serum-IgE bei Hunden und Katzen. Nicht bei allen Studien konnte eine Korrelation zwischen den Serum-IgE-Konzentrationen und der klinischen Exposition gegenüber auslösenden Allergenen festgestellt werden (MUELLER & OLIVRY, 2017). Darüber hinaus wird bei Tieren nur selten über lebensmittelbedingte Urtikaria und Angioödeme berichtet (MUELLER & UNTERER, 2018).

Zusätzlich zu Typ-I-Reaktionen können Hunde auch mit einer Typ-IV- (verzögerten) Hypersensitivitätsreaktion reagieren (KENNIS, 2006; MUELLER & UNTERER, 2018). Antigene werden von Antigen-präsentierenden Zellen gebunden und lösen eine zellvermittelte T_H1 -Reaktion vom verzögerten Typ aus. Histologisch kann dies anhand eines lymphozytären, mastozytären und plasmazellulären Infiltrats bestätigt werden (MUELLER & UNTERER, 2018).

Da bei den meisten Hunden mit Anzeichen einer Futtermittelunverträglichkeit weder eine IgE-vermittelte Überempfindlichkeit noch ein anderer immunologischer Mechanismus als die häufigste Ursache für die Entwicklung der Krankheit nachgewiesen wurde, sollte anstelle „Futtermittelallergie“ eher von „(kutanen) adversen Futtermittelreaktionen“ gesprochen werden (HILLIER & GRIFFIN, 2001a; DAY, 2005).

2.1. Klinik

Die Prävalenz adverser Futtermittelreaktionen (AFR) ist je nach Studienlage und Bezug auf die Gesamtpopulation unterschiedlich. In einer Studie liegt die Prävalenz bezogen auf alle dermatologischen Erkrankungen bei ein bis zwölf Prozent (PROVERBIO et al., 2010). In einer Studie von CHESNEY (2002) wurde evaluiert, dass 7,6 % aller vorgestellten Hunde und ein Drittel (32,7 %) der Hunde, deren Symptome mit einer AD vereinbar sind, mit AFR diagnostiziert wurden

(CHESNEY, 2002). Weitere Studien berichteten über eine Prävalenz von 40 % bis 52 % (LOEFFLER et al., 2006). Die Zeitspanne, in der sich die ersten Symptome zeigen, ist sehr breit und bewegt sich zwischen einem Alter von unter einem Jahr und 13 Jahren (CHESNEY, 2002; PROVERBIO et al., 2010). Je nach Publikation zeigen 22 – 56% der unter zwölf Monate alten Hunde die ersten Symptome (HARVEY, 1993; LEISTRA et al., 2001; OLIVRY & MUELLER, 2019). Beide Geschlechter sind gleichermaßen betroffen (HARVEY, 1993; CHESNEY, 2002; PROVERBIO et al., 2010). Es gibt keine eindeutige Rasseprädisposition, jedoch kommen Deutsche Schäferhunde (MUELLER & UNTERER, 2018), Golden Retriever (HARVEY, 1993), West Highland White Terrier, Boxer, Möpse (MUELLER & UNTERER, 2018) und Labradore (CHESNEY, 2002) vermehrt in einzelnen Studien vor (PATERSON, 1995; MILLER et al., 2013d). Neben den meist auftretenden dermatologischen Symptomen, können auch gastrointestinale Symptome beobachtet werden. Diese umfassen häufig Vomitus, Diarrhoe, Flatulenz oder auch eine erhöhte Kotabsatzfrequenz (DAY, 2005; MILLER et al., 2013d; MUELLER & OLIVRY, 2018). Das häufigste dermatologische Symptom ist ein asaisonaler Juckreiz (und damit verbundenes Selbsttrauma) (HARVEY, 1993; KENNIS, 2006) in Verbindung mit Erythemen, Quaddeln, Ulzerationen und Krustenbildung (DAY, 2005; VERLINDEN et al., 2006), sowie Hautschuppen und Fellverlust (HARVEY, 1993). Die Läsionen können generalisiert oder auch lokalisiert an Gesicht, den distalen Gliedmaßen, den Achseln, den Ohren oder an der perianalen Region auftreten (KENNIS, 2006; MILLER et al., 2013d). In manchen Fällen ist eine (bilaterale) Otitis externa das Hauptsymptom (HARVEY, 1993; HILLIER & GRIFFIN, 2001a; CHESNEY, 2002; PROVERBIO et al., 2010). Rezidivierende Sekundärinfektionen, vor allem mit Staphylokokken oder Malassezien, sind ein häufiges Problem (DAY, 2005). Allein anhand der Klinik ist eine Futtermittelallergie nicht von der atopischen Dermatitis zu unterscheiden (HILLIER & GRIFFIN, 2001a; DAY, 2005; MILLER et al., 2013d). Je nach Publikation zeigen zwischen zwei und 13 % der atopischen Hunde gleichzeitig auch kutane adverse Futtermittelreaktionen, während 13 bis 30 % der Futtermittelallergiker auch eine atopische Dermatitis entwickeln oder bereits zeigen (HILLIER & GRIFFIN, 2001a).

2.2. Diagnose

Die Diagnose basiert derzeit auf einer sog. Eliminationsdiät mit anschließender Provokation (OLIVRY et al., 2015a; MUELLER & UNTERER, 2018). Es existieren heutzutage zahlreiche Verfahren für den Nachweis von allergenspezifischen IgE- und IgG-Antikörpern im Serum, welche die Diagnose erleichtern sollen, allerdings korrelieren diese Tests nur schlecht mit dem klinischen Bild oder den Ergebnissen einer Eliminationsdiät (DAY, 2005; WILHELM & FAVROT, 2005; BETHLEHEM et al., 2012; HARDY et al., 2014; KANG et al., 2014; UDRAITE VOVK et al., 2019). Auch zu Patch-Tests, wie sie in der Humanmedizin Anwendung finden, wurden Studien durchgeführt, welche zeigen, dass sie sich aufgrund einer adäquaten Spezifität für die Auswahl möglicher Proteinquellen für eine Eliminationsdiät eignen, nicht jedoch als Diagnostikum für den Nachweis positiver Allergene (BETHLEHEM et al., 2012; JOHANSEN et al., 2017). Ebenso wenig eignen sich aus voran genannten Gründen Intrakutantests als Diagnostikum für futtermittelresponsive Dermatitiden (ISHIDA et al., 2004). Der Lymphozyten-Proliferations-Test scheint zuverlässiger zu sein (ISHIDA et al., 2004; KAWANO et al., 2013), um futtermittelallergische Hunde von gesunden zu unterscheiden (FUJIMURA et al., 2011). Allerdings ist dieser technisch schwer durchführbar, und die Proben müssen sehr zeitnah verarbeitet werden. Aus diesem Grund wird er in den wenigsten Laboren kommerziell angeboten (MUELLER & OLIVRY, 2017). So zählt die Ausschlussdiät derzeit als Standarddiagnostikum zum Nachweis einer kutanen adversen Futtermittelreaktion bei Hunden und Katzen (MUELLER & OLIVRY, 2017).

In einem Übersichtsartikel von OLIVRY et al. (2015) wurden Informationen über eine adäquate Dauer einer solchen Eliminationsdiät zwischen den Jahren 1980 und 2014 gesammelt. Es zeigte sich eine ideale Dauer von mindestens fünf Wochen bei Hunden, sowie sechs Wochen bei Katzen, um bei mindestens 80 % der Probanden eine Futtermittelallergie zu diagnostizieren. Verlängert man die Eliminationsdiät auf acht Wochen, so konnten 90 % der Futtermittelallergiker detektiert werden (OLIVRY et al., 2015a). Das Ziel einer Eliminationsdiät ist es, dem Tier diätetische Erzeugnisse zu füttern, die dem Immunsystem noch fremd und die frei von Zusatzstoffen (Farbstoffe, Aromastoffe, Konservierungsmittel) sind (MILLER et al., 2013d). Die Diät kann dabei von den Besitzern selbstgekocht sein, aber auch mit kommerziellen Allergiker-Diäten können bis zu 95 % der Hunde erfolgreich

eingestellt werden (LEISTRA et al., 2001). In einer Studie von LEISTRA et al. (2001) wurden 40 Hunde, die zuvor mittels selbstgekochter Eliminationsdiät als futtermittelallergisch diagnostiziert wurden, mit drei unterschiedlichen kommerziellen Monoproteindiäten (Huhn und Reis, Wild und Reis, Wels und Reis) für jeweils maximal drei Wochen provoziert. Die Probanden konnten mit jeweils einer der drei kommerziellen Diäten zu 95 % juckreizfrei gehalten werden, wobei in Abhängigkeit der Proteinquelle bei mindestens einem der drei Diäten die klinischen Symptome wieder auftraten - 48 % bei Wels, 53 % bei Huhn, 85 % bei Wild (LEISTRA et al., 2001).

Die Zahl der kommerziell hergestellten Futtermittel mit limitierten Zutaten steigt stetig, aber Studien zeigen, dass es immer wieder zu Kontaminationen mit anderen Lebensmittelallergenen kommt, die nicht deklariert sind und eine Eliminationsdiät potentiell verfälschen können (RADITIC et al., 2011; PEGELS et al., 2013; PEGELS et al., 2014; PEGELS, 2015). Einen ausführlichen Review-Artikel hierzu verfassten OLIVRY et al. (2018), welche nach Studien suchten, die sich mit der molekularen Untersuchung von Diäten befassten, um die Eignung dieser Diäten für eine Ausschlussdiät zu evaluieren. In den verschiedenen Studien wurden unterschiedliche Testverfahren verwendet (PCR oder ELISA zum Nachweis von Proteinen), welche zeigten, dass in 0 bis 83 % (Median: 45 %) der untersuchten Futtermittel Inhaltsstoffe enthalten waren, die nicht deklariert waren bzw. in 0 bis 38 % (Median: 1 %) der untersuchten Futtermittel enthaltene Inhaltsstoffe auf dem Etikett fehlten (OLIVRY & MUELLER, 2018).

Seit einigen Jahren sind auch hydrolysierte Diäten für Hunde und Katzen erhältlich. In diesen Diäten ist die Proteingröße stark vermindert, wodurch deren Fähigkeit minimiert wird, das IgE zu vernetzen und dadurch eine Mastzelldegranulation auszulösen (LOEFFLER et al., 2004). Mehrere Studien haben bereits die Effektivität solcher hydrolysierten Diäten in der Praxis sowohl zur Diagnosestellung als auch zur langfristigen Kontrolle des Juckreizes überprüft. Die Hydrolysatdiäten scheinen zur Diagnose geeignet zu sein, wobei ein geringer Anteil an Futtermittelallergikern auch auf diese Diäten reagiert (LOEFFLER et al., 2004; BOWMAN & SELGRADE, 2008; MUELLER & UNTERER, 2018). Auch die Wirksamkeit zur Unterdrückung des Juckreizes ist vielversprechend (LOEFFLER et al., 2004; LOEFFLER et al., 2006; BIZIKOVA & OLIVRY, 2016). Es ist allerdings anzumerken, dass sich bei einem Teil der Hunde mit kutaner AFR die klinischen Symptome verschlechterten, wenn die verwendete Diät nur

Teilhdrolysate enthielt, sprich nicht ausreichend zerkleinerte Proteine (OLIVRY & BIZIKOVA, 2010). Außerdem ist es von Vorteil, Hydrolysatdiäten nur bei Hunden einzusetzen, bei denen keine Allergie auf das Ausgangsprotein zugrunde liegt (OLIVRY & BIZIKOVA, 2010).

Um das Futtermittel als Auslöser für die adversen Reaktionen zu identifizieren, muss nach einer erfolgreichen Eliminationsdiät eine Provokation erfolgen. Hierzu wird über einen gewissen Zeitraum die vorherige Diät gefüttert. Ist ein Hund allergisch, zeigen sich je nach Individuum innerhalb eines Tages bis drei Wochen nach Provokation bereits wieder die ersten Symptome, was eine adverse Futtermittelreaktion bestätigt (LEISTRA et al., 2001; OLIVRY & MUELLER, 2020).

Es wird empfohlen, nach der Provokation eine sogenannte sequentielle Provokation anzuschließen, wobei alle fünfzehn Tage eine andere Futterquelle ausprobiert wird, um den spezifischen Allergieauslöser zu bestimmen und zukünftig vermeiden zu können (CARLOTTI et al., 1990; JEFFERS et al., 1991). Dieses Vorgehen kann jedoch eine Herausforderung darstellen, so dass viele Besitzer es nach kurzer Zeit abbrechen und sich langfristig für das Selbstkochen oder kommerzielle Eliminationsdiäten entscheiden (MUELLER & UNTERER, 2018)

2.3. Therapie und Prävention

Zur Therapie und gleichzeitigen Prävention gilt es die auslösenden Allergene zu vermeiden, d.h. eine Diät zu füttern, die keine klinischen Symptome auslöst (VERLINDEN et al., 2006). Mögliche Diäten umfassen selbstgekochte Diäten, Hydrolysatdiäten oder kommerzielle Diäten mit passenden Proteinquellen. Die Hydrolyse reduziert die Antigenität der Proteine und kann damit den Juckreiz in den meisten Fällen unterdrücken (LOEFFLER et al., 2004). Hydrolysierte Diäten werden neben der selbstgekochten Diät als zweite Wahl bei Eliminationsdiäten eingesetzt, da die Wirksamkeit mehrfach bestätigt wurde, dennoch aber immer wieder Futtermittelallergiker übersehen werden oder nicht adäquat eingestellt werden können (MUELLER & UNTERER, 2018). Bei kommerziellen Diäten sollte beachtet werden, dass in mehreren Studien bereits Verunreinigungen oder fehlerhafte Deklarationen festgestellt wurden (RADITIC et al., 2011; RICCI et al., 2013; WILLIS-MAHN et al., 2014; HORVATH-UNGERBOECK et al., 2017), welche potenziell klinische Symptome auslösen könnten.

Sollten sich die Besitzer entscheiden, langfristig selbstgekochte Diäten zu füttern, wird empfohlen, einen Futtermittelexperten zu Rate zu ziehen, sodass ausgewogene Rationen berechnet werden.

Während der Eliminationsdiät zur Diagnosestellung kann zudem eine kurzfristige medikamentöse Behandlung zwischendurch erforderlich sein, um die klinischen Symptome allergischer Rückschläge zu begrenzen (MUELLER & UNTERER, 2018).

3. Canine atopische Dermatitis

CAD ist definiert als eine genetisch prädisponierte entzündliche sowie juckende Hauterkrankung, meist assoziiert mit IgE-Antikörpern gegen Umweltantigene (HALLIWELL, 2006). Da auch andere Allergene als die der Umwelt, z.B. Nahrungsmittelallergene bei einzelnen Individuen eine Dermatitis hervorrufen oder verschlimmern können, ist eine sichere Abgrenzung zwischen Futtermittelallergie und atopischer Dermatitis (AD) allein anhand der klinischen Merkmale nicht möglich (MILLER et al., 2013a).

Die geschätzte Prävalenz für AD liegt zwischen 10 und 15%, wobei die tatsächliche Prävalenz nur schwer zu ermitteln ist, da vermutlich bei milden klinischen Fällen meist eine symptomatische Therapie ausreicht, ohne eine volle Diagnose gestellt zu haben (MILLER et al., 2013a). Zudem werden manche klinischen Symptome ggf. von Besitzern oder auch Veterinären nicht mit einer allergischen Grundproblematik in Verbindung gebracht (z.B. chronische Otitiden, Malassezien- oder bakterielle Infektionen) (MILLER et al., 2013a). Außerdem gibt es bislang noch keine zuverlässigen und ethisch vertretbaren Methoden, um nachzuweisen, dass eine Allergenexposition in einer klinischen Erkrankung resultiert (HILLIER & GRIFFIN, 2001b). Obgleich die Pathogenese immer noch nicht vollständig verstanden wird, gibt es Hinweise für einen multifaktoriellen Charakter, wobei genetische Anomalien, Abnormitäten des Immunsystems und Defekte der Hautbarriere wichtige Rollen zu spielen scheinen (SHIMADA et al., 2009; MARSELLA et al., 2011; MARSELLA & DE BENEDETTO, 2017).

3.1. Pathogenese

Die Pathogenese der humanen wie auch caninen AD ist zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht abschließend geklärt, scheint aber multifaktoriell (GEDON &

MUELLER, 2018). Es wird vermutet, dass zahlreiche Allergene an der Pathogenese der AD beteiligt sind. Hierzu zählen Hausstaub- und Vorratsmilben, Gräser- und Baumpollen, Pilzsporen, Hautschuppen sowie Insektenantigene (HILL & DEBOER, 2001). OLIVRY und HILL (2001) beschreiben in einer Publikation die historische Entwicklung der Pathogenese. Im letzten halben Jahrhundert wurden zwei Theorien verfolgt, auf welche Art und Weise Allergene in die Haut gelangen: aerogen oder transdermal. Da die ersten Berichte allergischer Erkrankungen bei Hunden vor allem mit Rhinitiden und Konjunktivitiden assoziiert waren, verfolgte man zunächst die Hypothese, dass Allergene primär inhaliert und über den Blutkreislauf zur Haut gelangten, wo sie in Folge dermalen Mastzellen aktivierten. In diesem Zusammenhang sprach man anfänglich von einer „allergischen inhalativen Dermatitis“. Eine Vielzahl an allergischen Dermatitiden konnte allerdings nicht mittels intranasaler Applikation von Allergenen provoziert werden, oder zeigte keine oder nur minimale Beteiligung des Respirationstrakts, dafür aber vermehrt Läsionen an den wenig behaarten, ventralen Körperpartien. Dies bestärkte die Theorie der transdermalen Allergenaufnahme. Allergene sollten über eine geschädigte Hautbarriere aufgenommen werden und dort mit Antigen-präsentierenden Zellen in Kontakt treten. Gestützt wurde letztere Theorie mit der histopathologischen Untersuchung von atopisch bedingten Hautläsionen, die hyperplastische, chronische, gemischt-zellige, perivaskuläre Dermatitis zeigten, mit primär mononukleärem Infiltrat (T-Lymphozyten, Dendritische Zellen) und geringer Exozytose mit Eosinophilen Granulozyten (OLIVRY & HILL, 2001).

Nachdem die transdermale Sensibilisierung als primäre Route der Allergenaufnahme verstanden wurde, verfolgte man zunächst die sog. „Inside-outside“ Theorie, wobei man davon ausging, dass genetische Veränderungen des Immunsystems eine abnorme immunologische Reaktion zur Folge haben (v.a. eine erhöhte Interaktion von IgE-Antikörpern mit Umweltallergenen) (SANTORO et al., 2015). In jüngerer Zeit befassen sich die Studien zunehmend mit der sog. „Outside-inside“ Theorie, die sich v.a. auf die grundlegende Rolle der epidermalen Barriere konzentriert (SANTORO et al., 2015). Sowohl beim Menschen als auch bei Hunden werden Defekte in der Hautbarriere im Stratum corneum mit einhergehendem transepidermalen Wasserverlust als pathogener Faktor der AD vermutet (INMAN et al., 2001; ZAJĄC et al., 2014; MONTERO-VILCHEZ et al., 2021). In einer Studie von POPA et al. (2011) konnte mittels

Elektronenmikroskopie nicht nur gezeigt werden, dass der generelle Lipidgehalt der Haut in atopischen Individuen im Vergleich zu gesunden reduziert ist, sondern auch, dass die lamellare Ceramid-Komposition des Stratum corneums lückenhaft ist. Dadurch haften Kerneozyten weniger gut aneinander, wodurch Umweltallergene leichter durch die äußere Haut eindringen können als bei gesunden Individuen (POPA et al., 2011). Auch Sekundärinfektionen mit Staphylokokken und/oder Malassezien scheinen an der Pathogenese beteiligt zu sein, da diese zum einen bestehende Entzündungsreaktionen aufrechterhalten können und zum anderen durch die Bildung von Toxinen, welche als Superantigene wirken, allergische Sofortreaktionen hervorrufen können (DEBOER & MARSELLA, 2001).

3.1.1. IgE Antikörper - Aufbau und Funktion

IgE wurde 1968 als letzte der fünf Antikörperklassen entdeckt und wird vor allem mit allergischen Geschehen in Zusammenhang gebracht (GOULD & SUTTON, 2008). Antikörper werden von B-Lymphozyten gebildet, in welchen sie zunächst an der Zelloberfläche als Integral-Membranproteine vorliegen und als Rezeptor fungieren (ABBAS et al., 2012c). Wurde dem Rezeptor ein Antigen präsentiert, wandeln sich die B-Lymphozyten in Antikörper-sezernierende Plasmazellen um (ABBAS et al., 2012c). Auf diese Weise produzierte Antikörper akkumulieren anschließend im Blutplasma, in Schleimhautsekreten und interstitiellen Gewebsflüssigkeiten (ABBAS et al., 2012c).

Alle Antikörper besitzen die gleiche molekulare Grundstruktur mit zwei identischen schweren und zwei identischen leichten Ketten (GOULD & SUTTON, 2008; ABBAS et al., 2012c). ABBAS et al. (2012) beschreiben den genauen Aufbau: Antikörper unterscheiden sich lediglich in den sehr variablen Bindungsstellen für Antigene. Sowohl die leichte als auch die schwere Kette besitzen einen variablen Amino-Terminus (N-Terminus oder V-Region), welcher an der Antigenerkennung beteiligt ist, während sich am anderen Ende der schweren Ketten eine konstante Carboxylgruppe (C-Terminus, oder C-Region) befindet, die bestimmte Wirkungsfunktionen vermittelt. Die V-Regionen einer schweren und der dazugehörigen leichten Kette bilden zusammen eine Antigen-Bindungsstelle; jeder Antikörper besitzt somit zwei Antigen-Bindungsstellen. Die C-Region, welche nicht an der Antigenerkennung beteiligt ist, interagiert stattdessen mit den

Rezeptoren weiterer Immunzellen und bestimmt darüber die biologischen Funktionen der Antikörper. Je nach Isotyp werden die schweren und leichten Ketten an unterschiedlichen Lokalisationen im Molekül durch Disulfidbrücken verbunden. Antikörper sind am Beispiel von IgG in drei Hauptbestandteile unterteilt: Zwei Teile sind identisch und bestehen jeweils aus einer leichten Kette und einer Amino- und Carboxyl-Domäne der schweren Kette. Dieser Bereich ist für die Antigenerkennung zuständig und wird als F_{ab} -Region (Antigen-bindendes Fragment) bezeichnet. Der dritte Teil besteht aus zwei identischen Disulfidgebundenen Peptiden mit zwei Domänen der schweren Ketten. Dieser Bereich des IgG neigt zur Selbstassoziation und Kristallisierung in eine Gitterstruktur, weshalb er als F_c (kristallisierbares Fragment) bezeichnet wird. Die Variabilität zwischen Antikörpern ergibt sich aus jeweils drei kurzen Abschnitten der V_L (V-Region der leichten Kette) sowie der V_H - Region (V-Region der schweren Kette), sog. Hypervariable Segmente, die drei abstehende Schleifen bilden. Diese verbinden benachbarte β -Faltblätter über kurze Disulfidbrücken miteinander, welche somit die V-Domänen der schweren und leichten Ketten bilden. Genauer betrachtet, besteht die Antigen-bindende Oberfläche aus jeweils drei hypervariablen Regionen sowohl einer V_L -Region als auch einer V_H -Region, die, vergleichbar mit Fingern, eine komplementäre Bindungsstelle zum drei-dimensionalen Aufbau der Antigene ergibt. Diese Bindungsstellen werden demnach auch als komplementaritätsbestimmende Regionen bezeichnet (ABBAS et al., 2012c). Weiter beschreiben ABBAS et al. (2012), dass je nach Struktur der C-Region der schweren Ketten verschiedene Gruppen und Untergruppen von Antikörpern unterschieden werden können. Die Antikörperklassen werden auch als Isotypen bezeichnet und umfassen IgA, IgD, IgE, IgG und IgM. Innerhalb eines Isotyps weisen die C-Regionen dieselbe Aminosäuresequenz auf, während sich diese Sequenz zwischen den einzelnen Isotypen unterscheidet. Je nach Buchstaben der Antikörperklasse wird die schwere Kette mit dem entsprechenden Buchstaben des griechischen Alphabets gekennzeichnet. Somit werden etwa die schweren Ketten der IgE Antikörper mit ϵ bezeichnet. Humane IgM- und IgE-Antikörper enthalten in den C-Regionen vier Ig-Domänen, während die C-Regionen von IgG, IgA und IgD nur drei Ig-Domänen enthalten. Diese Domänen werden allgemein als C_H -Domänen bezeichnet und werden ausgehend vom Aminoterminal zum Carboxylterminus fortlaufend nummeriert (z.B. C_{H1} , C_{H2} usw.). In jedem Isotyp können diese Bereiche noch spezifischer bezeichnet werden (z.B. $C_{\gamma 1}$, $C_{\gamma 2}$ bei IgG).

Der Isotyp bzw. Subtyp entscheidet darüber, welche Effektorfunktionen übernommen werden, da diese Funktionen durch die Bindung der schweren Ketten der Antikörper an F_c-Rezeptoren unterschiedlichster Zellen, wie Phagozyten, Natürliche Killer-Zellen, Mastzellen und Plasmazellen vermittelt werden (ABBAS et al., 2012c). Auch zwischen unterschiedlichen Spezies zeigen sich Differenzen in den C-Regionen sowie einzelner Fragmente der V-Regionen. Werden also Antikörper einer Spezies in eine andere verbracht, antwortet der Empfänger mit einer spezifischen Immunreaktion. Hierbei werden Antikörper, die hauptsächlich gegen die C-Region der eingebrachten Ig-Moleküle gerichtet sind, gebildet (ABBAS et al., 2012c).

Alle Antikörper, wie z. B. IgG1, besitzen eine sog. Scharnierregion, die eine Flexibilität zwischen den antigenbindenden F_{ab}-Regionen und der F_c-Domäne ermöglicht (SENGER & ZARRIN, 2016). Interessanterweise stellt die C_{H2}-Domäne von IgE das strukturelle Äquivalent zur Scharnierregion von IgG1 dar (SENGER & ZARRIN, 2016). Die C_{H2}-Domäne faltet sich zurück und stellt sowohl Kontakte zur C_{H3}- als auch zur C_{H4}-Domäne her, wodurch ein kompakt gefaltetes Molekül entsteht (SENGER & ZARRIN, 2016). Die Biegung deutet auf eine wesentliche Konformationsänderung in der C_{H2}-Domäne hin, die bei der Bindung von IgE an seinen Rezeptor stattfindet, und könnte der Grund sein für die außergewöhnlich langsame Dissoziationsrate von rezeptorgebundenem IgE. Außerdem könnte dies die langanhaltende allergische Sensibilisierung von Mastzellen erklären (SENGER & ZARRIN, 2016).

IgE-Antikörper zählen zu den ersten Abwehrmolekülen, die mit einem eindringenden Pathogen in Kontakt treten, da sie in hoher Konzentration in Schleimhäuten vorliegen (GOULD et al., 2003; GOULD & SUTTON, 2008).

Die Bindung von IgE an dessen hochaffinen Rezeptor (FcεRI) auf Mastzellen vermittelt eine sog. Hypersensitivität vom Soforttyp. Diese äußert sich anhand charakteristischer Symptome der verschiedenen Zielorgane der Allergie - der Haut, dem Gastrointestinaltrakt und dem Respirationstrakt (GOULD & SUTTON, 2008). Die durch Allergene induzierte Vernetzung von IgE-FcεRI-Komplexen auf der Mastzelloberfläche führt innerhalb von Minuten zur sog. "Frühphase" der allergischen Reaktion, die charakterisiert ist durch die Mastzelldegranulation. Die in dieser frühen Phase freigesetzten Zytokine und Chemokine leiten nachfolgend die "Spätphase" ein, die ihren Höhepunkt einige Stunden später erreicht und die

weitere Rekrutierung und Aktivierung von Entzündungszellen beinhaltet (GOULD et al., 2003; GOULD & SUTTON, 2008; SENGER & ZARRIN, 2016). In ähnlicher Weise aktivieren Allergene auch Antigen-präsentierende Zellen (APCs), die B-Zellen zur weiteren Produktion von IgE anregen (GOULD & SUTTON, 2008). IgE bindet außerdem an den FcεRI-Rezeptor an der Oberfläche von Langerhans-Zellen und epithelialen dendritischen Zellen, welche der Überwachung von Antigenen an Körperoberflächen dienen. Haben die Allergene an den APCs gebunden, erfolgt die Präsentation dieser Allergenfragmente an T_H-Zellen (Helfer-T-Zellen), die sich entweder lokal im Gewebe oder in den umliegenden Lymphknoten befinden (GOULD & SUTTON, 2008). Monozyten und Eosinophile Granulozyten werden als IgE-Effektorzellen bezeichnet und werden an die Orte der allergischen Entzündung rekrutiert (GOULD & SUTTON, 2008). IgE regt die Expression von FcεRI an, während IL-4 und IL-13 die Expression von CD23 (IgE-Rezeptor mit niedriger Affinität) an Monozyten und Eosinophilen stimulieren. Dies rüstet die Zellen für wichtige Abwehr-Funktionen, wie die Beseitigung von Antigen-IgE-Komplexen und die Abtötung und Phagozytose von Krankheitserregern (z. B. Helminthen) (GOULD & SUTTON, 2008). Darüber hinaus fördert die IgE-abhängige Mastzellaktivierung über die Steigerung der Darmperistaltik und Schleimsekretion im Magen-Darm-Trakt die Ausstoßung der Parasiten (ABBAS et al., 2012b).

Die Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren durch aktivierte Mastzellen, Epithelzellen und andere Zellen, die alle zum Ort der allergischen Entzündung rekrutiert werden, führt schließlich zu einer unspezifischen Verringerung der Barrierefunktion des Epithels und zur Fortschreitung des Krankheitsprozesses (GOULD & SUTTON, 2008).

3.1.2. Fcε Rezeptor

Die Immunabwehrfunktionen des Körpers basieren auf der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, die in Wechselwirkung mit vielen Zellen des Körpers eine Reihe wichtiger Funktionen zum Schutz des Organismus auslösen (KINET, 1999). Diese Aufgaben werden durch die Bindung der F_c-Domäne der Immunglobuline an ihre entsprechenden Rezeptoren (F_cR) vermittelt. Einer dieser Rezeptoren bindet mit hoher Affinität pathogen- oder allergenspezifisches IgE und wird als FcεRI bezeichnet (KINET, 1999). Die Funktion des Rezeptors bzw. die Interaktion zwischen IgE und FcεRI auf Gewebemastzellen und Granulozyten ist entscheidend

für die allergische Sofortreaktion und besteht in der Vermittlung der zellulären Degranulation und der Freisetzung verschiedener Mediatoren wie Histamin, Leukotrienen und einer Reihe von Zytokinen und Chemokinen (KINET, 1999; SUTTON & DAVIES, 2015).

Fc ϵ RI ist ein tetramerer Komplex ($\alpha\beta\gamma_2$), der entweder in dieser oder in einer trimeren Form ($\alpha\gamma_2$) auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert wird. Zu diesen zählen verschiedene antigenpräsentierende Zellen, dendritische Zellen, Langerhans-Zellen, Monozyten, Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile und Thrombozyten, Zellen der glatten Muskulatur des Respirationstraktes, bronchiale Epithelzellen und Darmepithelzellen (GOULD & SUTTON, 2008; SUTTON & DAVIES, 2015). Hauptsächlich jedoch wird der Fc ϵ RI-Rezeptor auf der Oberfläche von Mastzellen und Basophilen exprimiert (KINET, 1999; ABBAS et al., 2012b). Je nach Lokalisation der Zelle wird bei der Bindung an den Rezeptor eine entsprechende IgE-vermittelte allergische Reaktion ausgelöst (GOULD & SUTTON, 2008; SUTTON & DAVIES, 2015).

Jedes Fc ϵ RI-Molekül besteht aus einer α -Kette, welche die F_c-Region von IgE bindet, sowie einer β -Kette und zwei γ -Ketten, die für die Signalgebung verantwortlich sind. Während der aminoterminalen extrazellulären Teil der α -Kette aus zwei Ig-ähnlichen Domänen besteht, die die Bindungsstelle für IgE bilden (ABBAS et al., 2012b), enthält die β -Kette ein Immunrezeptor-Tyrosin-basiertes Aktivierungsmotiv (ITAM) im zytoplasmatischen carboxyterminalen Ende. Die beiden identischen γ -Ketten sind über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden und besitzen jeweils im zytoplasmatischen Teil ebenfalls ein ITAM (GOULD & SUTTON, 2008; ABBAS et al., 2012b). Mittels Tyrosin-Phosphorylierung der ITAMs der β - und γ -Ketten wird die Signalkaskade des Rezeptors initiiert, die für die Mastzellaktivierung erforderlich ist (ABBAS et al., 2012b).

Ein zweiter IgE-Rezeptor, Fc ϵ RII bzw. CD23, der für die IgE-Homöostase verantwortlich ist und hauptsächlich auf B-Zellen exprimiert wird, weist eine deutlich geringere Affinität für IgE auf als Fc ϵ RI und wird strukturell zu den C-Typ (calcium-abhängigen) Lektin-Rezeptoren gezählt (ABBAS et al., 2012b; MCDONNELL et al., 2023). CD23 besteht aus drei Kopfdomänen, die über eine trimere α -helikale Coiled-Coil-Stielregion mit der Membran verbunden sind sowie einer kurzen intrazytoplasmatischen Sequenz, von der zwei Varianten existieren: CD23a und CD23b (MCDONNELL et al., 2023). CD23a wird von aktivierten B-

Zellen exprimiert, bevor diese sich in Plasmazellen differenzieren, während CD23b durch IL-4 exprimiert wird und auf verschiedenen Entzündungszellen, B-Zellen und besonders Epithelzellen zu finden ist (GOULD & SUTTON, 2008; MCDONNELL et al., 2023). Die Stielregion ist anfällig für Proteolyse und spielt in der IgE-Homöostase eine entscheidende Rolle. Im Falle von zu niedrigen IgE-Konzentrationen werden durch Proteolyse lösliche Fragmente (lösliches CD23) freigesetzt, die in der Folge an Membran-IgE und dem Co-Faktor CD21 binden und B-Zellen zu mehr IgE Produktion anregen. Ist hingegen zu viel IgE vorhanden, binden IgE-Antikörper oder Antigen-IgE-Moleküle an das membranständige CD23 und verhindern damit die Proteolyse (SUTTON et al., 2019; MCDONNELL et al., 2023).

3.1.3. Dendritische Zellen und Langerhans-Zellen

Dendritische Zellen (DC) sind die wichtigste Zellgruppe im System der APCs. APCs sind Zellpopulationen, welche Antigene aufnehmen, um sie Lymphozyten zu präsentieren und Signale liefern, die die Vermehrung und Differenzierung dieser anregen (HILL & OLIVRY, 2001; ABBAS et al., 2012a). DCs befinden sich in lymphatischen Geweben, Organparenchymenten und Schleimhautepithelien (ABBAS et al., 2012a) und tragen auf ihrer Oberfläche große zahlreiche „Major-Histocompatibility (MHC)-Komplexe“, mit Hilfe derer sie Antigene einfangen und verarbeiten. Eine besondere Form der DCs stellen die sog. *Langerhans-Zellen* dar (SALMON et al., 1994; BANCHEREAU & STEINMAN, 1998). Sie sind die wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen der Plattenepithelien (STREILEIN & BERGSTRESSER, 1984). Sie leiten sich von der monozytären Linie des Knochenmarks ab und sind hauptsächlich in der suprabasalen Region der Epidermis zu finden (WOLFF & STINGL, 1983). Treffen Langerhans-Zellen auf einen immunologischen Stimulus wie z.B. infektiöse Erreger oder Kontaktallergene, sezernieren sie zahlreiche Zytokine (darunter IL1 β und TNF α), Chemokine und Neuropeptide. Diese wiederum stimulieren umliegende Keratinozyten, ebenfalls Botenstoffe zu sezernieren (YAMAGUCHI et al., 2023). Unter dem Einfluss dieser Faktoren migrieren die Langerhans-Zellen zu den dermalen, ableitenden Lymphknoten. Dort präsentieren sie den MHC-I- und MHC-2-Komplex, welche daraufhin naive CD8+ und CD4+ T-Zellen aktivieren (Priming). Dieses Priming veranlasst naive T-Zellen zur Expression von T-Zell-Rezeptoren (TCRs), die zu

einer Ausbreitung von T-Zellen führen, die spezifisch für das jeweilige Allergen sind, gefolgt von der Bildung und Verteilung von Gedächtnis- und Effektorzellen im gesamten Körper, einschließlich der Haut, der Lymphknoten und der Blut- und Lymphgefäße (YAMAGUCHI et al., 2023).

3.1.4. Mastzellen, basophile und eosinophile Granulozyten

Mastzellen, Basophile und Eosinophile sind die Effektorzellen der allergischen Sofortreaktion, deren Granula im Zytoplasma die Hauptmediatoren für allergische Reaktionen enthalten (ABBAS et al., 2012b).

Mastzellen wurden zum ersten Mal im Jahre 1836 durch von Recklinghausen beschrieben, die Namensgebung fand aber erst 1878 durch den deutschen Medizinstudenten Paul Ehrlich statt. Er dachte, die Zellen seien "gemästet" mit phagozytiertem Material, das sich in Form zahlreicher Granula im Zytoplasma zeigte (HILL & MARTIN, 1998). Später konnte jedoch nachgewiesen werden, dass diese Granula unterschiedliche Entzündungsmediatoren enthalten, wobei Histamin das wichtigste darunter ist und durch bestimmte Stimuli aus den Mastzellen freigesetzt wird (RILEY & WEST, 1953).

Obwohl Mastzellen und Basophile Granulozyten eng miteinander verwandt sind, wird der Ursprung und die Entwicklung von Mastzellen seit jeher kontrovers diskutiert (CHHIBA et al., 2017). Man vermutet, dass sich Basophile Granulozyten und Mastzellen aus hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks über gemeinsame myeloische Progenitoren und Granulozyten-Monozyten-Progenitoren zu Granulozyten-Vorläuferzellen entwickeln (SASAKI et al., 2016). Es hat sich gezeigt, dass sich diese Granulozyten-Vorläuferzellen entweder zu Basophilen oder Mastzellvorläuferzellen differenzieren (CHHIBA et al., 2017). Studien auf Einzelzellebene jedoch zweifeln diese Annahme an und sehen die Ursprünge nur in den myeloischen Progenitorzellen, nicht jedoch in den Granulozyten-/Makrophagen-Vorläuferzellen (CHHIBA et al., 2017). Gemeinsame Vorläuferzellen finden sich zudem in der Milz und können sowohl Basophile als auch Mastzellen bilden (SASAKI et al., 2016; CHHIBA et al., 2017). Mastzellen werden in Folge in den Blutkreislauf freigesetzt, reifen, sobald sie sich in den Geweben befinden und überleben wenige Wochen bis Monate (CHHIBA et al., 2017).

Mastzellen der Haut von atopischen und gesunden Hunden gleichermaßen lassen

sich anhand von mastzellspezifischen Proteasen in drei Subtypen unterteilen: Tryptase-haltige Mastzellen (T-MC), Chymase-haltige Mastzellen (C-MC) und solche, die sowohl als auch enthalten (TC-MC). Die Mastzellendichte war hierbei bei atopischen Hunden sowohl mit läsionaler als auch nicht-läsionaler Haut niedriger als bei normalen Hunden (WELLE et al., 1999). Die höchsten Konzentrationen an Mastzellen, findet man an jenen Körperregionen, die Kontakt zu Umwelt aufnehmen, sprich der Haut, dem Gastrointestinaltrakt und der Lunge (HILL & MARTIN, 1998). In der Haut reichern sie sich vor allem um Blutgefäße, Nerven, Talgdrüsen, Schweißdrüsen und Haarfollikel an sowie unmittelbar unter der Epidermis (KURTDEDE et al., 2005). Die größte Anzahl an Mastzellen konnte bei gesunden Hunden in der superfiziellen Dermis, sowohl an den lateralen als auch medialen Pinnae sowie der ventralen Interdigitalregion der Pfoten detektiert werden, hier waren die Konzentrationen auch um 150% höher, als in den übrigen untersuchten Körperregionen. Die niedrigsten Konzentrationen hingegen fanden sich am ventralen Abdomen, Axillarbereich und dem Planum nasale (AUXILIA & HILL, 2000; KURTDEDE et al., 2005). Auch eine deutliche Abnahme der Mastzellzahl von superfizieller zu tiefer Dermis war zu bemerken (AUXILIA & HILL, 2000; KURTDEDE et al., 2005).

Mastzellen sind sowohl an der Sofort- als auch der Spätreaktion der Allergie beteiligt (NAGAI et al., 2000). Im Allgemeinen scheinen sich die funktionellen Aufgaben von Mastzellen und Basophilen zu überschneiden, weshalb sie auf viele gleiche Stimuli reagieren. Der am besten untersuchte gemeinsame Aktivierungsmechanismus ist die Vernetzung des Oberflächen-FcεRI-Rezeptors, der die Freisetzung von Histamin und anderer Entzündungsmediatoren wie Heparin, Chondroitinsulfat, Proteasen (Tryptase, Chymase) sowie Eicosanoiden und entzündlichen Zytokinen (IL-4, -5, -6 und TNF-α) fördert (SCHWARTZ, 1994; CHHIBA et al., 2017). An den noch nicht vollständig erforschten Prozessen sind unter anderem G-Proteine, Tyrosinkinase, Inositoltriphosphate, Proteinkinase C, Calciumkanalaktivierung und verschiedene Umstrukturierungen der Plasmamembran, die einen Kontakt zwischen den Mastzellgranula und der Plasmamembran ermöglichen, beteiligt (HILL & MARTIN, 1998; HILL & OLIVRY, 2001). Neben dem FcεRI-Rezeptor exprimieren Mastzellen und Basophile auch ST2, den Rezeptor für IL-33, ein "epitheliales" Zytokin, das Typ-2-assoziierte Immunreaktionen fördert und stark mit Allergien in Verbindung

gebracht wird (CHHIBA et al., 2017). Es konnte gezeigt werden, dass Mastzellen nach einer IL-33-vermittelten Aktivierung eine erhöhte Adhäsion, Überlebensrate, Reifung und Produktion verschiedener proinflammatorischer Zytokine aufweisen (CHHIBA et al., 2017). Zusätzlich zur Freisetzung von Mediatoren und der Erzeugung von Arachidonsäure-Metaboliten, was innerhalb weniger Sekunden bis 30 min passiert, werden in Mastzellen zusätzlich verschiedene Zytokine erzeugt, diese aber erst Stunden nach der Mastzellaktivierung freigesetzt (HILL & MARTIN, 1998). Die Produktion dieser Zytokine deutet darauf hin, dass Mastzellen auch wichtige regulatorische Zellen in der Immunantwort darstellen. So ist z.B. das Zytokin TNF- α wahrscheinlich für die Leukozyteninfiltration verantwortlich, die bei allergischen Spätreaktionen beobachtet wird (HILL & MARTIN, 1998).

Basophile Granulozyten sind Blutgranulozyten mit strukturellen und funktionellen Ähnlichkeiten zu Mastzellen. Wie andere Granulozyten stammen Basophile von Vorläuferzellen des Knochenmarks ab, reifen dort und zirkulieren im Blut (ABBAS et al., 2012b). Der genaue Entwicklungszyklus der Basophilen Granulozyten wird aktuell immer noch stark diskutiert (HUANG et al., 2016; CHHIBA et al., 2017; MIYAKE et al., 2020).

Basophile machen weniger als 1 % der Leukozyten im Blut aus (MIYAKE et al., 2020). Wie Mastzellen exprimieren auch Basophile den hochaffinen IgE-Rezeptor Fc ϵ RI ($\alpha\beta\gamma 2$) auf ihrer Zelloberfläche. Binden Antigene daran, führt dies zur Freisetzung von vorgebildeten Granulainhalten, wie Histamin und Proteasen, gefolgt von der De-novo-Synthese von Lipidmediatoren, Zytokinen (IL-4, IL-6, TNF, etc.) und Chemokinen (HUANG et al., 2016; MIYAKE et al., 2020). Die Funktionalität von Basophilen und Mastzellen scheint sich zu überschneiden (HUANG et al., 2016; CHHIBA et al., 2017). Die freigesetzten Mediatoren haben vielseitige Funktionen: (1) Förderung der Transmigration und Chemotaxis von Eosinophilen Granulozyten ins Gewebe, (2) Einwirken auf inflammatorische Monozyten, was zu deren Differenzierung in anti-inflammatorische Makrophagen führt, (3) Präsentation von Antigenen gegenüber naiven T-Zellen und damit Förderung der Differenzierung von T_H2-Zellen durch MHC-II-tragende Basophile (HUANG et al., 2016; MIYAKE et al., 2020), (4) Verstärkung der humoralen Immunantwort über unterschiedliche Pfade und (5) Beteiligung an dem Phänomen des anaphylaktischen Schocks durch Freisetzung von Histamin (MIYAKE et al.,

2020).

Eosinophile Granulozyten, traditionell als Killer-Effektor-Zellen bei Parasitenbefall und Modulatoren von Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen gesehen (MCEWEN, 1992), stammen aus dem Knochenmark und zirkulieren nach ihrer Reifung im Blut (ABBAS et al., 2012b). IL-3 und IL-5 sowie der Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierende Faktor (GM-CSF) fördern deren Reifung und Aktivierung (WELLER, 1991; KAPLAN & KUNA, 1998; ABBAS et al., 2012b). Hauptsächlich zu finden sind Eosinophile in der Haut, der Lunge, dem Gastrointestinal- und dem Urogenitaltrakt (WELLER, 1991; MCEWEN, 1992; ABBAS et al., 2012b). Neben der Reaktion auf pro-inflammatorische Zytokine, die von T-Zellen und weiteren Entzündungszellen freigesetzt werden, kommunizieren sie mit anderen Eosinophilen sowie Lymphozyten und dendritischen Zellen. Für diese pro-inflammatorischen Zytokine, Chemokine wie Eotaxin 1, 2 und RANTES, und chemotaktische Faktoren wie Komplementkomponenten, Leukotrien B₄, Histamin und Parasitenextrakte besitzen Eosinophile bestimmte Oberflächenrezeptoren (KAPLAN & KUNA, 1998; HILL & OLIVRY, 2001; CHUSID, 2018). Sie sind in geringerem Ausmaß als Neutrophile Granulozyten dazu in der Lage, Bakterien, Hefepilze oder Immunkomplexe zu phagozytieren. Sie wirken aber hauptsächlich über die Sekretion ihrer proteinhaltigen Granula (WELLER, 1991; MCEWEN, 1992). Eosinophile selbst produzieren verschiedene Zytokine wie IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , GM-CSF und pro-inflammatorische Mediatoren wie Leukotrien C₄, die granulären kationischen Proteine, Major Basic Protein (MBP) 1 und 2, Eosinophil Cationic Protein (ECP), Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN) und Eosinophil Peroxidase (EPO) (FERRARI et al., 2020). MBP wirkt über die Beeinträchtigung der elektrischen Eigenschaften und der Permeabilität der Zellmembran zytotoxisch. Außerdem induziert es die Degranulation von Mastzellen und Basophilen. ECP wirkt ebenfalls indirekt zytotoxisch, indem es spannungsunabhängige, nicht-selektive Poren in der Membran der Zielzellen bildet, sodass zytotoxische Moleküle eindringen können. ECP und EDN, die der Ribonuklease-A-Superfamilie angehören, töten einzelsträngige RNA-Pneumoviren ab. Darüber hinaus erzeugen Eosinophile reaktive Sauerstoffspezies und lysosomale Hydrolasen, die für Bakterien, Parasiten, aber auch für das umliegende Gewebe toxisch sind (FERRARI et al., 2020).

Während Eosinophile in histologischen Schnitten normaler Hundehaut selten zu

finden sind, steigt ihre Anzahl bei einer AD etwa um das Zehnfache. Im Vergleich dazu ist allerdings die Anzahl dermalter Mastzellen bei cAD zwei - bis zehnfach höher als die Zahl der Eosinophilen, und auch die Infiltration mit Monozyten kann fast hundertfach höher liegen (HILL & OLIVRY, 2001). Betrachtet man die reine Anzahl der Zellen, scheinen Eosinophile bei cAD keine besonders wichtige Rolle zu spielen. Nichtsdestotrotz können bei wenigen Hunden mit AD in dermatohistologischen Schnitten eosinophile Exozytosen, die Bildung von subkornealen eosinophilen Mikroabszessen oder subkorneale eosinophile Degranulationen gesehen werden. Da sie ohne besondere Färbung schlecht darstellbar sind, erscheinen sie in Standardschnitten möglicherweise leicht unterrepräsentiert (HILL & OLIVRY, 2001).

3.1.5. Lymphozyten

Lymphozyten zählen zur Gruppe der weißen Blutkörperchen (LAROSA & ORANGE, 2008) und sind die einzigen Zellen im Körper, die klonal verteilte Antigenrezeptoren exprimieren (ABBAS et al., 2012a). Das bedeutet, dass jeder Klon der Lymphozyten aus der Nachkommenschaft einer Zelle abstammt und somit nur Antigenrezeptoren mit einer einzigen Spezifität exprimiert. Dank Millionen von Lymphozytenklonen im Körper kann der Organismus ebenso viele Antigene erkennen und darauf reagieren (ABBAS et al., 2012a).

Lymphozyten werden in drei große Untergruppen aufgeteilt: T- und B-Zellen sowie natürliche Killerzellen, welche alle unterschiedliche Aufgaben im Körper übernehmen. Dazu zählen die Produktion von Antikörpern, die Regulierung der Immunantwort sowie die direkte zellvermittelte Abtötung virusinfizierter Zellen (LAROSA & ORANGE, 2008).

Alle drei Zelltypen stammen von gemeinsamen lymphoiden Vorläuferzellen des Knochenmarks ab (RADTKE et al., 2002). Je nach Entwicklungsort differenzieren sie sich im weiteren Verlauf entweder zu B- oder T-Zellen. Jene Vorläuferzellen, die in das Thymusgewebe abwandern und Signale über sog. Notch-Rezeptoren erhalten, wandeln sich zu T-Zellen weiter. Vorläuferzellen, deren Entwicklung im Knochenmark stattfindet, werden zu B-Zellen (RADTKE et al., 2002). Die volle Reife erlangen B-Zellen jedoch erst in den peripheren Lymphorganen (LAROSA & ORANGE, 2008). Die nun entstandenen frühen B- und T-Zellen entwickeln sich über multiple Gen-Variationen ihrer Rezeptoren weiter und erlangen hierdurch

schließlich ihre Spezifität und Variabilität (LAROSA & ORANGE, 2008). Frühe T-Zellen entwickeln sich so zu CD4/CD8 Co-Rezeptor-tragenden T-Zellen. Je nach Intensität ihrer Bindung an MHC II bzw. MHC I Zellen treten zwei neue Linien hervor: CD4+ und CD8+ T-Zellen (LAROSA & ORANGE, 2008). Mit der Bindung der T-Zellen an ihre spezifischen MHC-Peptide der APCs, kommt es über T-Zell-Rezeptorsignale und nachfolgenden ko-stimulatorischen Signalen durch CD28 zum sog. „Priming“, sprich die erste antigenspezifische Aktivierung und Proliferation der T-Zellen. Nach dem Priming differenzieren sich die naiven T-Zellen letztlich zu Effektor-T-Zellen, welche zukünftig antigenspezifische Funktionen ausüben, ohne dass eine erneute Ko-Stimulation erforderlich ist (LAROSA & ORANGE, 2008).

CD8+-T-Zellen sind von zentraler Bedeutung: Ihre Funktion charakterisiert sich durch ihre antigenspezifische Zytotoxizität (LAROSA & ORANGE, 2008). Beim Priming produzieren CD8+-T-Zellen zytotoxische Proteine, die am Kontaktpunkt mit der Zielzelle, der sog. immunologischen Synapse, sezerniert werden. Dies führt nachfolgend zu einer spezifischen Abtötung der Zielzelle ohne Schädigung der unmittelbar benachbarten Zellen (LAROSA & ORANGE, 2008).

Das Priming von CD4+-T-Zellen hat im Gegensatz zu den CD8+-T-Zellen die Differenzierung mehrerer Untergruppen zufolge, welche sich durch die Produktion verschiedener Zytokine und in ihren Effektor-Funktionen unterscheiden (LAROSA & ORANGE, 2008). Zum Beispiel sezernieren T_H1-Zellen (Typ-1-Helfer-T-Zellen) IL-2 sowie Interferon γ (IFN- γ), T_H2-Zellen hingegen sezernieren IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10. T_H1-Zellen spielen eine große Rolle bei lokalen Entzündungs- und zytotoxischen Reaktionen (MALE et al., 2013b). Sie helfen bei der Entwicklung von zytotoxischen T-Zell-Vorläufern hin zu Effektorzellen, um virusinfizierte Zielzellen abzutöten. Zudem aktivieren sie Makrophagen, die mit intrazellulären Krankheitserregern infiziert sind, und fördern durch die Produktion von IFN- γ deren Abtötung (MALE et al., 2013b). Einige T_H1-Zellen helfen auch den B-Zellen bei der Produktion verschiedener Klassen von Antikörpern. T_H2-Zellen stimulieren B-Zellen zur Proliferation sowie zum Klassenwechsel von IgG zu IgE Antikörpern. Sie dienen daher in erster Linie dem Schutz vor frei lebenden, extrazellulären Mikroorganismen (humorale Immunität) (MALE et al., 2013b).

CD4⁺ sowie CD8⁺ Lymphozyten finden sich normalerweise in geringer Anzahl in caniner Epidermis und Dermis. Unabhängig davon, ob Hautläsionen vorliegen,

finden sich in der atopischen Epidermis beide Zelltypen in größerer Anzahl als in normaler Haut (SINKE et al., 1997). Lymphozyten können wie andere Entzündungszellen auch in inflammatorische Areale rekrutiert werden. Bei erneuter Exposition sensibilisierter Hunde führte es sogar zu einem weiteren Anstieg der Lymphozytenzahl (PUCHEU-HASTON et al., 2008).

B-Zellen werden definiert durch ihre Oberflächen-Immunglobuline; dies sind Transmembranmoleküle, die in die B-Zellmembran eingebaut werden, wo sie dann als spezifische Antigenrezeptoren wirken (MALE et al., 2013b). Viele B-Zell-Blasten reifen nach deren Aktivierung zu Antikörper-bildenden Zellen, welche sich *in vivo* zu Plasmazellen wandeln. Eine weitere Untergruppe von B-Zellen verbleibt als langlebige Gedächtnis-B-Zellen in der Peripherie (MALE et al., 2013b). Plasmazellen machen weniger als 0,1% der zirkulierenden Lymphozyten aus und beschränken sich normalerweise auf die sekundären lymphatischen Gewebe und Organe. Aber auch im Knochenmark sind sie zu finden (MALE et al., 2013b). Ihre einzige Funktion besteht darin, Immunglobuline zu produzieren. Daher besitzen Plasmazellen nur wenige Oberflächenrezeptoren und reagieren nicht auf Antigene (MALE et al., 2013b). Im Gegensatz zu ruhenden B-Zellen oder Gedächtnis-B-Zellen exprimieren Plasmazellen keine Oberflächen-B-Zell-Rezeptoren oder MHC-Klasse II-Rezeptoren. Die von einer einzelnen Plasmazelle produzierten Antikörper sind von einer Spezifität (Idiotyp) und Immunglobulinklasse (MALE et al., 2013b).

3.1.6. Zytokine

Mastzellen und Basophile produzieren viele verschiedene Zytokine, die zur Spätphasenreaktion der allergischen Entzündung beitragen. (ABBAS et al., 2012b). Zytokine sind Moleküle, die zur Signalübertragung zwischen den Zellen während Immunantworten sezerniert werden. Man unterscheidet verschiedene Kategorien an Zytokinen (MALE et al., 2013a).

Interleukine wurden in der Reihenfolge ihrer Entdeckung durchnummeriert und vermitteln die Signalübertragung zwischen Lymphozyten und anderen Leukozyten (TIZARD, 2013). Sie werden hauptsächlich von T-Zellen produziert, einige aber auch von mononukleären Phagozyten oder von Gewebezellen (MALE et al., 2013a).

Interferone werden als Reaktion auf eine Virusinfektion oder Immunstimulation

produziert und greifen in die RNA- und Proteinsynthese ein (TIZARD, 2013). Man unterscheidet drei Arten: die wichtigsten Vertreter der Interferone Typ 1 sind IFN- α und IFN- β . Der einzige Vertreter des Interferons Typ 2 ist IFN- γ . IFN- α und IFN- β werden von virusinfizierten Zellen produziert, während IFN- γ von aktivierten T_H1-Zellen freigesetzt wird (TIZARD, 2013). IFNs werden sehr früh während einer Infektion produziert und induzieren einen Zustand der antiviralen Resistenz in nicht-infizierten Zellen. So verzögern sie die Ausbreitung eines Virus, bis die adaptive Immunreaktion einsetzt (MALE et al., 2013a).

Tumor-Nekrose-Faktoren (TNF) werden von Makrophagen und T-Zellen ausgeschüttet. Sie können Tumorzellen abtöten und sind an der Immunregulation und Entzündungsreaktion beteiligt (TIZARD, 2013). Sie aktivieren die endotheliale Expression von Adhäsionsmolekülen und sind zusammen mit Chemokinen für das Infiltrat von Neutrophilen und Monozyten verantwortlich (ABBAS et al., 2012b).

Viele Zytokine sind *Wachstumsfaktoren* (oder koloniestimulierende Faktoren, CSF), welche die Produktion von Blutzellen durch Steuerung der Stammzellaktivität des Knochenmarks und der Vorläuferzellen der Blutleukozyten regulieren. Dadurch stellen sie sicher, dass der Körper mit ausreichend Zellen zur Selbstverteidigung versorgt wird (MALE et al., 2013a; TIZARD, 2013).

Chemokine gehören zu einer Gruppe von mindestens 50 kleinen Zytokinen, die eine entscheidende Rolle bei der Chemotaxis, Zirkulation, Migration und Aktivierung von Leukozyten spielen, insbesondere bei Entzündungen (MALE et al., 2013a; TIZARD, 2013).

Zytokine werden von T-Lymphozyten produziert, die man in zwei Klassen unterteilt. T_H2 produzieren IL-4, IL-5 und IL-13. Diese rekrutieren Eosinophile Granulozyten zum Entzündungsherd und aktivieren B-Lymphozyten, die daraufhin vermehrt IgE produzieren. T_H1 produzieren hauptsächlich IL-12 und INF- γ , welche die Produktion von IgE unterdrücken und stattdessen die Produktion von IgG-Antikörpern anregen können (BIEBER, 2008).

Die Haut atopischer Hunde zeigt eine gemischte T_H1 – und T_H2 -Immunreaktivität (NUTTALL et al., 2002; SCHLOTTER et al., 2011). TNF, IL-1, CCL3 und CCL4 zählen ebenfalls zu den Zytokinen. Neben der Freisetzung der Granula nach Mastzellaktivierung kann präformiertes TNF auch in Granula gespeichert und bei einer nachfolgenden Fc ϵ RI-Vernetzung schnell freigesetzt werden (ABBAS et al.,

2012b). T_H2-Zellen, die an den Orten der allergischen Reaktion rekrutiert werden, produzieren ebenfalls einige dieser Zytokine. Die Zytokine, die von aktivierten Mastzellen, Basophilen und T_H2-Zellen freigesetzt werden, sind hauptsächlich für die mit der Spätphasenreaktion verbundenen Entzündung verantwortlich (ABBAS et al., 2012b). Neben der allergischen Entzündung tragen Mastzellzytokine offenbar auch zu den angeborenen Immunantworten auf Infektionen bei. Mausmodelle deuten zum Beispiel darauf hin, dass Mastzellen für eine wirksame Verteidigung gegen einige bakterielle Infektionen erforderlich sind, und diese Effektor-Funktion wird weitgehend durch TNF vermittelt (ABBAS et al., 2012b).

3.1.7. Allergische Reaktionen

ABBAS et al. (2012) beschreibt detailliert die Pathogenese der allergischen Reaktionen. Die Hauptmerkmale allergischer Reaktionen umfassen einerseits die Aktivierung der T_H2-Zellen und andererseits die Produktion von IgE-Antikörpern. So reagieren Menschen mit atopischer Veranlagung mit einer ausgeprägten T_H2-Antwort und einer massiven IgE-Antikörperproduktion, wenn sie mit potenziell allergenen Substanzen in Kontakt kommen. Bei gesunden Individuen hingegen werden eher andere Ig-Isotypen, wie IgM oder IgG, produziert, und nur geringe Mengen an IgE. Die Regulierung der IgE-Synthese hängt von der Neigung einer Person ab, eine T_H2-Antwort auf Allergene zu zeigen. Die IgE-Produktion selbst ist wiederum von der Aktivierung von CD4⁺-Helfer-T-Zellen der T_H2-Untergruppe und ihrer Sekretion von IL-4 und IL-13 abhängig. Dendritische Zellen in den Epithelien, durch die Allergene eindringen, nehmen die Antigene auf, transportieren sie zu den ableitenden Lymphknoten, verarbeiten sie und präsentieren anschließend die Peptide den naiven CD4⁺ T-Zellen. Diese T-Zellen differenzieren sich dann in T_H2-Zellen und folliculäre Helfer-T-Zellen (TFH), die T_H2-Zytokine produzieren. Wesentliche Faktoren, die die Differenzierung von T_H2-Zellen fördern, sind verschiedene Zytokine, insbesondere IL-4, das von verschiedenen Zelltypen produziert werden kann. Zusätzlich verstärkt das Zytokin "Thymic Stromal Lymphopoietin", das von Epithelzellen in Haut, Darm und Lunge sezerniert wird, die Fähigkeit der dendritischen Gewebszellen, die T_H2-Differenzierung zu fördern. T_H2- und TFH-Zellen initiieren dann die Umstellung der B-Zellen auf IgE durch die Wirkung des CD40-Liganden und der Zytokine IL-4 und IL-13. T_H2-Zellen sind nicht nur an der Förderung der IgE-Produktion beteiligt, sondern auch an anderen Komponenten der allergischen Sofortreaktion.

Die Neigung zu T_H2 -Antworten gegen bestimmte Antigene kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden, darunter vererbte Gene, die Art der Antigene und die bisherige Antigenexposition (ABBAS et al., 2012b).

Mastzellen finden sich in praktisch allen vaskularisierten Geweben, besonders nahe an Oberflächen wie dem Epithel der Atemwege, wodurch sie zu den ersten Immunzellen zählen, die auf die Antigene treffen (SENGER & ZARRIN, 2016).

Die Aktivierung von Mastzellen erfolgt durch die Quervernetzung von $Fc\epsilon RI$ -Molekülen, was durch die Bindung multivalenter Antigene an die Fc-Rezeptor-gebundenen IgE-Antikörper passiert (ABBAS et al., 2012b). Liegt bei einem Individuum eine Allergie gegenüber einem spezifischen Antigen vor, so ist ein beträchtlicher Anteil des an $Fc\epsilon RI$ gebundenen IgEs auf der Mastzelloberfläche spezifisch für dieses Antigen. Bei Kontakt mit diesem Antigen kommt es in Folge zu einer ausreichenden Quervernetzung der IgE-Moleküle, um eine Aktivierung der Mastzellen zu initiieren (ABBAS et al., 2012b). Im Gegensatz dazu sind bei nicht-atopischen Individuen die an Mastzellen gebundenen IgE-Moleküle für viele verschiedene Antigene spezifisch. Dadurch wird nur eine geringe IgE-Produktion ausgelöst, und folglich vermag kein einzelnes Antigen ausreichend viele IgE-Moleküle zu vernetzen, um eine Aktivierung der Mastzellen zu bewirken (ABBAS et al., 2012b).

3.1.7.1. Allergische Sofortreaktion

Das grundlegende Prinzip allergischer Sofortreaktionen ist immer gleich: die Exposition gegenüber einem Antigen führt zunächst zur Aktivierung von antigenspezifischen T_H2 - und B-Zellen, in Folge zur Produktion von IgE-Antikörpern und zur Bindung dieser Antikörper an Fc-Rezeptoren an Mastzellen. Bei erneutem Kontakt mit dem Antigen kommt es zur Quervernetzung zellassoziierter IgE-Antikörper und damit zur Aktivierung der Mastzellen mit Freisetzung von Mediatoren (ABBAS et al., 2012b).

IgE-vermittelte Hypersensitivität manifestiert sich je nach betroffenem Organ in einer Vielzahl von Symptomen: Auf der Haut kann dies als Urtikaria erscheinen, bei Asthmatikern als akuter Bronchospasmus, im Darm als lebensmittelbedingter Durchfall oder sogar in Form einer Anaphylaxie. Darüber hinaus können systemische anaphylaktische Reaktionen auf Insektengifte und Medikamente auftreten (SENGER & ZARRIN, 2016).

Die Quaddel- und Flare-Reaktion in der frühen Phase resultiert aus der

Sensibilisierung dermalen Mastzellen durch IgE, das an FcεRI gebunden ist (ABBAS et al., 2012b). Die IgE-FcεRI-Komplexe aggregieren und leiten intrazelluläre Signalereignisse ein, die zur Freisetzung von vorgebildeten Mediatoren, insbesondere Histamin, aber auch Serotonin, Proteasen und Proteoglykanen führen. Gleichzeitig kommt es zur Neusynthese von Mediatoren wie Lipidmediatoren, Zytokinen und Chemokinen (SENGER & ZARRIN, 2016). In Folge zeigt sich eine erhöhte Gefäßpermeabilität, Vasodilatation sowie bronchiale und viszerale Kontraktionen der glatten Muskulatur in Form von Hautrötungen bis -entzündungen sowie gesteigerter Schleimproduktion in den Atemwegen (SENGER & ZARRIN, 2016). Quaddeln entstehen nach Kontakt mit dem Allergen durch die lokale Dilatation von Blutgefäßen, die mit roten Blutzellen gefüllt werden. Dies führt zu einem Austritt von Blutplasma aus den Venolen, was eine Schwellung der betroffenen Stelle zur Folge hat. Diese weiche Schwellung wird als Quaddel bezeichnet und kann einen Durchmesser von mehreren Zentimetern einnehmen. Im weiteren Verlauf dehnen sich die Blutgefäße im Randgebiet der Quaddeln weiter aus und bilden einen charakteristischen roten Rand, der als "Flare" bezeichnet wird. Diese Reaktion wird als "allergische Sofortreaktion" bezeichnet, da sie einerseits unmittelbar nach der Antigenpräsentation beginnt und andererseits bedeutende pathologische Konsequenzen nach sich zieht (ABBAS et al., 2012b). Bei der extremsten systemischen Form, der sogenannten Anaphylaxie, können von Mastzellen stammende Mediatoren die Atemwege bis hin zum Erstickungstod verengen und über einen Blutdruck-Abfall einen Herz-Kreislauf-Kollaps verursachen (ABBAS et al., 2012b). Je nach Intensität und Art der Reizauslösung, können auch nur wenige Mediatoren freigesetzt werden und über das Auslösen von Teilreaktionen zu unterschiedlichen klinischen Präsentationen führen (ABBAS et al., 2012b).

3.1.7.2. Spätphase der allergischen Reaktion

Nach der unmittelbaren Quaddel- und Flare-Reaktion wird zwei bis vier Stunden später eine Spätphasenreaktion eingeleitet, deren Höhepunkt 24 Stunden später erreicht ist und anschließend langsam wieder abklingt (ABBAS et al., 2012b). Diese ist durch die Ansammlung von Neutrophilen, Eosinophilen, Basophilen und T_H2-Zellen gekennzeichnet (ABBAS et al., 2012b).

In einer Studie von NAGAI et al. (2000) wurde die Rolle der Mastzellen bei der Entstehung der IgE-vermittelten kutanen Reaktion der Spätphase bei Mäusen

untersucht. Die Forscher stellten fest, dass 30 Minuten bis eine Stunde nach der Stimulation leichte Hautödeme und Gefäßerweiterungen an den Ohren zu beobachten waren. Nach vier und acht Stunden folgte eine leichte entzündliche Zellinfiltration, hauptsächlich bestehend aus Neutrophilen und einigen Makrophagen, sowie fokale Ödeme in der Dermis. Nach 24 und 48 Stunden wurden sowohl in der Dermis als auch in der Epidermis zelluläre Infiltrate beobachtet, die aus Neutrophilen und einigen Eosinophilen bestanden. Ebenso zeigten sich dermale Ödeme, Vasodilatation und epidermale Hyperplasie. Nach 72 Stunden erreichte die epidermale Hyperplasie ihren Höhepunkt, während die anderen Veränderungen bereits wieder reduziert waren (NAGAI et al., 2000).

Zytokine, die von Mastzellen produziert werden, einschließlich TNF, erhöhen die Expression endothelialer Leukozyten-Adhäsionsmolekülen wie E-Selektin und interzelluläres Adhäsionsmolekül 1, die Blutleukozyten, v.a. Eosinophile, Neutrophile und T_H2-Zellen, in die Gewebe rekrutieren (ABBAS et al., 2012b).

Bei Erkrankungen wie Asthma bronchiale kommt es zu wiederholten Entzündungsschüben mit Ansammlungen von Eosinophilen und T_H2-Zellen, ohne die für die Sofortreaktion charakteristischen Gefäßveränderungen, d.h. die Spätphasenreaktion kann auch ohne eine nachweisbare vorangehende Frühphasenreaktion auftreten. In solchen Fällen werden die Zytokine, die die Spätphasenreaktion aufrechterhalten, hauptsächlich von T-Zellen produziert (ABBAS et al., 2012b).

3.2. Klinik

Die ersten Anzeichen einer cAD können grundsätzlich in jedem Alter auftreten, werden bei Hunden meist jedoch in einem Alter zwischen sechs Monaten und drei Jahren bemerkt (FAVROT et al., 2010; FAVROT, 2015). Die klinischen Symptome einer cAD sind aufgrund des unterschiedlichen Ausmaßes und der Variabilität ihres Vorkommens nicht pathognomonisch, trotzdem gibt es eine Reihe typischer Symptome, die bei einer Vielzahl von Patienten zu beobachten sind (FAVROT, 2015). Zu Beginn der Erkrankung zeigt sich meist Juckreiz sowie Hautrötung bzw. Erythem, welches die häufigste Primärläsion darstellt. Im späteren Verlauf manifestieren sich sogenannte Sekundärläsionen, die den chronischen Verlauf der Entzündung, mikrobielle Überwucherung sowie Juckreiz und Selbsttraumata widerspiegeln (FAVROT, 2015). Diese Läsionen können mannigfaltig sein und

umfassen rötlich-braune Verfärbungen im Fell durch den Speichel, trockenes, stumpfes Fell, Erytheme, Exkoriationen, selbst-induzierte Alopezie, Papeln und Pusteln, Hyperpigmentation, Schuppenbildung und Lichenifikation. Diese Läsionen finden sich hauptsächlich an pruriginösen Körperstellen (GRIFFIN & DEBOER, 2001; FAVROT et al., 2010; FAVROT, 2015). Die am häufigsten betroffenen Körperregionen umfassen die Pinnae, Axillae, das ventrale Abdomen sowie die distalen Extremitäten (FAVROT, 2015). Es zeigen sich individuelle Kombinationen der genannten Körperstellen, wobei auch nur eine einzelne betroffen sein kann (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Fünfzig Prozent der allergischen Hunde weisen eine Otitis externa auf (FAVROT et al., 2010). Zudem zeigen 42 bis 78 % der allergischen Hunde eine Saisonalität (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Manche Hunde können trotz fehlender eindeutiger Saisonalität zu bestimmten Jahreszeiten zumindest eine Verschlechterung der Klinik zeigen (FAVROT, 2015).

3.3. Diagnose

Bis dato ist kein pathognomonisches Merkmal bekannt, welches allein durch Anamnese oder klinischer Untersuchung des Patienten die definitive Diagnose der atopischen Dermatitis ermöglicht (FAVROT, 2015). Vielmehr beruht die Diagnose auf der Kombination aus Historie, dem Auftreten typischerweise mit der Krankheit assoziierter klinischer Symptome und dem Ausschluss weiterer Differentialdiagnosen (DEBOER & HILLIER, 2001a). Die wichtigsten Differentialdiagnosen juckender Hauterkrankungen können Tabelle 4 im Anhang entnommen werden (HENSEL et al., 2015). Ektoparasitosen oder eine Flohspeichelallergie können leicht durch eine geeignete und konsequente Ektoparasitenkontrolle ausgeschlossen werden. Außerdem sollten, wie weiter oben beschrieben, eine Futtermittelallergie mittels Eliminationsdiät sowie bakterielle Infektionen und Kontaktdermatitiden mittels herkömmlicher Verfahren (MILLER et al., 2013c) ausgeschlossen werden. Erst wenn alle Differentialdiagnosen ausgeschlossen sind, kann die Diagnose der atopischen Dermatitis final gestellt werden (DEBOER & HILLIER, 2001a). Mittels zusätzlicher Tests, wie der Serologie, eines Intrakutantest oder auch der histopathologischen Untersuchung von Hautbiopsien kann die Diagnose bestärkt werden (DEBOER & HILLIER, 2001a). Zum jetzigen Zeitpunkt existieren für unsere Haustiere allerdings weder ein

„Goldstandard“ für Allergietests noch einheitliche Allergenextrakte für AITs. Zudem ist keiner dieser Tests oder Untersuchungen als eigenständiges Diagnostikum geeignet (DEBOER & HILLIER, 2001a), da auch gesunde Hunde sowohl positive Resultate in Intrakutan- (MUELLER et al., 2005) als auch in Serumallergietests zeigen können (LIAN & HALLIWELL, 1998; PICCIONE & DEBOER, 2019). Daher sollten Allergietests Hunden vorbehalten bleiben, bei denen eine allergenspezifische Immuntherapie in Betracht gezogen wird und bereits die Diagnose einer atopischen Dermatitis gestellt wurde (DEBOER & HILLIER, 2001a).

Da die klinischen Charakteristika einer Allergie bei Menschen und Hunden sehr variabel sind, wurden in den letzten Jahrzehnten bereits mehrere Kriterienlisten sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin veröffentlicht und stetig überarbeitet. Sie spiegeln die häufigsten und typischerweise auftretenden Symptome und Merkmale unterschiedlicher Studiengruppen wider und sollen durch die erleichterte Diagnose helfen, homogene Studienpopulationen zu erstellen. Obwohl mit den Kriterien von Jon HANIFIN und Georg RAJKA (1980) zum ersten Mal eine einheitlichere Beurteilung der Symptome der atopischen Dermatitis beim Menschen möglich war, waren einige Merkmale sehr unpräzise und unspezifisch formuliert, oder in der Population äußerst selten anzutreffen. Die Kriterien sind in Tabelle 1 im Anhang dargestellt (HANIFIN & RAJKA, 1980; OLIVRY, 2010). Zudem wurden diese Kriterien nie auf Spezifität, Sensitivität sowie Reproduzierbarkeit geprüft. Damit war dieser diagnostische Ansatz nicht auf größere Bevölkerungsgruppen anwendbar. Eine ähnliche Kriterienliste bot 1986 WILLEMSE für die cAD, welche aber ebenso wenig auf Sensitivität, Spezifität und Zuverlässigkeit für die Diagnose der cAD geprüft wurde (WILLEMSE, 1986; OLIVRY, 2010). 1994 veröffentlichten WILLIAMS et al. (1994) eine neue diagnostische Herangehensweise für humane AD, welche spezifisch, sensitiv, reproduzierbar, non-invasiv und vor allem übertragbar auf verschiedene ethnische Gruppierungen und Populationen war. Diese Kriterien sind Tabelle 2 des Anhangs zu entnehmen (WILLIAMS et al., 1994; OLIVRY, 2010). Einige Jahre später, 1998, legte PRÉLAUD fünf Hauptsymptome für cAD fest. Diese wurden von sechs Tierärzten bei insgesamt 96 Patienten angewendet, wobei beim Auftreten von drei aus diesen fünf Kriterien eine Sensitivität sowie Spezifität von ca. 80 % erreicht wurden (OLIVRY, 2010). Im Jahre 2010 veröffentlichten FAVROT et al. eine neue Kriterienliste zur Diagnose dieser Erkrankung. Hierfür beschrieben sie zunächst das

Signalement, die Historie sowie die klinischen Merkmale einer großen Population atopischer Hunde, verglichen Futter-induzierte AD- und Nicht Futter-induzierte AD-Hunde und bestätigten, dass beide Zustände klinisch nicht zu unterscheiden sind. Anschließend berechneten sie die Korrelationen zahlreicher klinischer Merkmale mit der Diagnose einer cAD. Auf dieser Grundlage wurden schließlich zwei Kriterienansätze vorgeschlagen, die eine Sensitivität und Spezifität von 80 bis 85 % bzw. 79 bis 85 % erreichten (FAVROT et al., 2010). Diese Ergebnisse bedeuten, dass bei jedem fünften Patienten trotz Nicht-Zutreffen des Schemas trotzdem eine atopische Dermatitis vorliegen könnte (OLIVRY, 2010). Basierend auf den Ergebnissen der Studie von FAVROT (2010) wurde die Verwendung der in Tabelle 3 im Anhang aufgeführten Liste empfohlen. Erfüllt ein Patient mindestens fünf der acht Kriterien, so ist AD sehr wahrscheinlich. Zu den Kriterien gehören das Auftreten vor dem dritten Lebensjahr, das Leben des Tieres im Haus, steroid-responsiver Juckreiz, chronische oder rezidivierende Hefepilzinfektionen, eine Beteiligung der Vorderpfoten und der Ohrmuscheln, läsionsfreie Ohränder und eine nicht betroffene Dorsolumbarregion (FAVROT et al., 2010).

3.4. Therapie

Zur Therapie der cAD gibt es inzwischen zahlreiche entzündungshemmende sowie juckreizlindernde Medikamente und Behandlungsalternativen. Neben der Vermeidung der entsprechenden Allergene, was in der Praxis kaum umsetzbar ist, können manche Hunde von anti-allergischen Bettbezügen oder dem Abwaschen der Haut und Pfoten nach einem Spaziergang mit klarem Wasser oder milden Shampoos profitieren, um die Kontaktzeiten zwischen Allergenen und Immunzellen der Haut auf ein Minimum zu beschränken (OLIVRY & SOUSA, 2001). Besteht zeitgleich eine Futtermittelunverträglichkeit/-allergie, kann alleine das Füttern einer entsprechenden Eliminationsdiät die Juckreizschwelle so weit reduzieren, dass der Hund kaum mehr Symptome zeigt (MARSELLA & SOUSA, 2001; OLIVRY & SOUSA, 2001). Atopische Hunde scheinen außerdem gegenüber Flohspeichel sensitiver zu sein und reagieren mit stärkeren kutanen Symptomen nach einem Flohbiss. Daher sollte eine konsequente Flohprophylaxe bei atopischen Hunden zur Vermeidung möglicher Trigger in die Behandlung integriert werden (OLIVRY & SOUSA, 2001). Sollten diese Maßnahmen nicht ausreichen, kann zwischen der symptomatischen Therapie und der derzeit einzigen spezifischen Therapie für Umweltallergien, der AIT gewählt werden. Je nach Ausbreitung der

Läsionen, der Kooperation des Tieres und der Besitzer-Compliance sollte für jedes Tier ein individueller Therapieplan erstellt werden. Dieser besteht meist aus Kombinationen der verfügbaren Möglichkeiten (OLIVRY & SOUSA, 2001; OLIVRY et al., 2015b) und sollte in regelmäßigen Abständen auf ausreichende Wirksamkeit überprüft werden. Ist ein Hund schwer betroffen, haben sich zur symptomatischen Therapie vor allem Glucocorticoide, Ciclosporin, Oclacitinib und Lokivetmab aufgrund ihrer klinischen Wirksamkeit und hohen Erfolgsraten von 70-80 % durchgesetzt (OLIVRY et al., 2010).

Glukokortikoide (GK) werden seit vielen Jahren sehr häufig zur Behandlung allergischer Hunde verwendet. Sie sind kostengünstig, universell verfügbar und der Wirkeintritt ist rapide, innerhalb weniger Stunden bis Tage (BRUET et al., 2022). Die wichtigsten entzündungshemmenden Effekte von GK sind auf die Unterdrückung der Transkription zahlreicher Gene zurückzuführen, die für Zytokine (z.B. IFN- γ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 und IL-13), Zytokinrezeptoren, pro-inflammatorische Enzyme und Adhäsionsmoleküle kodieren (BARNES, 1998). GK wirken nicht nur durch direkte Hemmung, sondern können auch indirekt über die Aktivierung der Translation diverser entzündungshemmender Proteine, wie zum Beispiel Lipocortin-1, agieren (BARNES, 1998). Lipocortin-1 hemmt die Aktivität des Enzyms Phospholipase A2, welches Arachidonsäure durch Hydrolysierung aus der Zellmembran freisetzt (BARNES, 1998). Dort liegt Arachidonsäure in ihrer veresterten Form als Bestandteil der Phospholipide vor. Die freie Arachidonsäure würde durch Cyclooxygenasen und Lipoxygenasen sowie Cytochrom P450-Enzyme zu einem Spektrum bioaktiver pro-inflammatorischer Mediatoren verstoffwechselt werden, zu welchen Prostaglandine, Leukotriene, Epoxyeicosatriensäuren, Dihydroxyeicosatetraensäure, Eicosatetraensäuren und Lipoxine zählen (WANG et al., 2021).

Da GK vor allem in höheren Dosierungen und bei langfristiger Gabe zu erheblichen Nebenwirkungen wie Polyurie und -dipsie, Polyphagie, Adipositas, Muskelatrophie, Sekundärinfektionen und auch iatrogenem Cushing führen können, wurden in den letzten Jahren potente Alternativen entwickelt (OLIVRY & MUELLER, 2003; SARIDOMICHELAKIS & OLIVRY, 2016). Tritt der Juckreiz hauptsächlich lokal auf, können auch topische GK angewendet werden. Dies reduziert zudem die Nebenwirkungen einer oralen GK-Gabe. Insbesondere Präparate wie Hydrokortisonaceponat eignen sich sehr gut, da sie in der Haut direkt zu weitestgehend inaktiven Bestandteilen verstoffwechselt werden (NUTTALL et

al., 2012).

Ciclosporin ist ein Calcineurininhibitor, der durch die Blockade der zytoplasmatischen Calcineurin-Phosphatase die Induktion von Genen verhindert, welche für Zytokine und deren Rezeptoren kodieren. Damit werden die Initiierung und Vermittlung allergischer Immunantworten unterbunden (STEFFAN et al., 2006). Ciclosporin konnte in unterschiedlichen Studien die Läsionsscores um 30 bis 79 %, je nach Zeitintervall der Behandlung, reduzieren. Ebenso verbesserte sich der Juckreiz mit zunehmender Zeit der Behandlung um bis zu 93 % (STEFFAN et al., 2006). Die Effektivität ist der von Glukokortikoiden gleichzusetzen (STEFFAN et al., 2003; STEFFAN et al., 2005; STEFFAN et al., 2006; NUTTALL et al., 2014). Leichte gastrointestinale Symptome, hauptsächlich Vomitus und seltener Diarrhoe, können vor allem in den ersten drei bis vier Wochen der Behandlung beobachtet werden, klingen aber in der Regel mit fortgesetzter Therapie wieder ab (STEFFAN et al., 2006; KOVALIK et al., 2012). Auch Hirsutismus, Gingivahyperplasie und hyperplastische Dermatitis wurden berichtet, verschwanden aber mit Dosisreduktion oder Absetzen der Medikation wieder (NUTTALL et al., 2014). Die Behandlung wird zunächst einmal täglich durchgeführt, kann aber bei den meisten Tieren langsam auf jeden zweiten Tag oder gar nur zweimal wöchentlich reduziert werden, was die Eingabe deutlich vereinfacht und die Behandlungskosten senkt (STEFFAN et al., 2005; NUTTALL et al., 2014).

Tacrolimus ist wie Ciclosporin ein Calcineurininhibitor, liegt aber in Form einer Salbe vor und eignet sich daher gut für die lokale Behandlung von Läsionen (BENSIGNOR & OLIVRY, 2005). Tacrolimus hemmt die Reaktion der T-Zellen auf Antigene und die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine (IL-2, IL-3, IL-4, IFN- γ , GM-CSF und TNF- α). Zusätzlich zu Lymphozyten reguliert Tacrolimus außerdem die Zytokinexpression in anderen, für allergische Reaktionen wichtige Zellen, zu denen Mastzellen, Basophile, Eosinophile, Keratinozyten und Langerhans-Zellen zählen (MARSELLA, 2005). Auch phänotypische und funktionelle Veränderungen sowie die Reduktion der epidermalen Antigen-präsentierenden dendritischen Zellen gehören zu den Funktionen von Tacrolimus. Außerdem wird die T-Zell-medierte Apoptose der Keratinozyten gehemmt, die den Schweregrad der Atopie beeinflusst (MARSELLA, 2005). Im Vergleich zu Steroiden zeigte Tacrolimus einen größeren Effekt auf die Hemmung der Zytokinproduktion (SAKUMA et al., 2001). Als Nebenwirkungen sind beim

Menschen bisher nur ein leichtes Brennen der Haut und lokalisierter Juckreiz beschrieben, die nach wenigen Tagen abklingen (MARSELLA, 2005).

Oclacitinib ist ein selektiver Januskinase (JAK) 1-Inhibitor. JAK1 ist an den Signalwegen der Rezeptoren für zahlreiche Zytokine beteiligt. Maßgeblich gehemmt werden IL-2 und IL-6 (Entzündungsreaktionen), IL-4 und IL-13 (Allergien) und IL-31 (Juckreiz) (GONZALES et al., 2014). Anfänglich werden Hunde in einer Dosierung zwischen 0,4 und 0,6 mg/kg zweimal täglich behandelt. Nach einer Initialphase von zwei Wochen wird die Dosis nur noch einmal täglich verabreicht. Die häufigsten Nebenwirkungen (>5 % der Hunde) sind Zystitiden, Vomitus, Otitiden, Pyodermie und Diarrhoe (COSGROVE et al., 2015). Vereinzelt entwickelten die Hunde eine Demodikose (COSGROVE et al., 2013; COSGROVE et al., 2015; LITTLE et al., 2015). Hautinfektionen und Umfangsvermehrungen, welche sich in seltenen Fällen als Histiocytoome oder Mastzelltumoren herausstellten, deren Entfernung oder weitere Abklärung man in den meisten Fällen jedoch nicht für notwendig empfand, wurden mit erhöhter Häufigkeit bei Hunden unter längerfristiger Oclacitinib-Therapie berichtet (COSGROVE et al., 2013; COSGROVE et al., 2015). In oben genannter Dosierung soll Oclacitinib äquivalent zu oder sogar etwas effizienter sein als Hydrokortisonaceponat oder Ciclosporin (COSGROVE et al., 2013). Der Wirkungseintritt ist bei Oclacitinib im Vergleich zu Ciclosporin schneller und auch gastrointestinale Nebenwirkungen werden weniger häufig beobachtet (LITTLE et al., 2015).

In der Humanmedizin forscht man verstärkt nach wirksamen monoklonalen Antikörpern. Diese richten sich gegen bestimmte Rezeptoren oder Zytokine und haben sich in der Blockade ihrer Zielmoleküle als sehr effektiv erwiesen. In der Veterinärmedizin gibt es bis heute nur einen zugelassenen therapeutischen monoklonalen Antikörper zur Behandlung von Allergien: *Lokivetmab*. Dies ist ein monoklonaler kaninischer Anti-IL-31-Antikörper, der für den Einsatz bei atopischen Hunden zugelassen ist. Er kann den Juckreiz für mindestens vier Wochen signifikant reduzieren (MICHELS et al., 2016b). Seine Wirksamkeit ist vergleichbar mit der von oralem Ciclosporin. Die mittleren Juckreiz-Scores waren in einer Studie von MOYAERT et al. (2017) sogar etwas niedriger als bei Behandlung mit Ciclosporin. In der Reduktion der Hautläsionen zeigten Lokivetmab und Ciclosporin keine signifikanten Unterschiede, doch die Hautläsionen konnten bei fortgeführter Therapie mit Lokivetmab über zusätzliche sechs Monate noch weiter reduziert werden. Dieses Medikament gilt zudem als sehr

sicher, da bisher nur milde adverse Reaktionen aufgetreten sind (MOYAERT et al., 2017). Auch in einer weiteren Studie waren adverse Reaktionen vergleichbar mit denen der Placebogruppe. In der Behandlungsgruppe entwickelten ca. 2,5% der Hunde Antikörper gegen Lokivetmab, deren klinische Bedeutung zu dem jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig geklärt ist (MICHELS et al., 2016a).

Oben genannte Medikamente können mit einer Reihe milderer Therapeutika, wie Antihistaminika, essentielle Fettsäuren oder Shampoos kombiniert werden.

Für die Anwendung verschiedener *Antihistaminika* gibt es bis dato nur wenige verblindete, Placebo-kontrollierte Studien. Insgesamt ist die Wirkung eher als gering anzusehen, die Effektivität ist jedoch individuell unterschiedlich und abhängig vom verwendeten Wirkstoff. Deshalb wird eine Versuchstherapie mit verschiedenen Antihistaminika zu je sieben bis vierzehn Tagen empfohlen ((DEBOER & GRIFFIN, 2001; OLIVRY et al., 2015b). Histamin wirkt über die unterschiedlich starke Bindung und Aktivierung vier verschiedener Rezeptor-Subtypen (H1 bis H4) (AKDIS & BLASER, 2003; BIZIKOVA et al., 2010). H1-Rezeptoren finden sich vor allem in Gefäßendothel, der Haut, der glatten Muskulatur des Respirationstraktes, des Gastrointestinaltraktes, dem Herzen und dem Zentralnervensystem. Je nach Lokalisation des Rezeptors bewirkt die Bindung von Histamin die Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur, die Erhöhung der Schleimsekretion sowie die Auslösung von Juckreiz, was zu bronchialer Obstruktion, erhöhter Gefäßpermeabilität, Niesen und juckenden Quaddeln sowie Flares bei Urtikaria führt (SIMONS & SIMONS, 1994; AKDIS & BLASER, 2003; EICHENSEER, 2013). Während sich H2-Rezeptoren hauptsächlich in der Magen- und Uterusschleimhaut, im Herzen und im Zentralnervensystem befinden und dort durch Histaminbindung zu erhöhter Magensäuresekretion und Gefäßpermeabilität führen (DEBOER & GRIFFIN, 2001), bewirkt die Bindung an H3-Rezeptoren, welche sich vor allem im zentralen und peripheren Nervensystem befinden, die präsynaptische Ausschüttung von Neurotransmittern wie Histamin, Serotonin, Noradrenalin und Acetylcholin (SIMONS, 2004; EICHENSEER, 2013). Im Knochenmark und in peripheren hämatopoetischen Zellen sowie an Neutrophilen, Eosinophilen und T-Zellen werden vor allem H4-Rezeptoren exprimiert, was bei Bindung von Histamin zu einer vermehrten Ansammlung dieser Entzündungszellen am Ort des Entzündungsgeschehen führt (AKDIS & SIMONS, 2006; EICHENSEER, 2013). Die Wirkungsweise von Antihistaminika besteht darin, den inaktiven Zustand des Rezeptors durch Bindung an die negative Konformation zu

stabilisieren. Als sogenannte inverse Agonisten unterbrechen sie dadurch die Signaltransduktion (LEURS et al., 2002). Man unterscheidet zwischen Antihistaminika der ersten Generation, die sedierend wirken können (z.B. Chlorpheniramin), und Antihistaminika der zweiten Generation, die weit weniger sedativ wirken, da sie schlechter die Blut-Hirn-Schranke überwinden (z.B. Cetirizin) (SIMONS, 2004; EICHENSEER, 2013). Akute Hautläsionen und Entzündungsreaktionen konnten durch H1 – oder H4-Rezeptor-Antagonisten nicht verhindert werden (BÄUMER et al., 2011). Jedoch erwiesen sich H4-Rezeptor-Antagonisten als geeignete Medikamente, den Juckreiz signifikant zu reduzieren. Wurden sie beim Menschen mit H1-Rezeptor-Antagonisten kombiniert, zeigten sie die stärkste Linderung des Juckreizes (ROSSBACH et al., 2009). In einer Studie mit atopischen Hunden untersuchte man die Wirksamkeit von Dimetinden und einer Kombination aus Hydroxyzin und Chlorpheniramin, wobei sich zeigte, dass in beiden Gruppen eine begrenzte, aber signifikante Verbesserung des Juckreizes erreicht wurde (EICHENSEER et al., 2013). Da Hunde Hydroxyzin sehr schnell zu Cetirizin verstoffwechseln, wird eine orale Dosierung von zweimal täglich 2,0 mg/kg empfohlen (BIZIKOVA et al., 2008). Nebenwirkungen fallen meist sehr mild aus und wurden bisher nur anekdotisch beschrieben. Neben der am häufigsten auftretenden sedativen Wirkung konnten in der Vergangenheit auch anticholinerge Effekte, Zittern, Ataxie, Hyperästhesie, Hypersalivation, gesteigerter Pruritus, Exzitationen und Hyperventilation beobachtet werden (DEBOER & GRIFFIN, 2001).

Essentielle Fettsäuren (EFS), die entweder topisch appliziert oder oral verabreicht werden können, sind reich an mehrfach ungesättigten Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren sowie Ceramiden. Sie haben das Potenzial, die allergische Entzündung durch die Modulation der Prostaglandin- und Leukotrienproduktion, die Hemmung der Zellaktivierung und Zytokinsekretion sowie die Veränderung der Zusammensetzung und Funktion der epidermalen Lipidbarriere zu beeinflussen (OLIVRY et al., 2001). Anstelle der Produktion von Arachidonsäure-abgeleiteten pro-inflammatorischen Eicosanoiden werden vor allem die anti-inflammatorischen Prostaglandine E1 und 15-Hydroxyeicosatetraensäure gebildet, die von der mehrfach ungesättigten Dihomogammalinolensäure (ein Zwischenprodukt des EFS-Metabolismus) abgeleitet sind, welche mit Arachidonsäure als Substrat für den Cyclo-Oxygenase- sowie 5-Lipoxygenase-Stoffwechselweg konkurriert (OLIVRY et al., 2001). Die Effektivität ist nach wie vor fraglich und je nach Studie variabel

(VAN AMERSFORT et al., 2023b). Eine standardisierte Dosierung der EFS ist bisher noch nicht vollständig bekannt. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Wirksamkeit bei akut auftretender AD höher ist, als in chronischen Fällen (ABBA et al., 2005). Zudem konnte ein steroid- sowie ciclosporin-sparender Effekt erzielt werden (SAEVIK et al., 2004; MÜLLER et al., 2016; VAN AMERSFORT et al., 2023b). Die Dauer der oralen EFS-Gabe sollte mindestens zehn Wochen betragen, um positive Effekte zu erzielen (VAN AMERSFORT et al., 2023b).

Shampoos stellen bei milden Atopikern ggf. als alleinige Therapie, in schweren Krankheitsverläufen als Zusatztherapie eine effektive Behandlungsmethode dar (LÖFLATH et al., 2007; SCHILLING & MUELLER, 2012), da zum einen häufig auftretende Sekundärinfektionen mit Pathogenen wie *Staphylococcus pseudintermedius* und *Malassezia pachydermatis* reduziert werden können und zum anderen Allergene und Entzündungsprodukte abgespült werden können (DEBOER & MARSELLA, 2001; LÖFLATH et al., 2007).

Die bislang einzige Möglichkeit die Immunantwort zu beeinflussen, ist durch die Allergenexposition im Rahmen einer Allergen-Immuntherapie. Allergene für eine ebensolche Therapie werden individuell bestimmt, indem die Ergebnisse eines Intrakutantests (HILLIER & DEBOER, 2001) und/oder eines Serumallergietests für Umweltallergen-spezifische IgE-Antikörper (DEBOER & HILLIER, 2001b) mit der Klinik des Patienten korreliert werden. Je nach Studie liegt die Wirksamkeit der AIT zwischen 50 und 75 % (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009; HOBI & MUELLER, 2014; FENNIS et al., 2022).

Bei einer AIT werden einem Allergiker langsam ansteigende Dosen eines Allergenextrakts verabreicht, womit die Symptome nachfolgender Expositionen gegenüber dem verursachenden Allergen reduziert werden sollen (WHO Definition) (BOUSQUET et al., 1998). Die ansteigende Menge des subkutan verabreichten Allergenextrakts erreicht schließlich ein Plateau, welches als Erhaltungsdosis weiter appliziert wird (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Die Erhaltungsdosis kann auch innerhalb weniger Stunden erreicht werden mithilfe einer sog. Rush-Immunsierung. Während in der Humanmedizin nur bei ausgewählten Patienten zu einer beschleunigten Immuntherapie („Rush“) geraten wird, da die Häufigkeit auftretender systemischer Nebenwirkungen relativ hoch ist, ist die Rush-Immunsierung bei Hunden als wirksam und sicher einzustufen. Es ist bisher kein erhöhtes Risiko an Nebenwirkungen bekannt (MUELLER & BETTENAY, 2001; HOBI & MUELLER, 2014; WEITZER & MUELLER, 2023).

Neben der subkutanen Methode gibt es zudem die intralymphatische Applikationsart, sowie die sublinguale. Intralymphatische Desensibilisierung (ILIT) beim Menschen kann zum einen das therapeutische Intervall von 3 Jahren auf 8 Wochen verkürzen und zum anderen ist es mit weniger Nebenwirkungen verbunden (SENTI et al., 2009). Mittlerweile wird die ILIT auch in der Veterinärmedizin immer häufiger eingesetzt mit vielversprechenden Ergebnissen (FISCHER et al., 2016; TIMM et al., 2018; FISCHER et al., 2020; VAN AMERSFORT et al., 2023a). In einer Studie von FISCHER et al. (2016) konnte bei 60 % der Hunde sowohl der Läsions-Score (CADESI, Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) als auch der Juckreizscore (PVAS, Pruritus Visual Analog Scale) um mindestens 50 % reduziert werden, wobei diese Verbesserung bei 33 % der Hunde sogar bereits nach vier Wochen beobachtet wurde (FISCHER et al., 2016). In einer späteren Studie von FISCHER et al. (2020) konnte die Reduktion des CADESI und des PVAS sogar bis zur Wiederherstellung des Normalzustandes bei 60 % der therapierten Hunde erzielt werden (FISCHER et al., 2020). Dem entgegen steht eine Studie von MUELLER et al. (2023), in welcher keine signifikanten Unterschiede zwischen CADLI (einem weiteren Läsions-Score) und PVAS im Vergleich zur Rush-Immuntherapie gezeigt werden konnte (MUELLER et al., 2023). Auch die sublinguale Immuntherapie wurde vor einigen Jahren in der Veterinärmedizin eingeführt, wozu es bisher aber noch zu wenige Studien gibt. In einer kleinen Studie von DEBOER et al. (2016) konnte nach sechs Monaten bei zweimal täglicher Anwendung eine Reduktion des CADESI-Scores von 76,5 zu 59 sowie der PVAS von 65 auf 37 reduziert werden. Vier von 10 Hunden benötigten außerdem nach sechs Monaten keine orale Methylprednisolongabe mehr (DEBOER et al., 2016).

Man geht davon aus, dass AIT den natürlichen Verlauf der allergischen Reaktion verändert und die Chance auf langfristige Remission besteht (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Mit alternativen Therapieformen wie Allergenvermeidung und/oder symptomatischer Behandlung kann es schwierig sein eine langfristige Kontrolle der klinischen Symptomatik zu erreichen und diese aufrechtzuerhalten. Dazu kommt erschwerend, dass bei vielen Medikamenten auch mit Nebenwirkungen zu rechnen ist, wobei bei der AIT bisher kaum lebensbedrohliche Situationen aufgetreten sind. Im Gegensatz zu oraler Medikation, die meist täglich verabreicht werden muss, kann die subkutane Medikation der AIT in längeren Intervallen injiziert werden (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

III. SERUMALLERGIETEST

Sowohl in der Human- als auch der Veterinärmedizin werden verschiedene allergenspezifische IgE-Serologietests eingesetzt. Diese Assays, meist ELISA weisen IgE-Antikörper nach, die spezifisch gegen ein Allergenpanel gerichtet sind, welches man als klinisch relevant für die Erkrankung des Patienten annimmt. Diese Panels setzen sich typischerweise aus unterschiedlichen Kombinationen von Pollen, Schimmelpilzen, Staub und epidermalen Allergenen zusammen (MILLER et al., 2013a).

Alle allergenspezifischen IgE-Assays ähneln sich in ihrem Aufbau und Ablauf. Allgemein unterscheidet man zwei Methoden bei Enzyme-Linked Immunosorbent Assays: den direkten und indirekten bzw. Sandwich-ELISA. Sie unterscheiden sich in der Art und Weise wie das zu untersuchende Allergen immobilisiert wird. Bei einem direkten ELISA wird das Antigen in der Regel in einem Carbonat/Bicarbonat-Puffer mit einem pH-Wert über neun verdünnt und bindet über passive Adsorption direkt an den Vertiefungen der Mikrotiterplatte, der festen Phase (BIDWELL et al., 1976; KONSTANTINO, 2017). Bei einem indirekten ELISA hingegen bindet zunächst ein Antigen-spezifischer Antikörper an die Mikrotiterplatte, an welchen anschließend nach Zugabe der Allergenlösung das zu untersuchende Allergen bindet (KONSTANTINO, 2017). Die Festphasen können neben Mikrotiterplatten auch Zellulose- oder Nitrozellulose-Scheiben, kleine immunomagnetische Kügelchen oder kleine Röhrchen sein, deren Einsatz sich je nach Labor unterscheidet (SAEVIK et al., 2003; HOSSEINI et al., 2018).

Auch der eigentliche Nachweis des gesuchten Antigens kann auf zwei verschiedene Wege erfolgen: Bei der direkten Detektion wird der primäre Antikörper mit einem Enzym oder einer fluoreszierenden chemischen Verbindung, dem sogenannten Fluorophor, markiert (KONSTANTINO, 2017). Bei der indirekten Nachweismethode wird in einem zusätzlichen Schritt ein sekundärer Enzymgekoppelter Antikörper zugegeben. Die verwendeten Enzyme sind meist Meerrettichperoxidase oder alkalische Phosphatase. Dieser sekundäre Antikörper bindet spezifisch an den antigen-spezifischen Antikörper (KONSTANTINO, 2017). Abschließend ist eine chemische Reaktion erforderlich, um ein messbares Signal der Enzyme zu erzeugen. Die Katalyse eines nachfolgend zugegebenen spezifischen Substrats erzeugt meist eine farbige Reaktion, kann aber je nach Test ebenso eine fluoreszierende Verbindung oder eine Chemilumineszenz sein

(KONSTANTINOOU, 2017). Die Menge des erzeugten Signals ist proportional zur Menge des IgE-spezifischen Reagenzes, ergo proportional zur Menge des allergenspezifischen IgEs (BIDWELL et al., 1976; DEBOER & HILLIER, 2001b). Je nach Labor werden technische Variationen des Grundprinzips verwendet (DEBOER & HILLIER, 2001b).

In der Entwicklung der SATs verwendete man unterschiedliche Antikörper zur Detektion. Es gab Ansätze mit monoklonalen, gemischt-monoklonalen oder polyklonalen anti-kaninen-IgEs, wobei es immer wieder zu Kreuzreaktion zwischen IgE und IgG kam (STEDMAN et al., 2001). Besonders geeignet erwies sich die Alpha-Untereinheit des humanen hochaffinen IgE Rezeptors (FcεRIα). Diese zeigt zum einen eine hohe Affinität für kanines IgE und bindet zum anderen nicht an IgG (WASSOM & GRIEVE, 1998; STEDMAN et al., 2001). Die Testergebnisse eines macELISA (monoklonaler Antikörper) sind vergleichbar mit denen der FcεRIα-ELISA (STEDMAN et al., 2001).

Trotz der Beliebtheit aufgrund der einfachen Durchführung, ist zu beachten, dass sich SATs nicht als Diagnostikum eignen, da auch bei klinisch unauffälligen Hunden umweltallergen-spezifische Antikörper detektiert werden können. Stattdessen sollen SATs nur bei bereits diagnostizierten atopischen Tieren zur Auswahl geeigneter Allergene für eine AIT verwendet werden (HILL et al., 1995; LIAN & HALLIWELL, 1998; DEBOER & HILLIER, 2001a).

Eine weitere Schwierigkeit stellt die Interpretation der Ergebnisse dar, sobald zahlreiche positive Reaktionen auf Allergene vorhanden sind, in deren Saison der Hund allerdings keine Symptomatik zeigt. Dies kann durch sog. „kruzreaktive Kohlenhydrat-Determinanten (CCD)“ beeinflusst werden. Dies sind hochantigene Epitopstrukturen, wie die 1,3-Fucose auf Asparagin-verknüpften Oligosacchariden von Pflanzen- und Insektenglykoproteinen (GEDON et al., 2019; PICCIONE & DEBOER, 2019). Menschen und auch Hunde weisen spezifisches IgE gegen diese Glykoproteine auf (anti-CCD-IgE-Antikörper), welche Ursache für falsch positive *in-vitro* Tests sein können, da diese anti-CCD-IgE-Antikörper größtenteils keine klinische Relevanz zu haben scheinen (GEDON et al., 2019). In bisherigen Studien konnte eine Prävalenz der anti-CCD-IgE in 23 bis 73 % der Hunde festgestellt werden (LEVY & DEBOER, 2018; GEDON et al., 2019; PICCIONE & DEBOER, 2019).

Vor der Durchführung des eigentlichen ELISAs kann geprüft werden, ob das Serum anti-CCD-IgE-Antikörper aufweist. Diese können im positiven Falle geblockt

werden, sodass letztlich nur die klinisch relevanten IgE-Antikörper an der Testplatte binden (GEDON et al., 2019).

In vielen Bereichen sind SATs den IKTs überlegen: Blutproben können schnell und einfach gewonnen werden. Zudem muss das Tier dem Risiko einer anaphylaktischen Reaktion durch intradermale Injektion von Allergenen nicht ausgesetzt werden. Bluttests können auch dann durchgeführt werden, wenn IKTs aufgrund hochgradiger Hautläsionen und -entzündungen kontraindiziert sind. Außerdem sind AITs basierend auf dem Ergebnis eines SATs ebenso wirksam, wie basierend auf dem Ergebnis eines IKTs (ZUR et al., 2002).

Leider ist die Reproduzierbarkeit von SATs aktuell noch sehr variabel (WILLIAMS et al., 2000; PATTERSON et al., 2005; THOM et al., 2010; LEE et al., 2012; PLANT et al., 2014; LEE et al., 2015). Studien zufolge sind IgE-spezifische Serumtests weder 100% spezifisch noch sensitiv (GINEL et al., 1998; HÄMMERLING & DE WECK, 1998; WASSOM & GRIEVE, 1998; MUELLER et al., 1999), obwohl diese Studien mit Vorsicht zu interpretieren sind, da derzeit kein überzeugender „Goldstandard“ zur Bestimmung allergischer Reaktionen auf aerogene Allergene bei Hunden oder Katzen existiert.

In einer Reihe von Studien wurde die Reproduzierbarkeit allergenspezifischer IgE-Tests in verschiedenen Laboren bereits evaluiert (PATTERSON et al., 2005; THOM et al., 2010; LEE et al., 2015). In Europa sind viele Laboratorien noch nicht evaluiert worden, weshalb nachfolgende Studie durchgeführt wurde.

IV. MATERIAL UND METHODEN

1. Hunde

Dreiunddreißig Hunde aus Privathaltung mit atopischer Dermatitis (AD) wurden in diese prospektive, einfach verblindete Studie aufgenommen. Alle Besitzer gaben ihr Einverständnis zur Blutentnahme und zur Durchführung von Serumallergietests. Da bei allen Hunden im Rahmen der normalen klinischen Praxis Blutproben zur Feststellung der Allergene für eine Immuntherapie entnommen wurde, war eine Genehmigung durch die staatliche Aufsichtsbehörde in Bayern nicht erforderlich.

Die Diagnose von cAD basierte auf der Anamnese, den klinischen Symptomen (Favrot-Kriterien) (FAVROT et al., 2010) und dem Ausschluss geeigneter Differentialdiagnosen wie Nahrungsmittelunverträglichkeiten, Ektoparasiten, Infektionen, endokrine oder Autoimmunerkrankungen.

2. Laboratorien

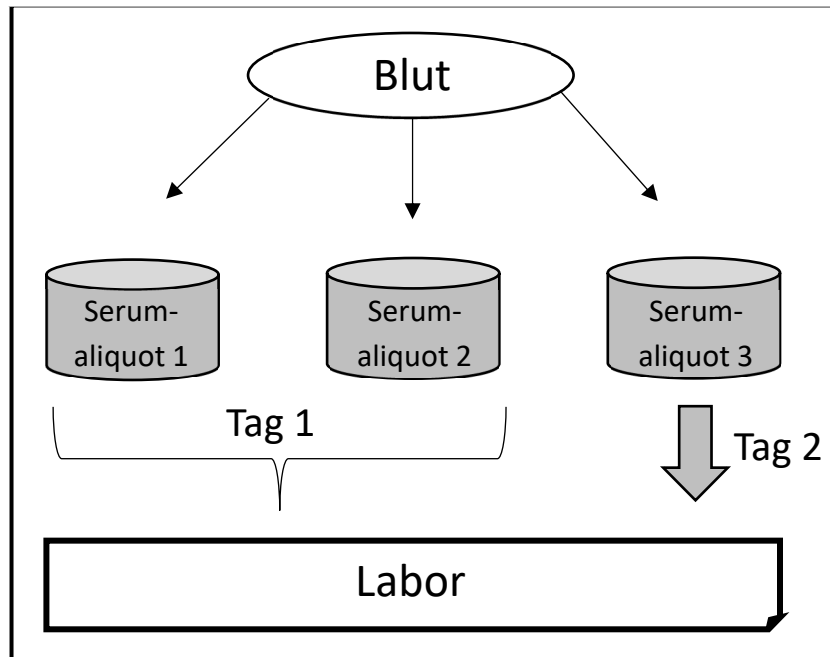
Alle drei ausgewählten Laboratorien verwendeten die monoklonale Antikörper-Cocktail (mac)ELISA-Methode zur Bestimmung von umweltallergenspezifischen IgE-Antikörpern. Die Labore A und C verwendeten oligoklonale Antikörper (OLYGO.3mAb), eine Mischung aus drei monoklonalen Antikörpern, die von rekombinantem Hunde-IgE abgeleitet sind und auf verschiedene IgE Epitope abzielen, während Labor B ein Gemisch aus drei monoklonalen Antikörpern verwendete, die spezifisch an die Fc-Region von Hunde-IgE binden.

3. Studienaufbau

Jedem Hund wurden 15 – 20 ml Blut entnommen und innerhalb von zwei Stunden zentrifugiert. Ein Volumen von 1,5 – 2 ml des entnommenen Serums wurde jeweils in drei Röhrchen gefüllt, wobei jedes Röhrchen mit einem anderen Namen gekennzeichnet war. Die Proben wurden bis zum Versand bei 4 °C gelagert. Die erste und die zweite Probe wurden am ersten Tag gleichzeitig an eines der Laboratorien gesandt. Die dritte Probe wurde am darauffolgenden Tag an dasselbe Labor geschickt (war dieser Tag ein Freitag, wurde die Probe am darauffolgenden Montag verschickt). Das Probenversandprotokoll ist schematisch in Abbildung 1 dargestellt. Die Reihenfolge der Laboratorien, an welche die Proben geschickt

wurden, wurde vor Beginn der Studie mit Hilfe eines Randomisierungstools von GRAPHPAD (www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1/; letzter Zugriff am 26. Januar 2024) festgelegt. Alle drei Laboratorien waren zudem verblindet.

Abbildung 1. Schematische Darstellung der Probenaufteilung und des Probenversands



V. STATISTIK

Die Übereinstimmung der kategorischen Werte der einzelnen Labore basierte auf dem Referenzbereich des jeweiligen Labors. Die Intra- und Interassay Übereinstimmung wurde mit dem Cohen's Kappa-Test ermittelt (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5. Bewertung des Cohen's Kappa-Koeffizienten

| Cohen's Kappa-Wert | Übereinstimmungsgrad |
|----------------------|-------------------------------------|
| $\kappa < 0,1$ | keine Übereinstimmung |
| $0,1 < \kappa < 0,4$ | schwache Übereinstimmung |
| $0,4 < \kappa < 0,6$ | signifikante Übereinstimmung |
| $0,6 < \kappa < 0,8$ | hohe Übereinstimmung |
| $0,8 < \kappa < 1,0$ | (fast) vollständige Übereinstimmung |

Neben der Einstufung der Ergebnisse als positiv oder negativ, fügten zwei Labore eine Zwischenkategorie "fraglich" hinzu. Für diese Laboratorien wurden drei verschiedene Cohen's Kappa-Werte berechnet, bei denen die fragliche Kategorie einmal als positives Ergebnis, einmal als negatives Ergebnis und einmal nicht in die Berechnungen einbezogen wurde. Die Formel zur Berechnung lautet (HAMMANN et al., 2014):

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

P_o ist der Anteil der tatsächlichen Übereinstimmungen, P_e ist der Anteil der zufälligen Übereinstimmungen.

Spearman's Rangordnungs-Korrelations-Koeffizienten (r_{sp}) für die Intra- und

Interassay-Übereinstimmung wurden für alle Labore berechnet. Hierfür wurde folgende Formel verwendet (ENGELHARDT, 2018):

$$r_{Sp} = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(x_i) - \overline{\text{rang}(x)}) (\text{rang}(y_i) - \overline{\text{rang}(y)})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(x_i) - \overline{\text{rang}(x)})^2} * \sqrt{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(y_i) - \overline{\text{rang}(y)})^2}}$$

Die Variationskoeffizienten (VK) der Intra- und Interassay-Variabilität wurden für jede Probe berechnet, indem die Standardabweichung (SD) der beiden gegebenen Werte durch deren Mittelwert geteilt und anschließend mit 100 multipliziert wurde. Nachfolgend wurde der Mittelwert aller VK berechnet. Die Intraassay-Variabilität basierte auf den Werten der Proben, die am selben Tag an dasselbe Labor geschickt wurden. Die Interassay-Variabilität hingegen basierte auf den Werten der Proben, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen an dasselbe Labor eingesandt wurden. Die statistische Analyse wurde durchgeführt mit EXCEL (Microsoft Corporation; Redmond, WA, USA) und PRISM 6g (GraphPad; San Diego, CA, USA).

VI. ERGEBNISSE

Insgesamt wurden 33 Hunde in die Studie inkludiert; davon waren acht von 18 Rüden und fünf von 15 Hündinnen kastriert. Das Alter der Hunde reichte von einem Jahr und einem Monat bis zu neun Jahren (Durchschnittsalter 4,3 Jahre). Am häufigsten waren Mischlingshunde vertreten (sieben Hunde), gefolgt von vier Rhodesian Ridgebacks und zwei Deutschen Schäferhunden. Die übrigen Hunderassen waren jeweils einmal vertreten: Mops, Parson Russell Terrier, Miniatur Bullterrier, Magyar Vizsla, Französische Bulldogge, Bearded Collie, Coton de Tulear, Labrador Retriever, Schweizer Sennenhund, Yorkshire Terrier, Amerikanische Bulldogge, Biewer Terrier, kleiner Münsterländer, Sibirischer Husky, West Highland White Terrier, Weißer Schweizer Schäferhund, Silken Windsprite und Bayerischer Sennenhund. Von den 33 Hunden fehlten bei zweien die Baumpollenergebnisse aufgrund unzureichender Probenmenge, und bei zwei Hunden ging jeweils eine Serumprobe auf dem Weg zum Labor verloren. Die letzten drei vollständigen Testergebnisse von Labor C wurden nicht in die Berechnungen einbezogen, da die Autoren den Verdacht hegten, dass die Verblindung nicht mehr gegeben war. Dementsprechend konnten nur 31 Seren für die Intraassay-Variabilitäten und nur 28 Seren für die Interassay-Variabilitäten verwendet werden. Abzüglich der fehlenden 12 Ergebnisse der Baumpollenallergene, der 30 und 29 Ergebnisse als Folge der verlorenen Testseren und der dreimal 30 Ergebnissen aus Labor C, ergaben sich insgesamt 2.457 auswertbare Testergebnisse und 1.817 Wertepaare. Tabelle 6 zeigt die mit verschiedenen statistischen Methoden ermittelten Übereinstimmungskoeffizienten. Es wurde eine unterschiedliche und allgemein hohe Übereinstimmung der Testergebnisse erzielt. Bei der Betrachtung der Cohen's Kappa-Koeffizienten auf Grundlage der Auswertungsergebnisse in Tabelle 5 fällt auf, dass Labor A für die Intra- bzw. Interkorrelation eine hohe Übereinstimmung (0,61 bzw. 0,79) aufweist, während die Labore B (0,92) und C (0,86 und 0,90) eine fast vollständige Übereinstimmung zeigen. Die VK der Übereinstimmung der Allergenpaare waren am niedrigsten in Labor A (18,92 % und 22,95 %), und obwohl Laboratorien B und C eine höhere Übereinstimmung aufwiesen, unterschieden sie sich nicht signifikant voneinander (B: 14,43 % und 18,79 %; C: 15,38 % und 18,75 %). Die Rangordnungskoeffizienten von Spearman zeigten ein ähnliches Muster, wobei die

Übereinstimmung in Labor B am höchsten war (0,95 und 0,92), gefolgt von Labor C (0,82 und 0,74) und dann Labor A (0,73 bzw. 0,68).

Tabelle 6. Cohen's Kappa Koeffizient

| | Laboratory A* | Laboratory B | Laboratory C* |
|--|------------------|-----------------|------------------|
| intraassay | | 0.92 | |
| fraglich = positiv | 0.79 | – | 0.90 |
| fraglich = negativ | 0.83 | – | 0.91 |
| fraglich = nicht in Berechnungen inkludiert | 0.61 | – | 0.86 |
| interassay | | 0.90 | |
| fraglich = positiv | 0.75 | – | 0.85 |
| fraglich = negativ | 0.79 | – | 0.88 |
| fraglich = nicht in Berechnungen inkludiert | 0.62 | – | 0.82 |

*Für die Labore A und C existierten drei Referenzbereiche: positiv, negativ und fraglich, während bei Labor B nur zwischen zwei Referenzbereichen (positiv und negativ) unterschieden wurde.

VII. DISKUSSION

Die Auswertung der Intra- und Interassay-Variabilitäten von Serumallergietests für umweltallergenspezifisches IgE in drei verschiedenen europäischen Laboren zeigte eine Variation der Übereinstimmung zwischen erheblicher und nahezu perfekter Übereinstimmung. Mehrere Unterschiede hätten jedoch in einigen Fällen zu einer anderen Formulierung des für die Immuntherapie verwendeten Allergenextrakts geführt.

Mögliche Variationen in den Ergebnissen könnten durch die Temperaturschwankungen während des Transports und die Zeit bis zum Eintreffen im Labor verursacht worden sein. In dieser Studie wurden die Proben entweder direkt am Tag der Blutentnahme oder, wenn dieser Tag ein Freitag war, am darauffolgenden Montag verschickt, um die Transportzeiten zu minimieren. Dennoch dürfte die Zeit von der Probenentnahme bis zum Eintreffen im Labor und der Verarbeitung leicht variiert haben, was zu leichten Abweichungen der IgE-Konzentrationen geführt haben könnte. Interassay-Variabilitäten waren etwa 4 % größer als die Intraassay-Variabilitäten, was einen weiteren Beleg für diese Annahme darstellt. Eine andere Studie zeigte einen noch größeren Anstieg der Variabilität um etwa 7 % bei der Auswertung desselben Serums nach 30 Tagen (ZHOU et al., 2019). In einer älteren Studie wurde die Stabilität von IgE während 25 Einfrier- und Auftauzyklen und zehn Tagen Lagerung bei Raumtemperatur getestet. Es wurde eine Abnahme der IgE-Konzentrationen zwischen 0 und 29 % beobachtet (HILL & DEBOER, 1994). In einer Studie von HALLIWELL et al. (1975) zeigte sich ebenfalls ein Verlust von 5,5 % nach zehn Einfrier- und Auftauzyklen und einen Verlust von 2 % des Gesamt-IgE nach sechs Tagen Lagerung bei Raumtemperatur (HALLIWELL et al., 1975). Im Allgemeinen kann daher gesagt werden, dass die unterschiedlich lange Lagerung der Proben zu einer leichten Verringerung der IgE-Menge führt. Da beide Studien aber extreme Bedingungen bewerteten, die in der täglichen Praxis so nicht vorkommen, kann in den meisten Fällen davon ausgegangen werden, dass die IgE-Konzentrationen im Serum des Hundes durch eine Verzögerung der Verarbeitung von 24 Stunden nicht signifikant beeinflusst werden. Nach MURRAY et al. (1993) können u.a. aufgrund präanalytischer und analytischer Faktoren Testschwankungen auftreten. Präanalytische Faktoren können durch falsche Probenbeschriftung oder

Probenvorbereitung, Lagerung und/oder Versand entstehen. Wie bereits erwähnt, sollte jedoch eine einmalige und kurzzeitige Lagerung von maximal drei Tagen bei 4 °C keinen merklichen Einfluss auf die IgE-Mengen gehabt haben. Falsche Markierung und Vorbereitung kann sowohl bei der Verarbeitung der Proben in der Klinik als auch in den Laboren selbst auftreten. Mögliche Gründe für analytische Abweichungen wären Probenverwechslungen oder -kontaminationen, falsch kalibrierte oder nicht funktionsfähige Instrumente oder Maschinen, abgelaufene Reagenzien, unzureichende Verarbeitungszeit oder -temperatur oder Abweichungen vom Testprotokoll (MURRAY et al., 1993; PATTERSON et al., 2005). Diese Faktoren konnten im Rahmen dieser Studie nicht bewertet werden und können auch vom Tierarzt in der Praxis nicht beeinflusst werden.

In der vorliegenden Studie wurden die von den einzelnen Laboratorien angegebenen Cut-off-Werte bewusst als Grundlage für die Bewertung herangezogen, um die Bedingungen in der Praxis widerzuspiegeln. Tierärzte müssen geeignete Allergene für die Allergen-Immuntherapie auf Grundlage der vorgegebenen Referenzwerte in Verbindung mit der individuellen Anamnese des Patienten auswählen. Die Laboratorien wurden nicht miteinander verglichen, was eine Anpassung der Referenzbereiche überflüssig machte. Die Auswahl anderer Cut-off-Werte hätte zu unterschiedlichen Übereinstimmungen führen können (LEE et al., 2012). Die Bewertung der Referenzbereiche war jedoch nicht Teil dieser Studie.

Ein Vergleich der Interassay-Variabilität zwischen den einzelnen Laboratorien wurde nicht durchgeführt, da zu diesem Thema bereits umfangreiche Informationen vorliegen (PATTERSON et al., 2005; LEE et al., 2012; PLANT et al., 2014; LEE et al., 2015). Darüber hinaus boten die drei Labore unterschiedliche Allergenpanels an, was einen direkten Vergleich erschwert hätte und eine Reduzierung der durchschnittlich 31 Allergene auf 15 sich überschneidende erfordert hätte.

Aufgrund des Fehlens eines „Goldstandards“ zur Bestimmung relevanter Allergene für die atopische Dermatitis wurde die Sensitivität und Spezifität der einzelnen Tests nicht bestimmt. Der intradermale Test, der bisher als "Goldstandard" der Allergenbestimmung galt, kann nicht zwischen allergischen und nicht-allergischen Hunden unterscheiden (LIAN & HALLIWELL, 1998; HILLIER & DEBOER, 2001; FOSTER et al., 2003; MUELLER et al., 2005) und ist daher als

„Goldstandard“ nicht geeignet. Ebenso unterscheidet der Serumtest auf umweltallergenspezifisches IgE nicht zuverlässig normale von allergischen Hunden (GINEL et al., 1998; HALLIWELL et al., 1998; KOEBRICH et al., 2012; PICCIONE & DEBOER, 2019).

Besonders auffällig bei der Auswertung waren die Schimmelpilzallergene "Aspergillus", "Penicillium" und "Cladosporium" im Labor C. Alle Testergebnisse des jeweiligen Allergens der verschiedenen Hunde zeigten durchweg die gleichen Zahlenwerte, im Falle von Aspergillus 74, Penicillium 25 und Cladosporium 35. Da individuelle Allergeneinflüsse und -reaktionen sowie IgE Konzentrationen für jeden Hund unterschiedlich sind, wären unterschiedliche Ergebnisse zu erwarten gewesen, wie bei den anderen Allergenen des Panels zu sehen ist. Die identischen Ergebnisse sind schwer zu erklären. Alle Werte lagen jedoch im negativen Referenzbereich, sodass diese Ergebnisse nicht bei der Auswahl der Allergene für die Immuntherapie berücksichtigt wurden.

Mehrere Studien haben sich mit der Reproduzierbarkeit von Serumallergietests befasst. PATTERSON et al. (2005) testeten ein macELISA-Verfahren von Greer Laboratories. Die Serumproben wurden im Abstand von zwei Tagen verschickt, wobei die anschließende Probe in der Zwischenzeit bei -70 °C gelagert wurde. Greer Laboratories war über die Studie informiert und untersuchte die Proben an getrennten Tagen, ohne über Historie oder Herkunft der Proben informiert worden zu sein. Die Ergebnisse zeigten einen viel höheren Variationskoeffizienten (90 %) im Vergleich zur vorliegenden Studie. Zweiundsechzig Prozent der positiven Ergebnisse und 96 % der negativen Ergebnisse waren reproduzierbar (PATTERSON et al., 2005). LEE et al. konzentrierten sich auf die Intra- und Interassay-Variabilität, aber auch auf die laborübergreifende Reproduzierbarkeit von fünf Laboren im Vergleich zu Greers Referenzlabor (LEE et al., 2012; LEE et al., 2015). Der Schwerpunkt der vorliegenden Studie lag jedoch auf der Intra- und Interassay-Reproduzierbarkeit desselben Labors. Die niedrigeren Werte der Intra- (6-13 %) und Interassay-Variabilität (8-17 %) in diesen beiden Studien im Vergleich zur vorliegenden Studie, könnten darauf zurückzuführen sein, dass die Greer Laboratories den Laboren alle erforderlichen Materialien wie Serumproben, Puffer und antigenbeschichtete Vertiefungen zur Verfügung stellten, was mögliche Schwankungen in Bezug auf die Quelle und Art der Reagenzien reduzierte. Im

Gegensatz zu den vorgenannten Studien wurde die vorliegende Studie von keinem der untersuchten Labore finanziert, im Gegenteil, die Labore waren für diese Studie verblindet. Daher war es möglich, die Ergebnisse völlig unabhängig zu bewerten. Eine weitere unabhängige und einfach verblindete Studie wurde von THOM et al. (2010) durchgeführt, die die laborinterne Reproduzierbarkeit mehrerer Proben prüften, die am selben Tag an dasselbe Labor geschickt wurden (THOM et al., 2010). Die Ergebnisse waren mit einer durchschnittlichen laborinternen Varianz von nur 3,14 % sehr gut. Der Unterschied zu der obigen und der vorliegenden Studie besteht darin, dass eine andere Testmethode verwendet wurde, nämlich ein humaner rekombinanter FcεRI-Rezeptor, der bereits in früheren Studien eine hohe Spezifität für Hunde-IgE gezeigt hatte (WASSOM & GRIEVE, 1998; STEDMAN et al., 2001).

In der vorliegenden Studie gab es auch Limitierungen. Insgesamt wurde nur eine kleine Anzahl von Hunden aufgenommen, für Labor A zehn Hunde, für Labor B zwölf Hunde und für Labor C acht Hunde, und in jedem Labor wurden durchschnittlich 31 Allergene getestet. Dies entspricht jedoch einer großen Gesamtzahl von 2.457 ausgewerteten Ergebnissen und somit 1.817 Wertepaaren, die verglichen wurden. Außerdem konnten wir nicht davon ausgehen, dass alle Serumproben wie im Studienprotokoll vorgeschrieben, getestet wurden, da die Labore verblindet waren. Es war daher möglich, dass Serumproben eines Hundes, die an verschiedenen Tagen eingesandt wurden, aufgrund laborinterner Regulierungen in derselben Charge untersucht wurden und somit die Intra- und Interassay-Variabilität verzerrt wurde. Darüber hinaus wurden wir als Kunden zwar nicht über etwaige Änderungen der Testverfahren informiert, während des sechsmonatigen Zeitraums der Probensammlung könnte es aber durchaus zu methodischen Änderungen innerhalb der Labore gekommen sein.

In dieser unabhängigen, verblindeten Studie wies keines der drei getesteten europäischen Veterinärlabore eine absolute Reproduzierbarkeit der Testergebnisse auf, obwohl die Übereinstimmung im Allgemeinen hoch war. Dies bedeutet, dass unabhängig vom verwendeten Serumtest, bei der Auswahl geeigneter Allergene für die ASIT die Ergebnisse immer vor dem Hintergrund der klinischen Vorgeschichte bewertet werden müssen. Derzeit gibt es in der Veterinärmedizin kein externes Kontrollzentrum, welches in regelmäßigen Abständen die Laboratorien und deren

Ergebnisse getestet. Jedes Labor ist aktuell für seine eigene Qualitätsprüfung verantwortlich. Um die Sensitivität, die Reproduzierbarkeit zwischen den Assays und die Übereinstimmung zwischen den Methoden zu verbessern, werden die Gesamtserum-IgE-Tests zahlreicher Labore in der Humanmedizin regelmäßig getestet. Diese externe Leistungsüberwachung wird durch das „College of the American Pathologists“ im Auftrag des „Clinical Laboratory Improvement Advisory Committee“ gewährleistet (HAMILTON & ADKINSON JR, 2003; PREVENTION, 2019). Ein ähnliches System in der Veterinärmedizin könnte zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Serumallergietests beitragen, was allerdings noch weiteren Studien bedarf.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Serumallergietests für allergenspezifisches Immunglobulin E finden standardmäßig ihren Einsatz, um Allergene für eine Allergenspezifische Immuntherapie bei Hunden und Katzen zu identifizieren. Diese Methode wird vor allem gerne von Allgemeinpraxen angewendet, da sie einfach, schnell, ohne Risiken eines anaphylaktischen Schocks und ohne praktische dermatologische Erfahrung, die für Intrakutantests nötig wäre, durchgeführt werden kann. Allerdings wurde die Reproduzierbarkeit solcher Tests bereits oft diskutiert.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Reproduzierbarkeit von Serumallergietests für umweltallergenspezifisches IgE in drei europäischen Laboren zu evaluieren. Keines der drei getesteten Veterinärlabore wies eine absolute Reproduzierbarkeit der Testergebnisse auf, obwohl die Übereinstimmung im Allgemeinen hoch war. Die Differenzen in der Reproduzierbarkeit zwischen Laboren erschwert nach wie vor die Testinterpretation und hebt hervor, wie wichtig es ist, die Ergebnisse eines Serumallergietests auf umweltallergenspezifisches IgE nur im Kontext mit der klinischen Historie des Patienten auszuwerten.

Ein unabhängiges Referenzlabor zur regelmäßigen Evaluierung und Kontrolle der Testresultate, wie es in der Humanmedizin bereits durchgeführt wird, wäre in der Veterinärmedizin sinnvoll, um dadurch die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse zu erhöhen.

IX. SUMMARY

Serum allergy tests for allergen-specific immunoglobulin E are routinely used to identify allergens for allergen-specific immunotherapy in dogs and cats. This method is especially popular amongst general practitioners because it is simple, rapid, without risks of anaphylactic shock, and does not require dermatologic experience that would be necessary for intradermal testing. However, the reproducibility of such tests has often been a matter of debate. The aim of this work was to evaluate the reproducibility of serum allergy tests for environmental allergen-specific IgE in three European laboratories. None of the three tested veterinary laboratories demonstrated absolute reproducibility of test results, although agreement was generally high. The differences in reproducibility between laboratories continues to complicate test interpretation and highlights the importance of evaluating serum allergy test results for environmental allergen-specific IgE only in the context of the patient's clinical history.

An independent reference laboratory for regular evaluation and control of test results, as is already in place in human medicine, would be beneficial in veterinary medicine to improve the reproducibility of test results.

X. LITERATURVERZEICHNIS

Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2005; 89: 203-7.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular und Molecular Immunology*, 7th edn. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders 2012a: 19-26.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular und Molecular Immunology*, 7th edn. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders 2012b: 425 - 43.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*, 7th edn. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders 2012c: 89-97.

Akdis CA, Blaser K. Histamine in the immune regulation of allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 15-22.

Akdis CA, Simons FE. Histamine receptors are hot in immunopharmacology. *Eur J Pharmacol* 2006; 533: 69-76.

Anderson JA. The establishment of common language concerning adverse reactions to foods and food additives. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 140-4.

Auxilia ST, Hill PB. Mast cell distribution, epidermal thickness and hair follicle density in normal canine skin: possible explanations for the predilection sites of atopic dermatitis? *Vet Dermatol* 2000; 11: 247-54.

Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.

Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 1998; 94: 557-72.

Bäumer W, Stahl J, Sander K, Petersen LJ, Paps J, Stark H, Kietzmann M, Olivry T. Lack of preventing effect of systemically and topically administered histamine H(1) or H(4) receptor antagonists in a dog model of acute atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2011; 20: 577-81.

Bensignor E, Olivry T. Treatment of localized lesions of canine atopic dermatitis with tacrolimus ointment: A blinded randomized controlled trial. *Vet Dermatol* 2005; 16: 52-60.

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

Bidwell DE, Dr., Buck AA, Dr., Diesfeld HJ, Dr., Enders B, Dr., Haworth J, Dr., Huldt G, Dr., Kent NH, Dr., Kirsten C, Mattern P, Dr., Ruitenberg EJ, Dr., Voller A, Dr. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bulletin of the World Health Organization* 1976; 54: 129-39.

Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2008; 358: 1483-94.

Bizikova P, Papich MG, Olivry T. Hydroxyzine and cetirizine pharmacokinetics and pharmacodynamics after oral and intravenous administration of hydroxyzine to healthy dogs. *Vet Dermatol* 2008; 19: 348-57.

Bizikova P, Linder KE, Paps J, Olivry T. Effect of a novel topical diester glucocorticoid spray on immediate- and late-phase cutaneous allergic reactions in Maltese-beagle atopic dogs: a placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2010; 21: 71-80.

Bizikova P, Olivry T. A randomized, double-blinded crossover trial testing the

benefit of two hydrolysed poultry-based commercial diets for dogs with spontaneous pruritic chicken allergy. *Vet Dermatol* 2016; 27: 289-e70.

Blagburn BL, Dryden MW. Biology, Treatment, and Control of Flea and Tick Infestations. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009; 39: 1173 - 200.

Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 558-62.

Bowman CC, Selgrade MK. Differences in allergenic potential of food extracts following oral exposure in mice reflect differences in digestibility: potential approaches to safety assessment. *Toxicol Sci* 2008; 102: 100-9.

Bruet V, Bourdeau PJ, Roussel A, Imperato L, Desfontis JC. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 487-e93.

Bruet V, Mosca M, Briand A, Bourdeau P, Pin D, Cochet-Faivre N, Cadiergues MC. Clinical Guidelines for the Use of Antipruritic Drugs in the Control of the Most Frequent Pruritic Skin Diseases in Dogs. *Vet Sci* 2022; 9

Carlotti DN, Remy I, Prost C. Food Allergy In Dogs And Cats. A Review and Report of 43 Cases. *Vet Dermatol* 1990; 1: 55-62.

Chesney CJ. Food sensitivity in the dog: a quantitative study. *Journal of Small Animal Practice* 2002; 43: 203-7.

Chhiba KD, Hsu CL, Berdnikovs S, Bryce PJ. Transcriptional Heterogeneity of Mast Cells and Basophils upon Activation. *J Immunol* 2017; 198: 4868-78.

Chusid MJ. Eosinophils: Friends or Foes? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018; 6: 1439-44.

Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM, Walsh KF, Follis SI, King VI, Tena J-KS, Stegemann MR. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel®) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 587-97, e141-2.

Cosgrove SB, Cleaver DM, King VL, Gilmer AR, Daniels AE, Wren JA, Stegemann MR. Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: safety, efficacy and quality of life. *Vet Dermatol* 2015; 26: 171-9, e35.

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

Day MJ. The canine model of dietary hypersensitivity. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 458-64.

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

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

DeBoer DJ, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 323-9.

DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. *Vet Immunol Immunopathol* 2001b; 81: 277-87.

DeBoer DJ, Verbrugge M, Morris M. Clinical and immunological responses of dust mite sensitive, atopic dogs to treatment with sublingual immunotherapy (SLIT). *Vet*

Dermatol 2016; 27: 82-7e23.

Dryden MW, Gaafar SM. Blood Consumption by the Cat Flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *J Med Ent* 1991; 28: 394 - 400.

Eichenseer M, Johansen C, Mueller RS. Efficacy of dimetinden and hydroxyzine/chlorpheniramine in atopic dogs: a randomised, controlled, double-blinded trial. *Vet Rec* 2013; 173: 423.

Eichenseer M (2013) Klinische Wirkung der Antihistaminika Chlorpheniramin/Hydroxyzin (Histacalmine) und Dimetinden (Fenistil) bei atopischen Hunden [Dissertation]. LMU München, Tierärztliche Fakultät, Munich

Engelhardt A. Crashkurs Statistik: Spearman-Korrelation/ Rangkorrelation. Word-Press 2018: <https://www.crashkurs-statistik.de/spearman-korrelation-rangkorrelation/>. 04/02/2019.

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

Favrot C (2015) Clinical signs and diagnosis of canine atopic dermatitis. In: 3. Congresso Latinoamericano de Dermatologia Veterinaria. Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich, Buenos Aires, Argentina

Fennis EEM, van Damme CMM, Schlotter YM, Sinke JD, Leistra MHG, Bartels RT, Broere F. Efficacy of subcutaneous allergen immunotherapy in atopic dogs: A retrospective study of 664 cases. *Vet Dermatol* 2022; 33: 321-e75.

Ferrari D, Vuerich M, Casciano F, Longhi MS, Melloni E, Secchiero P, Zech A, Robson SC, Müller T, Idzko M. Eosinophils and Purinergic Signaling in Health and Disease. *Front Immunol* 2020; 11: 1339.

Fischer N, Rostaher A, Favrot C. [Intralymphatic immunotherapy: An effective and safe alternative route for canine atopic dermatitis]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2016; 158: 646-52.

Fischer NM, Rostaher A, Favrot C. A comparative study of subcutaneous, intralymphatic and sublingual immunotherapy for the long-term control of dogs with nonseasonal atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2020; 31: 365-e96.

Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JL, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fcepsilon RIalpha-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 93: 51-60.

Fujimura M, Masuda K, Hayashiya M, Okayama T. Flow cytometric analysis of lymphocyte proliferative responses to food allergens in dogs with food allergy. *J Vet Med Sci* 2011; 73: 1309-17.

Gedon NKY, Mueller RS. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clinical and Translational Allergy* 2018; 8: 41.

Gedon NKY, Boehm T, Klinger CJ, Udraitė L, Mueller RS. Agreement of serum allergen test results with unblocked and blocked IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) and intradermal test results in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2019; 30: 195-e61.

Ginel PJ, Riano C, Lucena R. Evaluation of a commercial ELISA test for the detection of allergen-specific IgE antibodies in atopic dogs. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1998; 45: 421-5.

Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ, Zhang M, Mann DW, Mitton-Fry M. Oclacitinib (APOQUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *J Vet Pharmacol Ther* 2014; 37: 317-24.

Gould H, Sutton B, Beavil A, Beavil R, McCloskey N, Coker H, Fear D, Smurthwaite L. The biology of IGE and the basis of allergic disease. Annual review of immunology 2003; 21: 579-628.

Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. Nature Reviews Immunology 2008; 8: 205-17.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 363-83.

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

Gross TL, Halliwell RE. Lesions of experimental flea bite hypersensitivity in the dog. Vet Pathol 1985; 22: 78-81.

Halliwell, Gilbert, Lian M. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. Vet Dermatol 1998; 9: 179-84.

Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. Vet Immunol Immunopathol 2006; 114: 207-8.

Halliwell RE. The immunopathogenesis of allergic skin diseases in dogs and cats. EJCAP 2009; 19: 213 - 8.

Halliwell REW, Schwartzman RM, Montgomery PC, Rockey JH. Physicochemical properties of canine IgE Transplantation Proceedings 1975; 7: 537-43.

Hamilton RG, Adkinson Jr NF. 23. Clinical laboratory assessment of IgE-dependent hypersensitivity. J Allergy Clin Immunol 2003; 111: 687-701.

Hamann M, Jördens J, Schecker H. Übereinstimmung zwischen Beurteilern: Cohens Kappa (κ). In: Methoden in der naturwissenschaftsdidaktischen Forschung. Krüger D, Parchmann I, Schecker H, eds. Berlin: Springer 2014: 239-48.

Hämmerling R, de Weck AD. Comparison of two diagnostic tests for canine atopy using monoclonal anti-IgE antibodies. *Vet Dermatol* 1998; 9: 191-9.

Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic Features of Atopic Dermatitis. *ActaDV* 1980; 60: 44-7.

Hardy JI, Hendricks A, Loeffler A, Chang YM, Verheyen KL, Garden OA, Bond R. Food-specific serum IgE and IgG reactivity in dogs with and without skin disease: lack of correlation between laboratories. *Vet Dermatol* 2014; 25: 447-e70.

Harvey RG. Food allergy and dietary intolerance in dogs: A report of 25 cases. *Journal of Small Animal Practice* 1993; 34: 175-9.

Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res* 2015; 11: 196.

Hill, Martin. A review of mast cell biology. *Vet Dermatol* 1998; 9: 145-66.

Hill PB, DeBoer DJ. Quantification of serum total IgE concentration in dogs by use of an enzyme-linked immunosorbent assay containing monoclonal murine anti-canine IgE. *Am J Vet Res* 1994; 55: 944-8.

Hill PB, Moriello KA, DeBoer DJ. Concentrations of total serum IgE, IgA, and IgG in atopic and parasitized dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 44: 105-13.

Hill PB, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 169-86.

Hill PB, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (V): biology

and role of inflammatory cells in cutaneous allergic reactions. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 187-98.

Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 289-304.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions? *Vet Immunol Immunopathol* 2001a; 81: 227-31.

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

Hobi S, Mueller RS. Efficacy and safety of rush immunotherapy with alum-precipitated allergens in canine atopic dermatitis. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2014; 42: 167-73.

Horvath-Ungerboeck C, Widmann K, Handl S. Detection of DNA from undeclared animal species in commercial elimination diets for dogs using PCR. *Vet Dermatol* 2017; 28: 373-e86.

Hosseini S, Vázquez-Villegas P, Rito-Palomares M, Martínez-Chapa SO. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) - From A to Z*. Singapore: Springer Nature 2018: 33.

Huang H, Li Y, Liu B. Transcriptional regulation of mast cell and basophil lineage commitment. *Semin Immunopathol* 2016; 38: 539-48.

Inman AO, Olivry T, Dunston SM, Monteiro-Riviere NA, Gatto H. Electron microscopic observations of stratum corneum intercellular lipids in normal and atopic dogs. *Vet Pathol* 2001; 38: 720-3.

Ishida R, Masuda K, Kurata K, Ohno K, Tsujimoto H. Lymphocyte blastogenic

responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity. *J Vet Intern Med* 2004; 18: 25-30.

Jeffers J, Shanley K, Meyer E. Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 198 2: 245-50.

Johansen C, Mariani C, Mueller RS. Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Vet Dermatol* 2017; 28: 473-e109.

Kang MH, Kim HJ, Jang HJ, Park HM. Sensitization rates of causative allergens for dogs with atopic dermatitis: detection of canine allergen-specific IgE. *J Vet Sci* 2014; 15: 545-50.

Kaplan AP, Kuna P. Chemokines and the late-phase reaction. *Allergy* 1998; 53: 27-32.

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. *Pol J Vet Sci* 2013; 16: 735-9.

Kennis RA. Food Allergies: Update of Pathogenesis, Diagnoses, and Management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2006; 36: 175-84.

Kim HJ, Kang MH, Park HM. Common allergens of atopic dermatitis in dogs: comparative findings based on intradermal tests. *J Vet Sci* 2011; 12: 287-90.

Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (Fc epsilon RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 931-72.

Koeblich S, Nett-Mettler C, Wilhelm S, Favrot C. Intradermal and serological testing for mites in healthy beagle dogs. *Vet Dermatol* 2012; 23: 192-e39.

Konstantinou G. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods in molecular biology* 2017; 1592: 79-94.

Kovalik M, Thoday KL, van den Broek AH. The use of ciclosporin A in veterinary dermatology. *Vet J* 2012; 193: 317-25.

Kurtdede A, Kurtdede N, Ergün E, Guzel M. Mast cells in the dog skin: distribution, density, heterogeneity and influence of fixation techniques. 2005; 52

Laffort-Dassot C, Carlotti DN, Pin D, Jasmin P. Diagnosis of flea allergy dermatitis: comparison of intradermal testing with flea allergens and a FcepsilonRI alpha-based IgE assay in response to flea control. *Vet Dermatol* 2004; 15: 321-30.

Lam A, Yu A. Overview of flea allergy dermatitis. *Compend Contin Educ Vet* 2009; 31: E1-10.

Larosa DF, Orange JS. 1. Lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: S364-9.

Lee KW, Blankenship KD, McCurry ZM, McKinney B, Ruffner R, Esch RE, Tambone C, Faas R, Hermes D, Brazis P, Drouet L. Intra and inter-laboratory reproducibility of a monoclonal antibody cocktail based ELISA for detection of allergen specific IgE in dogs: proficiency monitoring of macELISA in six laboratories. *Vet Immunol Immunopathol* 2012; 148: 267-75.

Lee KW, Blankenship K, McKinney B, Kern G, Buch J, Greenwood J, Brazis P, Drouet L, Tambone C, Faas R, Weaver G. Proficiency monitoring of monoclonal antibody cocktail-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of allergen-specific immunoglobulin E in dogs. *J Vet Diagn Invest* 2015; 27: 461-9.

Leistra MH, Markwell PJ, Willemsse T. Evaluation of selected-protein-source diets for management of dogs with adverse reactions to foods. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1411-4.

Leurs R, Church M, Taglialatela M. Leurs R, Church MK, Taglialatela MH1-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. *Clin Exp Allergy* 32:489-498. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 489-98.

Levy BJ, DeBoer DJ. A preliminary study of serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in client-owned atopic dogs. *Vet Dermatol* 2018; 29: 243-e90.

Lian TM, Halliwell RE. Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 66: 203-23.

Little PR, King VL, Davis KR, Cosgrove SB, Stegemann MR. A blinded, randomized clinical trial comparing the efficacy and safety of oclacitinib and ciclosporin for the control of atopic dermatitis in client-owned dogs. *Vet Dermatol* 2015; 26: 23-30, e7-8.

Loeffler A, Lloyd D, Bond R, Pfeiffer D, Kim JY. Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs. *Veterinary Record* 2004; 154: 519 - 22.

Loeffler A, Soares-Magalhaes R, Bond R, Lloyd DH. A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs. *Vet Dermatol* 2006; 17: 273-9.

Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol* 2009; 20: 84-98.

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

Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. Immunology. In: *Immunology*, 8th edn:

Elsevier Saunders 2013a: 7f.

Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. Immunology. In: Immunology, 8th edn: Elsevier Saunders 2013b: 30-2.

Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): threshold phenomenon and summation of effects. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 251-4.

Marsella R. Calcineurin inhibitors: a novel approach to canine atopic dermatitis. *J Am Anim Hosp Assoc* 2005; 41: 92-7.

Marsella R, Olivry T, Carlotti D-N, Dermatitis fITFoCA. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 22: 239-48.

Marsella R, De Benedetto A. Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Vet Sci* 2017; 4: 37.

McDonnell JM, Dhaliwal B, Sutton BJ, Gould HJ. IgE, IgE Receptors and Anti-IgE Biologics: Protein Structures and Mechanisms of Action. *Annu Rev Immunol* 2023; 41: 255-75.

McEwen BJ. Eosinophils: a review. *Vet Res Commun* 1992; 16: 11-44.

Michels GM, Walsh KF, Kryda KA, Mahabir SP, Walters RR, Hoovers JD, Martinon OM. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the safety of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2016a; 27: 505-e136.

Michels GM, Ramsey DS, Walsh KF, Martinon OM, Mahabir SP, Hoovers JD, Walters RR, Dunham SA. A blinded, randomized, placebo-controlled, dose determination trial of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized, anti-canine IL-31

monoclonal antibody in client owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2016b; 27: 478-e129.

Miller WH, Jr., Griffin CE, Campbell KL. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edn. St. Louis: Elsevier Health Sciences 2013a: 365 - 80.

Miller WH, Jr., Griffin CE, Campbell KL. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edn. St. Louis, USA: Elsevier Health Sciences 2013b: 407-10.

Miller WH, Jr., Griffin CE, Campbell KL. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edn. St. Louis, USA: Elsevier Health Science 2013c: 57-107.

Miller WH, Jr., Griffin CE, Campbell KL. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edn. St. Louis, USA: Elsevier Health Sciences 2013d: 400-4.

Miller WH, Jr., Griffin CE, Campbell KL. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edn. St. Louis, USA: Elsevier Health Sciences 2013e: 322 - 9.

Miyake K, Shibata S, Yoshikawa S, Karasuyama H. Basophils and their effector molecules in allergic disorders. *Allergy* 2020; 76: 1693-706.

Montero-Vilchez T, Segura-Fernández-Nogueras MV, Pérez-Rodríguez I, Soler-Gongora M, Martinez-Lopez A, Fernández-González A, Molina-Leyva A, Arias-Santiago S. Skin Barrier Function in Psoriasis and Atopic Dermatitis: Transepidermal Water Loss and Temperature as Useful Tools to Assess Disease Severity. *J Clin Med* 2021; 10

Moyaert H, Van Brussel L, Borowski S, Escalada M, Mahabir SP, Walters RR, Stegemann MR. A blinded, randomized clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to ciclosporin in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2017; 28: 593-e145.

Mueller RS, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum

testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. *Aust Vet J* 1999; 77: 290-4.

Mueller RS, Bettenay SV. Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 2001; 62: 307-10.

Mueller RS, Fieseler KV, Rosychuk RA, Greenwalt T. Intradermal testing with the storage mite *Tyrophagus putrescentiae* in normal dogs and dogs with atopic dermatitis in Colorado. *Vet Dermatol* 2005; 16: 27-31.

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 Vet Res* 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 Vet Res* 2018; 14: 341.

Mueller RS, Unterer S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet J* 2018; 236: 89-95.

Mueller RS, Zablotzki Y, Baumann K, Boehm T, Kasper B, Klinger C, Monke M, Udraitė-Vovk L, Weitzer T, Gedon NKY. A randomised, double-blinded comparison between subcutaneous rush and intralymphatic allergen immunotherapy induction in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2023; 34: 91-8.

Müller MR, Linek M, Löwenstein C, Röthig A, Doucette K, Thorstensen K, Mueller RS. Evaluation of cyclosporine-sparing effects of polyunsaturated fatty acids in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J* 2016; 210: 77-81.

Murray W, Peter AT, Teclaw RF. The clinical relevance of assay validation. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 1993; 15:

1665-76.

Nagai H, Abe T, Yamaguchi I, Mito K, Tsunematsu M, Kimata M, Inagaki N. Role of mast cells in the onset of IgE-mediated late-phase cutaneous response in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: S91-8.

Nuttall T, Reece D, Roberts E. Life-long diseases need life-long treatment: long-term safety of ciclosporin in canine atopic dermatitis. *Vet Rec* 2014; 174 Suppl 2: 3-12.

Nuttall TJ, Knight PA, McAleese SM, Lamb JR, Hill PB. Expression of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine gene transcripts in canine atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 789-95.

Nuttall TJ, McEwan NA, Bensignor E, Cornegliani L, Lowenstein C, Reme CA. Comparable efficacy of a topical 0.0584% hydrocortisone aceponate spray and oral ciclosporin in treating canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 4-10, e1-2.

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

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 311-6.

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

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

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. *Vet Dermatol* 2010; 21: 32-41.

Olivry T, Foster AP, Mueller RS, McEwan NA, Chesney C, Williams HC. Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Vet Dermatol* 2010; 21: 4-22.

Olivry T. Letter to the Editor: New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 123.

Olivry T, Mueller RS, Prélaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Vet Res* 2015a; 11: 225.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P, for the International Committee on Allergic Diseases of A. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res* 2015b; 11: 210.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (5): discrepancies between ingredients and labeling in commercial pet foods. *BMC Vet Res* 2018; 14: 24.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (7): signalment and cutaneous manifestations of dogs and cats with adverse food reactions. *BMC Vet Res* 2019; 15: 140-.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (9): time to flare of cutaneous signs after a dietary challenge in dogs and cats with food allergies. *BMC Vet Res* 2020; 16: 158.

Park SH, Lim DH, Son BK, Kim JH, Song YE, Oh IB, Kim YH, Lee KH, Kim SY,

Hong SC. Sensitization rates of airborne pollen and mold in children. *Korean J Pediatr* 2012; 55: 322-9.

Paterson S. Food hypersensitivity in 20 dogs with skin and gastrointestinal signs. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 529-34.

Patterson AP, Schaeffer DJ, Campbell KL. Reproducibility of a commercial in vitro allergen-specific assay for immunoglobulin E in dogs. *Vet Rec* 2005; 157: 81-5.

Pegels N, López-Calleja I, García T, Martín R, González I. Detection of rabbit and hare processed material in compound feeds by TaqMan real-time PCR. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2013; 30: 771-9.

Pegels N, González I, García T, Martín R. Avian-specific real-time PCR assay for authenticity control in farm animal feeds and pet foods. *Food Chem* 2014; 142: 39-47.

Pegels N. Authenticity testing of wheat, barley, rye and oats in food and feed market samples by real-time PCR assays. *Food Science and technology* 2015; v. 60: pp. 867-75-2015 v.60 no.2.

Piccione ML, DeBoer DJ. Serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in healthy and atopic dogs. *Vet Dermatol* 2019; 30: 507-e153.

Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol* 2014; 25: 15-e6.

Popa I, Pin D, Remoue N, Osta B, Callejon S, Videmont E, Gatto H, Portoukalian J, Haftek M. Analysis of epidermal lipids in normal and atopic dogs, before and after administration of an oral omega-6/omega-3 fatty acid feed supplement. A pilot study. *Vet Res Commun* 2011; 35: 501-9.

Popiel J, Cekiera A. Comparison of IgE test results with intradermal skin tests for dust mites and storage mites in atopic dogs. *Pol J Vet Sci* 2015; 18: 351-6.

Prevention CfDCA. Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA). 2019; 02/27/2019: <https://www.cdc.gov/clia/law-regulations.html>. 03/31/2019.

Proverbio D, Perego R, Spada E, Ferro E. Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *Journal of Small Animal Practice* 2010; 51: 370-4.

Pucheu-Haston CM, Jackson HA, Olivry T, Dunston SM, Hammerberg B. Epicutaneous sensitization with *Dermatophagoides farinae* induces generalized allergic dermatitis and elevated mite-specific immunoglobulin E levels in a canine model of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 667-79.

Raditic DM, Remillard RL, Tater KC. ELISA testing for common food antigens in four dry dog foods used in dietary elimination trials. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2011; 95: 90-7.

Radtke F, Wilson A, Ernst B, MacDonald HR. The role of Notch signaling during hematopoietic lineage commitment. *Immunol Rev* 2002; 187: 65-74.

Ranjan S, Young D, Sun F. A single topical fluralaner application to cats and to dogs controls fleas for 12 weeks in a simulated home environment. *Parasit Vectors* 2018; 11: 385.

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. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2013; 97 Suppl 1: 32-8.

Riley JF, West GB. The presence of histamine in tissue mast cells. *J Physiol* 1953; 120: 528-37.

Rossbach K, Wendorff S, Sander K, Stark H, Gutzmer R, Werfel T, Kietzmann M, Bäumer W. Histamine H4 receptor antagonism reduces hapten-induced scratching behaviour but not inflammation. *Exp Dermatol* 2009; 18: 57-63.

Rust MK. Recent Advancements in the Control of Cat Fleas. *Insects* 2020; 11

Saevik BK, Ulstein TL, Larsen HJ. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of allergen-specific IgE antibodies in dogs. *Res Vet Sci* 2003; 74: 37-45.

Saevik BK, Bergvall K, Holm BR, Saijonmaa-Koulumies LE, Hedhammar A, Larsen S, Kristensen F. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2004; 15: 137-45.

Sakuma S, Higashi Y, Sato N, Sasakawa T, Sengoku T, Ohkubo Y, Amaya T, Goto T. Tacrolimus suppressed the production of cytokines involved in atopic dermatitis by direct stimulation of human PBMC system. (Comparison with steroids). *Int Immunopharmacol* 2001; 1: 1219-26.

Salmon JK, Armstrong CA, Ansel JC. The skin as an immune organ. *West J Med* 1994; 160: 146-52.

Santoro D, Marsella R, Pucheu-Haston CM, Eisenschenk MN, Nuttall T, Bizikova P. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction. *Vet Dermatol* 2015; 26: 84-e25.

Saridomichelakis MN, Olivry T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J* 2016; 207: 29-37.

Sasaki H, Kurotaki D, Tamura T. Regulation of basophil and mast cell development by transcription factors. *Allergol Int* 2016; 65: 127-34.

Schilling J, Mueller RS. Double-blinded, placebo-controlled study to evaluate an antipruritic shampoo for dogs with allergic pruritus. *Vet Rec* 2012; 171: 97.

Schlotter YM, Rutten VPMG, Riemers FM, Knol EF, Willemse T. Lesional skin in atopic dogs shows a mixed Type-1 and Type-2 immune responsiveness. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 143: 20-6.

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

Senger K, Zarrin AA. Structure and Function of IgE. In: *Encyclopedia of Immunobiology*. Ratcliffe MJH, ed. Oxford: Academic Press 2016: 31-9.

Senti G, Johansen P, Kündig TM. Intralymphatic immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 537-43.

Shimada K, Yoon JS, Yoshihara T, Iwasaki T, Nishifuji K. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2009; 20: 541-6.

Silverman J, Rust MK. Extended Longevity of the Pre-emerged Adult Cat Flea (Siphonaptera: Pulicidae) and Factors Stimulating Emergence from the Pupal Cocoon. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1985; 78: 763-8.

Simons FE. Advances in H1-antihistamines. *N Engl J Med* 2004; 351: 2203-17.

Simons FER, Simons KJ. The Pharmacology and Use of H1-Receptor-Antagonist Drugs. *New England Journal of Medicine* 1994; 330: 1663-70.

Sinke JD, Thepen T, Bihari IC, Rutten VP, Willemse T. Immunophenotyping of skin-infiltrating T-cell subsets in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 1997; 57: 13-23.

Stedman K, Lee K, Hunter S, Rivoire B, McCall C, Wassom D. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 78: 349-55.

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

Steffan J, Parks C, Seewald W. Clinical trial evaluating the efficacy and safety of cyclosporine in dogs with atopic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 1855-63.

Steffan J, Favrot C, Mueller R. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of cyclosporin for the treatment of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol* 2006; 17: 3-16.

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

Sutton BJ, Davies AM. Structure and dynamics of IgE-receptor interactions: FcεRI and CD23/FcεRII. *Immunological Reviews* 2015; 268: 222-35.

Sutton BJ, Davies AM, Bax HJ, Karagiannis SN. IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies (Basel)* 2019; 8

Thom N, Favrot C, Failing K, Mueller RS, Neiger R, Linek M. Intra- and interlaboratory variability of allergen-specific IgE levels in atopic dogs in three different laboratories using the Fc-epsilon receptor testing. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 133: 183-9.

Timm K, Mueller RS, Nett-Mettler CS. Long-term effects of intralymphatic immunotherapy (ILIT) on canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2018; 29: 123-e49.

Tizard IR. *Veterinary Immunology* 9th edn. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2013: 74-83.

Udraite Vovk L, Watson A, Dodds WJ, Klinger CJ, Classen J, Mueller RS. Testing for food-specific antibodies in saliva and blood of food allergic and healthy dogs. *Vet J* 2019; 245: 1-6.

van Amersfort K, Vernooij JCM, van der Lee A. Efficacy of short-term combination of intralymphatic allergen immunotherapy and lokivetmab treatment in canine atopic dermatitis: A double-blinded, controlled, randomised study. *Vet Dermatol* 2023a; 34: 373-84.

van Amersfort K, van der Lee A, Hagen-Plantinga E. Evidence-base for the beneficial effect of nutraceuticals in canine dermatological immune-mediated inflammatory diseases - A literature review. *Vet Dermatol* 2023b; 34: 266-83.

Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens GPJ. Food Allergy in Dogs and Cats: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2006; 46: 259-73.

Wang B, Wu L, Chen J, Dong L, Chen C, Wen Z, Hu J, Fleming I, Wang DW. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2021; 6: 94.

Wassom DL, Grieve RB. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1a-based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Vet Dermatol* 1998; 9: 173-8.

Weitzer T, Mueller R. The safety of rush immunotherapy in the management of canine atopic dermatitis-230 cases. *Vet Dermatol* 2023; 34: 385-92.

Welle MM, Olivry T, Grimm S, Suter M. Mast cell density and subtypes in the skin of dogs with atopic dermatitis. *J Comp Pathol* 1999; 120: 187-97.

Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991; 324: 1110-8.

Wilhelm S, Favrot C. Food hypersensitivity dermatitis in the dog: diagnostic possibilities. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2005; 147: 165-71.

Willemse T. BSAVA Education Committee Commissioned Article: Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J Small Anim Pract* 1986; 27: 771-8.

Williams HC, Burney PG, Hay RJ, Archer CB, Shipley MJ, Hunter JJ, Bingham EA, Finlay AY, Pembroke AC, Graham-Brown RA, et al. The U.K. Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis. I. Derivation of a minimum set of discriminators for atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1994; 131: 383-96.

Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: establishing a standard. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 1221-30.

Willis-Mahn C, Remillard R, Tater K. ELISA testing for soy antigens in dry dog foods used in dietary elimination trials. *J Am Anim Hosp Assoc* 2014; 50: 383-9.

Wolff K, Stingl G. The Langerhans cell. *The Journal of investigative dermatology* 1983; 80 Suppl: 17s-21s.

Yamaguchi HL, Yamaguchi Y, Peeva E. Role of Innate Immunity in Allergic Contact Dermatitis: An Update. *Int J Mol Sci* 2023; 24

Zajac M, Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, Pomorski ZJ, Sitkowski W, Gołyński MG. Assessment of the relationship between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical signs (CADESI-03) in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2014; 25: 503-6, e83.

Zhou Z, Pieper JB, Campbell K. Intralaboratory Reliability and Variability for

Allergen-Specific Immunoglobulin Type E Serology Testing. *J Am Anim Hosp Assoc* 2019; 55: 124-9.

Zur G, White SD, Ihrke PJ, Kass PH, Toebe N. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 169 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part II. Response to hyposensitization. *Vet Dermatol* 2002; 13: 103-11.

XI. ANHANG

Tabelle 1. Diagnostische Kriterien für Humane Atopische Dermatitis nach Hanifin und Rajka von 1980.

Hauptkriterien

Pruritus

Dermatitis mit Auswirkungen auf Beugeflächen bei Erwachsenen sowie im Gesicht und Extensoren bei Säuglingen

Chronische oder rezidivierende Dermatitis

Persönliche oder familiäre Vorgeschichte einer kutanen oder respiratorischen Atopie

Nebenkriterien

Merkmale eines atopischen Gesichts: Gesichtsblässe oder Erythem, hypopigmentierte Flecken, infraorbitale Verdunkelung, infraorbitale Falten oder Gesichtsfalten, Cheilitis, rezidivierende Bindehautentzündung, anteriore Nackenfalten

Auslöser der atopischen Dermatitis: Nahrungsmittel, emotionale Faktoren, Umweltfaktoren und hautreizende Stoffe wie Wolle, Lösungsmittel und Schweiß

Komplikationen der atopischen Dermatitis: Anfälligkeit für kutane virale und bakterielle Infektionen, beeinträchtigte zellvermittelte Immunität, Sofortige Reaktion auf einen Hauttest, erhöhtes Serum-IgE, Keratokonus, anteriorer subskapulärer Katarakt

Andere: frühes Alter des Auftretens, trockene Haut, Ichthyose, hyperlineare Handflächen, Keratosis pilaris, Hand- und Nahrungsmitteldermatitis, Brustwarzenekzem, weißer Dermographismus, perifollikuläre Akzentuierung

Die Diagnose einer atopischen Dermatitis wird gestellt, wenn drei der vier Haupt- und drei Nebenkriterien erfüllt sind

Tabelle 2. Diagnostische Kriterien für Atopische Dermatitis nach Williams et al. von 1994.

Vorhandensein eines juckenden Hautzustandes (oder elterlicher Bericht über Kratzen oder Reiben bei einem Kind) sowie drei oder mehr der folgenden Punkte

1. Vorgeschichte der Beteiligung von Hautfalten an den Ellbögen, hinter den Knien, vor den Knöcheln oder um den Hals (einschließlich der Wangen bei Kindern unter 10 Jahren)
 2. Eine persönliche Vorgeschichte von Asthma oder Heuschnupfen (oder Vorgeschichte von atopischer Krankheit bei einem Verwandten ersten Grades bei Kindern unter vier Jahren)
 3. Die Vorgeschichte einer allgemein trockenen Haut im letzten Jahr
 4. Sichtbares Beugeekzem (oder Ekzem mit Beteiligung der Wangen/Stirn und der äußeren Gliedmaßen bei Kindern unter vier Jahren)
 5. Beginn der Krankheit im Alter von unter zwei Jahren (wird nicht angewendet, wenn das Kind unter vier Jahre alt ist.)
-

Tabelle 3. Kriterienset nach Favrot et al. von 2010

-
1. Alter zu Beginn der Erkrankung < 3 Jahre
 2. Haltung im Haus
 3. Steroid-responsiver Juckreiz
 4. Chronische oder wiederkehrende Hefepilzinfektionen
 5. Beteiligung der Vorderpfoten
 6. Beteiligung der Pinnae
 7. Läsionsfreie Pinnaeränder
 8. Nicht betroffene Dorsolumbarregion
-

Tabelle 4. Differentialdiagnosen juckender Hauterkrankungen nach Hensel et al. von 2015.

| | |
|--------------------------------|---|
| Ektoparasitosen | Flöhe Sarcoptes Räude Demodikose Cheyletiellose Pediculose Otoakariose Trombikulose |
| Mikrobielle Hautinfektionen | Staphylokokken Pyodermie Malasseziendermatitis |
| Allergische Hauterkrankungen | Flohspeichelallergie Atopische Dermatitis Futtermittelunverträglichkeit/-allergie Insektenhypersensitivität Kontaktdermatitis |
| Neoplastische Hauterkrankungen | Kutanes Lymphom |

XII. DANKSAGUNG

Ohne die Unterstützung zahlreicher Personen hätte ich meine Dissertation in dieser Form nicht realisieren können. Für die vielfältig erfahrene Hilfe möchte ich mich an dieser Stelle sehr herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. med. vet. Ralf Mueller, der bereits während meines Studiums meine Begeisterung für Dermatologie entfachte und mir mit einer Dissertation unter seiner Leitung eine riesengroße Chance ermöglicht hat. Ich danke ihm für das mir entgegengebrachte Vertrauen, die unerschöpfliche Geduld und seine Zeit, die ich stets in Anspruch nehmen durfte. Ebenso danke ich Frau Dr. Sonya Bettenay, die mir immer wieder mit aufbauenden Kommentaren gezeigt hat, dass ich mich genau auf dem richtigen Weg befinde und stets ein offenes Ohr für mich hatte.

Ich bedanke mich außerdem bei Dr. med. vet. Teresa M.S.A. Böhm, Laura Udraitė-Vovk und Bettina Kasper aus der Abteilung für Dermatologie und Allergologie der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München dafür, dass sie mir gezeigt haben, was es heißt, wenn Arbeitskollegen zur Familie werden.

Auch meinen Freunden, die ich zum Korrekturlesen und für Input rekrutieren konnte, drücke ich meinen allergrößten Dank aus. Viele Augen sehen mehr als zwei. Ohne sie wäre es nur halb so perfekt geworden.

Ein großer Dank geht schließlich an meinen Freund, Bastian Scheufele, der während des gesamten Zeitraums stets zu 100% hinter mir stand, mich immer wieder an das Wesentliche erinnert hat und stolz auf mich war, wo ich an mir zweifelte.

Der wohl größte Dank gilt meinen Eltern, die den Grundstein für diese Dissertation gelegt haben, indem sie mir mein Traumstudium zur Tierärztin ermöglicht haben sowie meiner bezaubernden Schwester und meiner nie müde werdenden Oma, die mich immer wieder liebevoll angetrieben haben. Egal wann, egal wo, egal wie - meine Familie hat mich stets in allem unterstützt, motiviert und immer wieder aufgebaut. Ich habe euch lieb!