

# Diagnostik und Therapie der caninen atopischen Dermatitis

von Bettina Kasper

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

## Diagnostik und Therapie der caninen atopischen Dermatitis

von Bettina Kasper  
aus Lahnstein

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. Müller



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

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

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

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Hermann Ammer

Tag der Promotion: 06. Juli 2024



*Für meine Tochter Marlena*



---

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. PUBLIKATION 1: ÜBERSICHTSARTIKEL (MANUSKRIFT).....</b>	<b>5</b>
<b>III. PUBLIKATION 2: STUDIE 1 .....</b>	<b>43</b>
<b>IV. PUBLIKATION 3: STUDIE 2.....</b>	<b>53</b>
<b>V. DISKUSSION .....</b>	<b>63</b>
<b>VI. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>75</b>
<b>VII. SUMMARY .....</b>	<b>77</b>
<b>VIII. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>79</b>
<b>IX. DANKSAGUNG .....</b>	<b>89</b>



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

AD	Atopische Dermatitis/Atopic dermatitis
ADAs	Anti-drug antibodies = Antikörper gegen ein Medikament
AIT	Allergen-Immuntherapie/Allergen-specific immunotherapy
Alpha-Gal	$\alpha$ -1,3-Galactose
Anti-CCD-IgE Antikörper	Anti-CCD-IgE antibodies = IgE Antikörper gegen kreuzreagierende Kohlenhydratbestandteile
Anti-Lokivetmab-Antikörper	Antikörper gegen Lokivetmab
CAD	Canine atopische Dermatitis/Canine atopic dermatitis
CCDs	Cross-reactive carbohydrate determinants/ Kreuzreagierende Kohlenhydratbestandteile
EAUs	ELISA absorbance units
et al.	et alii = und andere
ICADA	International Committee on Allergic Diseases of Animals/ Internationaler Ausschuss für Allergische Krankheiten der Tiere
IDT	Intradermaltest/Intradermal test
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
kg	Kilogramm
Lmab	Lokivetmab
mg	Milligramm
ml	Milliliter

---

nm	Nanometer
NU	Noon Units
pVAS	Pruritus Visual Analogue Scale/Juckreizskala
SAT	Serumallergietest/Serum allergy test
Th	T-Helferzelle
µg	Mikrogramm

## I. EINLEITUNG

Die canine atopische Dermatitis (AD) ist im Praxisalltag der Kleintiermedizin sehr häufig (HILLIER und GRIFFIN, 2001) und wird als eine entzündliche und juckende Hauterkrankung mit genetischer Prädisposition definiert (HALLIWELL, 2006). Trotz neuer Erkenntnisse in den letzten Jahren ist die zugrundeliegende Pathogenese dieser komplexen und multifaktoriellen Erkrankung noch immer nicht vollständig geklärt (SANTORO et al., 2015; MARSELLA, 2021a; MARSELLA, 2021b). Der chronische und oftmals progressive Verlauf der caninen AD schränkt nicht nur die Lebensqualität der Hunde ein, sondern kann auch auf Seiten der Tierbesitzer zu einer großen und gleichzeitig frustrierenden Belastung werden (LINEK und FAVROT, 2010; GEDON und MUELLER, 2018; NOLI, 2019). Aus diesem Grund ist es umso wichtiger, die Patientenbesitzer über den Verlauf der Erkrankung aufzuklären, denn betroffene Hunde können zwar erfolgreich behandelt, aber selten geheilt werden (GORTELL, 2018). Die Diagnosestellung der caninen AD kann ein schwieriger Prozess sein, da diese Krankheit keine pathognomonischen klinischen Anzeichen aufweist (DEBOER und HILLIER, 2001a). Dazu kommt, dass derzeit keines der auf dem Markt verfügbaren Testverfahren zwischen einem gesunden und einem atopischen Hund differenzieren kann. Positive Testreaktionen treten nicht nur bei atopischen, sondern auch bei gesunden Hunden auf und umgekehrt kann nicht jede Testreaktion als klinisch relevant betrachtet werden (HENSEL et al., 2015). Dementsprechend wird die korrekte Diagnose für jeden einzelnen Patienten mittels einer Kombination aus Anamnese, klinischem Bild und Ausschluss anderer Differenzialdiagnosen wie der Flohspeichelallergie, dem Befall mit Ektoparasiten und/oder vorhandenen Sekundärinfektionen gestellt (HENSEL et al., 2015). Therapeutisch stehen grundsätzlich ein kausaler und ein symptomatischer Behandlungsansatz zur Auswahl. Während beim kausalen Therapieansatz lediglich die immunspezifische Allergen-Immuntherapie (AIT) verfügbar ist, kommen für die symptomatische Therapie eine Reihe an Medikamenten in Frage, die sich alle in ihrer Wirksamkeit und den damit verbundenen Nebenwirkungen unterscheiden (OLIVRY et al., 2015; SARIDOMICHELAKIS und OLIVRY, 2016). Die Auswahl geeigneter Allergene für den Beginn der kausalen AIT erfolgt auf Basis der Anamnese in Verbindung mit den Resultaten eines Intrakutan- oder Serumtests auf allergenspezifisches

Immunglobulin E (IgE) (HENSEL et al., 2015). Die Interpretation der jeweiligen Testergebnisse sollte keinesfalls isoliert von der individuellen Patientenhistorie erfolgen, da die gemessene Reaktivität nicht zwangsläufig mit der klinischen Schwere korreliert (PUCHEU-HASTON et al., 2015a). Aufgrund ihrer Einfachheit erfreut sich die Serumtestung basierend auf allergenspezifischem IgE in diesem Kontext großer Beliebtheit. Die Interpretation der Testresultate stellt allerdings eine Herausforderung dar, sofern die positiven Testreaktionen nicht mit der Krankengeschichte des Patienten korrelieren. Die Problematik bei den aktuell zur Verfügung stehenden Serumtests liegt nicht nur in der weltweit bekannten geringen Spezifität und Sensitivität von In-vitro-IgE-Tests (DEBOER und HILLIER, 2001b; HENSEL et al., 2015), sondern auch darin, dass die Ergebnisse von Serum- und Intrakutantest häufig im Widerspruch zueinander stehen (FOSTER et al., 2003). Diese beschriebenen Unstimmigkeiten lassen sich teilweise durch das Vorhandensein kreuzreaktiver Kohlenhydratdeterminanten (CCDs) erklären. Dabei handelt es sich um häufig vorkommende Strukturen in Pflanzen- und Insektenallergenen (FAYE und CHRISPEELS, 1988; FAYE et al., 1993; JIN et al., 2008), die vergangenen Studien zufolge eine Polysensibilisierung in Serumtests mancher Patienten auslösen können (GEDON et al., 2019; LEE et al., 2020; CANNING et al., 2021; MOHAMMADDAVOODI et al., 2021). Folglich können die ausgebildeten CCD-spezifischen IgE Antikörper (Anti-CCD-IgE Antikörper) die Übereinstimmung zwischen Intrakutan- und Serumtests verringern (GEDON et al., 2019) und dadurch möglicherweise die korrekte Allergenauswahl für die AIT erschweren. Bei Betrachtung des symptomatischen Therapieansatzes der caninen AD ist festzustellen, dass in den vergangenen Jahrzehnten insbesondere Medikamente mit einem breiten Behandlungsspektrum wie Glukokortikoide und Ciclosporine Mittel der Wahl waren. Neue Therapieansätze mit geringeren Nebenwirkungen hingegen zielen spezifisch auf dysregulierte Zytokine ab (MARSELLA, 2021a). In den letzten Jahren ist das Interleukin-31 (IL-31) aufgrund seiner pruritogenen und proinflammatorischen Eigenschaften in den Fokus der Wissenschaft gerückt (DILLON et al., 2004; ZHANG et al., 2008; SALEEM et al., 2017). Lokivetmab (Cytopoint<sup>®</sup>, Zoetis Belgium SA) ist ein caninischer monoklonaler Antikörper, welcher selektiv das zirkulierende IL-31 von Hunden bindet und dadurch zu einer effektiven und raschen Juckreizlinderung für die angegebene Wirkdauer von mindestens einem Monat führt. Gleichzeitig geht seine Anwendung nur mit geringfügigen Nebenwirkungen einher (MICHELS et al.,

2016a; MICHELS et al., 2016b; MOYAERT et al., 2017; SZCZEPANIK et al., 2020; FLECK et al., 2021; VAN BRUSSEL et al., 2021).

Das Ziel dieser vorliegenden Arbeit bestand darin, anhand der ersten Studie zu ermitteln, ob bei atopischen Hunden die Testergebnisse von Serum- und Intrakutantest durch die Blockierung von Anti-CCD-IgE Antikörpern unter Verwendung eines in diesem Zusammenhang noch nicht untersuchten Blockierungsmittels, bekannt als NEXT+ (Nextmune AB, Stockholm, Schweden), besser miteinander korrelieren. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Blockierung von Anti-CCD-IgE Antikörpern in CCD-positiven Seren zu einer Reduzierung der Polysensibilisierung gegenüber Pflanzen- und Insektenallergenen führt. Zusätzlich wurden auch Hundeseren von gesunden Hunden auf das Vorhandensein von Anti-CCD-IgE Antikörpern überprüft.

Im Rahmen der zweiten Studie sollte als Hauptziel ermittelt werden, inwieweit sich Lokivetmab als sicheres und effektives Langzeittherapeutikum für Hunde mit AD unter Feldbedingungen eignet, da es zum jetzigen Zeitpunkt an ausführlichen Langzeitstudien zum Einsatz von Lokivetmab bei caniner AD in der Literatur mangelt. Zudem gibt es bisher lediglich eine einzige Veröffentlichung aus Nordamerika, in der einzelne Faktoren zur Vorhersage des anfänglichen Therapieerfolgs von Lokivetmab untersucht wurden (SOUZA et al., 2018). Dies hat uns dazu veranlasst zu prüfen, ob ähnliche Faktoren wie die Art der AD (lebensmittel- oder umweltbedingt), das Alter bei der erstmaligen Verabreichung von Lokivetmab, die Chronizität der Erkrankung, die verwendete Dosierung und das Vorhandensein von Sekundärinfektionen am Tag der ersten Injektion von Lokivetmab nicht nur einen Einfluss auf das anfängliche Behandlungsergebnis, sondern auch auf die langfristigen Ergebnisse bei europäischen Hunden haben. Ein zusätzliches Ziel war es, sämtliche während des Studienzeitraums beobachteten Nebenwirkungen zu dokumentieren.



## **II. PUBLIKATION 1: ÜBERSICHTSARTIKEL (MANUSKRIFT)**

### **Hauterkrankung im Praxisalltag – Canine atopische Dermatitis**

**Bettina Kasper**

**Ralf S. Mueller**, Prof. Dr. med. vet., Dipl. ECVD (Dermatology), Dipl. ACVD (Dermatology), Fellow Australian and New Zealand College of Veterinary Scientists (Dermatology), Fachtierarzt für Kleintierdermatologie (Deutschland)

Centre of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstr. 13, Munich  
80539, Germany

**Vet Impulse, CVE Kleintier**, veröffentlicht

*CVE* 2020 · 5 (6): 1-28 © Veterinär Verlag 2020

## **Die canine atopische Dermatitis – eine häufig auftretende Hauterkrankung im Praxisalltag (Original-Manuskript)**

### **Einleitung**

Was verstehen wir unter der sogenannten caninen atopischen Dermatitis eigentlich? Die canine atopische Dermatitis (CAD) ist eine weit verbreitete allergische Hauterkrankung beim Hund, die Prävalenz liegt bei ca. 10-15 % (HILLIER und GRIFFIN, 2001b; GEDON und MUELLER, 2018). Sie wird definiert als eine „genetisch prädisponierte, entzündliche und juckende Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Merkmalen“ (HALLIWELL, 2006). Das Krankheitsbild ist jedoch keinesfalls pathognomonisch, die Diagnose ist nur mittels ausführlicher Anamnese und weiterführenden klinischen Untersuchungen zu stellen (HENSEL et al., 2015). Bei Hunden mit atopischer Dermatitis (AD) kommt es zur Bildung von „IgE-Antikörpern, die am häufigsten gegen Umweltallergene gerichtet sind“ (HALLIWELL, 2006). Daraus wird ersichtlich, dass neben den Umweltallergenen auch weitere, insbesondere Futterallergene eine wichtige Rolle im Krankheitsverlauf mancher Hunde spielen können (HILLIER und GRIFFIN, 2001a).

### **Canine atopische Dermatitis oder „canine atopic-like Dermatitis“?**

In der Praxis können bei manchen Fällen korrekt diagnostizierter atopischer Dermatitis keine allergenspezifischen IgE-Antikörper-Spiegel im Blut nachgewiesen werden. Dieses Phänomen wird in der Literatur als „canine atopic-like Dermatitis“ bezeichnet, das mit Ausnahme der fehlenden IgE-Antikörper klinisch und histologisch zur atopischen Dermatitis identisch ist (HALLIWELL, 2006). Ob allerdings (wie in der Humanmedizin) eine fehlende IgE-Antwort vorliegt, die Allergien also auf zellmediierter überschießender Immunantwort beruhen, oder die relevanten Allergene für diesen Patienten nicht im Assay getestet werden, ist beim Hund noch nicht klar.

### **Pathogenese und Ursachen**

Die genaue Pathogenese ist bis heute noch nicht vollständig geklärt, weder in der Human- noch in der Tiermedizin. Es wurden nacheinander unterschiedliche Theorien entwickelt (SANTORO et al., 2015):

Die „*inside-outside*“ Theorie besagt, dass genetisch bedingte Veränderungen im

Immunsystem dazu führen, dass auf harmlos einzustufende Allergene mit einer überschießenden Immunantwort reagiert wird (SANTORO et al., 2015). Bei der „*outside-inside*“ Theorie liegt ein Defekt der Hautbarriere vor (WOLF und WOLF, 2012). Dieser Defekt ermöglicht es den Allergenen, die Epidermis zu penetrieren, was zur Folge hat, dass sowohl die Allergenmenge in der Haut, als auch der Kontakt und die Expositionsdauer zwischen den Allergenen und den epidermalen Immunzellen deutlich ansteigt (SANTORO et al., 2015). Letztgenannte Hypothese wurde zu der umfassenderen „*outside-inside-outside*“ Theorie ausgeweitet, auch hier erlaubt eine gestörte Hautbarriere ein Durchdringen der Allergene, wodurch es zu einer Überreaktion des lokalen Immunsystems kommt, die dabei ausgeschütteten Immunmediatoren wiederum bewirken eine weitere Zerstörung der ohnehin schon nicht-intakten Hautbarriere, ein Circulus vitiosus entsteht (ELIAS et al., 2008; SANTORO et al., 2015).

Fest steht, dass es sich bei der caninen atopischen Dermatitis um ein multifaktorielles Geschehen handelt (SANTORO et al., 2015). Mehrere Komponenten spielen laut derzeitigem Wissenstand eine wichtige Rolle im Rahmen der Krankheitsentstehung und werden im Anschluss näher erläutert.

#### *Störung der Hautbarriere*

Das Stratum corneum stellt die äußerste Schicht der Epidermis dar und fungiert als primäre physikalische Barriere der Haut. Die Struktur wird mit der einer Ziegelmauer verglichen, wobei die Korneozyten die Ziegelsteine darstellen, die in der Lipidmatrix, also dem Mörtel, eingebettet sind (ELIAS, 1983; NISHIFUJI und YOON, 2013).

Das Zytoskelett der Korneozyten besteht aus Bündeln von Keratinfilamenten, die mit Filaggrin-Monomeren aggregiert sind, um den Zellen nicht nur ihre abgeflachte Form, sondern gleichzeitig auch ihre mechanische Festigkeit zu verleihen (NISHIFUJI und YOON, 2013). Die im interzellulären Raum befindlichen Lipide - Ceramide, freie Fettsäuren und Cholesterol - sind in Lamellen angeordnet (NISHIFUJI und YOON, 2013; CHERMPRAPAI et al., 2018). Insbesondere die Ceramide als Hauptbestandteil des Stratum corneum spielen dabei eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Permeabilitätsfunktion der Hautbarriere (NISHIFUJI und YOON, 2013).

Bei der caninen atopischen Dermatitis wurden durchbrochene Lipid-Lamellen, die

in ihrer Dicke reduziert sind, erniedrigte Ceramid-Spiegel, veränderte Ceramid-Profile und erniedrigte Mengen an Filaggrin beschrieben, die einzeln oder in Kombination bei individuellen Patienten auftreten und strukturelle und funktionelle Störungen der Hautbarriere (auch in unveränderten Hautarealen) hervorrufen können (INMAN et al., 2001; SHIMADA et al., 2009; CHERVET et al., 2010; YOON et al., 2011; MARSELLA et al., 2016; COMBARROS et al., 2020). Unklar bleibt bei den meisten Patienten, ob die geschädigte Hautbarriere die Ursache oder die Folge der mit caniner atopischer Dermatitis einhergehenden Entzündung darstellt. Die primär oder sekundär geschädigte Epidermis erhöht aber in jedem Fall das Risiko der Allergen-Sensibilisierung.

### *Genetischer Hintergrund*

Die canine atopische Dermatitis gehört zur Kategorie der vererbaren Krankheiten. Bei den Rassen Labrador und Golden Retriever wurde in einer Studie mit britischen Blindenhunden ermittelt, dass fast 50% des Erkrankungsrisikos durch den Genotyp des jeweiligen Hundes vorgegeben wird. Sind beide Elternteile Atopiker, ist die Wahrscheinlichkeit am größten, dass der Nachkömmling ebenfalls atopisch wird, ist dagegen nur ein Elternteil betroffen, ist die Gefahr der Übertragung geringer, aber immer noch höher im Vergleich zu nicht-erkrankten Elterntieren (SHAW et al., 2004). Das entspricht den Verhältnissen beim Menschen. In der Literatur sind neben Labrador und Golden Retriever auch der West Highland White Terrier, der Deutsche Schäferhund, Cocker Spaniel, Boxer, die Französische Bulldogge und der Mops besonders häufig repräsentiert (BIZIKOVA et al., 2015a; MAZRIER et al., 2016).

Bisher durchgeführte genomische Studien haben zahlreiche Genkandidaten aufgedeckt, die aufgrund ihrer Rolle in der Immunität, der Hautbarriere, dem Entzündungsprozess und der Apoptose an der Pathogenese der Atopie beteiligt sein können (BIZIKOVA et al., 2015a). In einer Veröffentlichung wurde die Genexpression in Allergen-behandelter Haut von sensibilisierten Hunden genauer untersucht: 361 Gene, die am Entzündungsgeschehen, der Wundheilung und der Immunantwort mitwirken, wurden vermehrt exprimiert, wohingegen 226 Gene, die für die Differenzierung und Funktion der Hautbarriere essenziell sind, geringere mRNA-Konzentrationen zeigten (SCHAMBER et al., 2014). Im letzten Jahr wurde in den USA eine große Gruppe von atopischen West Highland White Terriern untersucht. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Chromosom 3 und der

Ausprägung der atopischen Dermatitis vermutet. Insbesondere das F2R-Gen ist hierbei in den Fokus gerückt, es ist maßgeblich an der Entstehung des Entzündungsgeschehens beteiligt, nachdem es durch endogene und exogene (z.B. allergische) Proteasen aktiviert wird. Solche Proteasen sind zum Beispiel an der Desquamation beteiligt oder stammen von Umweltallergenen (AGLER et al., 2019).

#### *Umweltfaktoren und Lebensumstände*

Bei atopischen Labradoren und Golden Retrievern wurden das Aufwachsen in einer städtischen Umgebung, die Zugehörigkeit zum männlichen Geschlecht, das Kastrieren von Rüden und Hündinnen und die regelmäßige Flohprophylaxe als Risikofaktoren der Erkrankung identifiziert. Zu den Schutzfaktoren dagegen gehören das Zusammenleben mit anderen Hunden (nicht jedoch mit Katzen) und das Spaziergehen in Wäldern, Feldern und an Stränden (HARVEY et al., 2019). Allerdings waren die Risiko- bzw. Schutzfaktoren nicht sehr ausgeprägt. Viele der soeben aufgezählten Punkte spiegeln die Erkenntnisse der Hygiene-Hypothese wider, die erstmals von Strachan im Jahre 1989 aufgestellt wurde, als er die negative Korrelation zwischen dem Auftreten von Heuschnupfen und der Anzahl an Geschwisterkindern in Großbritannien untersucht hat. Dieser Effekt war bei jüngeren Kindern am stärksten ausgeprägt. Bei jedem weiteren Kind wurde demnach die Wahrscheinlichkeit, eine allergische Erkrankung zu entwickeln, geringer. Dieses Resultat impliziert, dass die Exposition zu „normalen“ Infektionen im Kindesalter vor späterer Allergie-Entwicklung schützen kann (STRACHAN, 1989; BIZIKOVA et al., 2015a).

In den letzten Jahren wurde die Hygiene-Hypothese ausgeweitet. Es wird davon ausgegangen, dass der Abfall von Infektionsraten in den westlichen Ländern sowohl zu ansteigenden Allergie-Fällen, als auch zu vermehrten Autoimmunerkrankungen geführt hat (OKADA et al., 2010).

#### *Überschießende Immunreaktion*

Hunde mit caniner atopischer Dermatitis zeigen Veränderungen in der Immunabwehr, dies ist bereits der fest verankerten Definition zu entnehmen (HALLIWELL, 2006). Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass bei erkrankten Hunden die unverhältnismäßig starke humorale Th2-Immunantwort die typischen Krankheitssymptome erklären kann. In der Phase der Sensibilisierung treffen die

Allergene zum ersten Mal auf T-Zellen im Körper und lösen dort eine Th2-Reaktion aus. Dies führt zur Ausschüttung von Interleukinen (IL-4 und IL-13) und zum anschließenden Klassenwechsel der Antikörper-Produktion zu IgE. Daraufhin binden die neu gebildeten IgE-Antikörper an die passenden Rezeptoren der Mastzellen, basophilen und eosinophilen Granulozyten. Bei erneutem Kontakt mit dem gleichen Allergen kommt es in der Effektorphase zum sogenannten Cross-linking dieser IgE-Antikörper, was die Degranulation und Freisetzung von Entzündungsmediatoren zur Folge hat. Es kommt zur Ausbildung der für die Allergie typischen Symptome. Allerdings ist die klassische durch Mastzelldegranulation hervorgerufene Krankheit die Quaddelsucht und canine atopische Dermatitis ist nicht durch Quaddeln gekennzeichnet (PUCHEU-HASTON et al., 2015; PALI-SCHÖLL et al., 2017; MUELLER und UNTERER, 2018). Zusätzlich zeigen nicht nur atopische Hunde, sondern auch sehr viele gesunde Tiere positive Reaktionen in Intrakutan- und Serumallergietests (MUELLER und OLIVRY, 2017; GEDON und MUELLER, 2018). Neben der soeben beschriebenen überschießenden Th2-Immunreaktion müssen also noch weitere veränderte Immunantworten ablaufen. In akuten Läsionen, also dem frühen Stadium der Entzündung, dominiert der humorale (also für die Antikörperproduktion relevante) Th2-Phänotyp (mit erhöhten Spiegel von IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 und IL-31), wohingegen in chronischen Läsionen ein gemischtes Muster von Lymphozyten und Zytokinen zu finden ist, es treten nicht nur Th2-Mediatoren auf, sondern auch Th1-, Th17- und Th22-Antworten laufen ab (WAGNER et al., 2017; GEDON und MUELLER, 2018; NUTTALL et al., 2019).

Th1 Zellen unterstützen normalerweise die zellmedierte Immunantwort gegen Viren und intrazelluläre Bakterien, sind bei allergischen Individuen aber auch an chronischen Veränderungen beteiligt (NUTTALL et al., 2019). Th17-Lymphozyten hingegen produzieren IL-17, einen proinflammatorischen Botenstoff, der bei der Aktivierung der neutrophilen Granulozyten eine entscheidende Rolle einnimmt und bei atopischen Hunden in erhöhten Konzentrationen zu finden ist (CHAUDHARY et al., 2019; NUTTALL et al., 2019). Diese Zellgruppe schützt normalerweise vor extrazellulären Pathogenen, insbesondere auf der Oberfläche von Epithelien (NUTTALL et al., 2019). Die Th22-Zellen fördern und regulieren Gewebeentzündungen und -reparaturen. Man nimmt an, dass sie die epitheliale Proliferation in der Haut unterstützen (NUTTALL et al., 2019).

Im Gegensatz dazu haben regulatorische T-Zellen zur Aufgabe die Antwort des Immunsystems auf Allergene zu modulieren, indem sie die Effektor-T-Zellen direkt supprimieren. Bei Atopikern kann dies nicht gewährleistet werden, es herrscht entweder ein Mangel an regulatorischen T-Zellen oder die vorhandenen Zellen sind in ihrer Funktionalität gestört (WAGNER et al., 2017). Es steht somit außer Frage, dass eine Überreaktion des Immunsystems für die Pathogenese der caninen atopischen Dermatitis verantwortlich ist. Die Pathogenese ist allerdings kompliziert und viele verschiedene Gene und Umweltfaktoren spielen (bei verschiedenen Patienten in unterschiedlicher Zusammensetzung und Relevanz) eine Rolle, wobei allerdings noch viel Handlungsbedarf besteht, um die ablaufenden Mechanismen im Einzelnen zu entschlüsseln und im Detail zu verstehen. Diese Veränderungen sind in der Humanmedizin denen des Hundes sehr ähnlich und in vielerlei Hinsicht sogar identisch. Die canine atopische Dermatitis wurde aus diesem Grund als Modell für die humane atopische Dermatitis vorgeschlagen (GEDON und MUELLER, 2018).

### **Klinik**

Ursprünglich verstand man unter der caninen atopischen Dermatitis lediglich die durch Umweltallergene ausgelöste Form (Umweltallergie). Da jedoch auch Futterallergene identische Hautsymptome auslösen können, hat man die Definition im Jahre 2006 erweitert (HALLIWELL, 2006; FAVROT et al., 2010; BIZIKOVA et al., 2015b; MUELLER und UNTERER, 2018). Nichtsdestotrotz werden Umweltallergien häufiger beschrieben als die futterinduzierte Variante (Futtermittelallergie) (MUELLER und UNTERER, 2018).

#### *Klinisches Erscheinungsbild*

Das Hauptsymptom der caninen atopischen Dermatitis ist Pruritus, durch die anfänglich geringgradige Entzündung kommt es auch bei vielen Hunden zu einem Hauterythem. Anhaltender Juckreiz und Entzündungen führen in der Regel zu selbst-induzierten Sekundärläsionen, wie bräunlichen Speichelverfärbungen des Fells bis hin zu Alopezie, Exkorationen und in chronischen Fällen Hyperpigmentierungen und Lichenifizierungen. Sekundärinfektionen der Haut treten vermehrt auf und sind im Fall von vorliegenden Bakterien meist mit folliculären Papeln, Pusteln, epidermalen Schuppenkränzen und/oder Krusten vergesellschaftet. Hefeinfektionen hingegen führen zu verstärkten Erythemen und

einem öligen, fettigen Hautbild (GRIFFIN und DEBOER, 2001; BIZIKOVA et al., 2015b; GEDON und MUELLER, 2018; MUELLER und UNTERER, 2018).

Besonders stark betroffene Körperareale sind die distalen Extremitäten inklusive der Pfoten, der axilläre/inguinale und ventrale Bereich, das Gesicht (v.a. periokulär, perioral und die inneren Pinnae) und die Perianalregion. Otitis externa tritt bei rund der Hälfte der Hunde auf und kann durchaus auch das einzige vorhandene Allergiesymptom sein. Während manche Patienten mit vereinzelt, lokal beschränkten Läsionen vorstellig werden, gibt es auch Hunde mit deutlich schwerwiegenderen, generalisierten Krankheitsbildern (GRIFFIN und DEBOER, 2001; BIZIKOVA et al., 2015b; GEDON und MUELLER, 2018; MUELLER und UNTERER, 2018). (**Abbildungen 1-3**)

Spezifische Prädilektionsstellen unterscheiden sich je nach Hunderasse: beim Shar-Pei und West Highland White Terrier zum Beispiel bezieht sich der Juckreiz insbesondere auf die dorsolumbaren Bereiche, während der Deutsche Schäferhund an den Ellbogen, Hinterläufen und dem Thorax betroffen ist (WILHEM et al., 2011; BIZIKOVA et al., 2015b).

Seltener treten klinisch Urtikaria, pyotraumatische Dermatitis, interdigitale Fisteln und Seborrhoea oleosa im Zusammenhang mit atopischer Dermatitis beim Hund auf (BIZIKOVA et al., 2015b). Urtikaria kommen vermehrt bei Boxern vor, interdigitale Fisteln bei Labradoren, pyotraumatische Dermatitis bei Deutschen Schäferhunden, Labrador und Golden Retrievern und Seborrhoea oleosa bei West Highland White Terriern und Deutschen Schäferhunden (WILHEM et al., 2011).

#### *Nicht-Haut-assoziierte Symptome*

Hunde mit Atopie können neben den Hautsymptomen auch Rhinitis und Konjunktivitis entwickeln (BIZIKOVA et al., 2015b). Bei Hunden mit atopischer Dermatitis konnten öfter bakterielle Infektionen im Konjunktivalsack nachgewiesen werden, als bei gesunden Kontrollhunden. Hierbei wurde *Staphylococcus pseudointermedius* am häufigsten identifiziert (FURIANI et al., 2011).

Bei futterinduzierter atopischer Dermatitis kann es zusätzlich zur Hautproblematik zu gastrointestinalen Symptomen, wie Durchfall und Erbrechen kommen, abdominale Schmerzen, Flatulenzen und häufiger Kotabsatz (mehr als 3x/Tag)

können in manchen Fällen beobachtet werden (MUELLER und UNTERER, 2018).

### *Saisonalität*

Während Hunde mit futterinduzierter caniner atopischer Dermatitis ganzjährig Symptome zeigen, ist bei den umweltassoziierten Atopikern oftmals anfänglich eine Saisonalität vorhanden. Jedoch kommt es im Verlauf der Zeit mit Progression der Erkrankung häufig zu einer Verlängerung der Krankheitssaison, bis die anfängliche Saisonalität verloren geht (GRIFFIN und DEBOER, 2001).

### *Alter des Einsetzens*

Die futterinduzierte Atopie tritt entweder bei sehr jungen (< 1 Jahr) oder bereits älteren Hunden (> 6 Jahre) auf (FAVROT et al., 2010; MUELLER und UNTERER, 2018), wohingegen die Umweltform insbesondere bei Hunden im Alter zwischen 6 Monaten und 3 Jahren ihren Höhepunkt findet (GRIFFIN und DEBOER, 2001; GEDON und MUELLER, 2018).

### *Rasseprädisposition*

Zu den stark vertretenen Rassen zählen wie bereits erläutert insbesondere Labrador und Golden Retriever, West Highland White Terrier, Deutscher Schäferhund, Cocker Spaniel, Boxer, Rhodesian Ridgeback, Mops und Französische Bulldoggen. Es sind geringgradige geographische Unterschiede in den Rasseprädispositionen zu erkennen, dies lässt sich einerseits durch die regionale Popularität einiger Rassen und andererseits durch die unterschiedlichen genetischen Hintergründe in den verschiedenen geographischen Regionen erklären (BIZIKOVA et al., 2015b; MUELLER und UNTERER, 2018).

## **Diagnose**

Es gibt kein Symptom, das für die canine atopische Dermatitis pathognomonisch ist, das Erscheinungsbild für diese Krankheit variiert (DEBOER und HILLIER, 2001) und ähnelt oft anderen juckenden Hautkrankheiten (HENSEL et al., 2015). Es gibt momentan keinen Test, der einen atopischen Hund von einem nicht-atopischen Hund unterscheiden kann (DEBOER und HILLIER, 2001). Die endgültige Diagnose der caninen atopischen Dermatitis wird also gestellt durch eine ausführliche Interpretation der Historie und Klinik mit nachfolgendem Ausschluss von Differenzialdiagnosen bzw. zusätzlich vorliegenden Erkrankungen (HENSEL et al., 2015).

**Differenzialdiagnosen bzw. zusätzlich vorliegende Erkrankungen***Ektoparasiten - Flöhe*

Hierbei muss ganz strikt zwischen einem echten Flohbefall und der Flohspeichelallergie unterschieden werden. Während bei einem Befall die Anzahl der Flöhe auf dem Tier und in der unmittelbaren Umgebung deutlich erhöht ist, muss dies bei einer Allergie keineswegs der Fall sein. Bei der Allergieform steht der insbesondere den lumbosakralen Bereich, die Schwanzbasis und die kaudomedialen Oberschenkel betreffende Juckreiz mit daraus resultierenden Läsionen (Papeln, krustige Papeln, pyotraumatische Dermatitis, Alopezie, Lichenifizierungen und Hyperpigmentierungen) im Vordergrund (BRUET et al., 2012; HENSEL et al., 2015).

Ein Hund mit futter- und/oder umweltinduzierter atopischer Dermatitis kann auch eine zusätzliche Allergie gegen Flöhe entwickelt haben, die eine ohnehin nicht einfach zu stellende Diagnose der caninen atopischen Dermatitis erschwert. Deswegen wird empfohlen, dem Hund nach gründlicher Untersuchung, inklusive Flohkamm-Anwendung, ein effektives Ektoparasitikum zu verschreiben, auch wenn weder Flöhe noch Flohkot auffindbar sind, insbesondere dann, wenn der Juckreiz das typische kaudale Körperdrittel des Hundes betrifft. Wichtig ist, dass Partnertiere (sowohl Katzen, als auch Hunde) im gleichen Zuge mitbehandelt werden, um eine Reinfektion zu vermeiden (HENSEL et al., 2015).

*Weitere Ektoparasiten*

Es gibt eine Reihe von weiteren Ektoparasiten, die als Differenzialdiagnose in Frage kommen. Dazu gehört der Sarkoptes-, Cheyletiellen-, Herbstgrasmilben- und Laus-Befall der Hunde. Alle diese Parasiten haben gemeinsam, dass sie mittels oberflächlichem Hautgeschabsel diagnostiziert werden können. Der Fund einer einzigen Milbe/eines Eies ist positiv beweisend. Insbesondere Sarkoptes- und Cheyletiella-Milben sind schwierig zu finden, deswegen empfiehlt sich bei Verdachtsfällen auf jeden Fall eine antiparasitäre Versuchstherapie (HENSEL et al., 2015).

*Sekundärinfektionen*

Bakterielle und/oder Hefepilz-Infektionen treten häufig im Zusammenhang mit caniner atopischer Dermatitis auf. Die am häufigsten kultivierten Erreger sind

*Staphylococcus pseudintermedius* und *Malassezia pachydermatis* (HENSEL et al., 2015; MUELLER und UNTERER, 2018).

Sekundäre Infektionen können Juckreiz auslösen und somit das klinische Bild, mit dem der Patient vorgestellt wird, stark verfälschen. Bleibt der Juckreiz auch nach erfolgreich behandelter Infektion bestehen, kann davon ausgegangen werden, dass er allergischer Natur ist. Verschwindet der Juckreiz dagegen komplett mit der erfolgreichen Behandlung der Erreger, kann auch eine andere Grunderkrankung in Frage kommen, die das Auftreten von Sekundärinfektionen begünstigt, wie dies zum Beispiel bei einer Endokrinopathie der Fall ist. Aus diesem Grund gehört die regelmäßige Zytologieprobenentnahme mit gegebenenfalls anschließender Infektionskontrolle nicht nur zum Programm der Allergieaufarbeitung, sondern ist auch für die adäquate, kontinuierliche Betreuung eines Allergiepatesnten von großer Bedeutung (BIZIKOVA et al., 2015b; HENSEL et al., 2015). Bakterielle und mykologische Untersuchungen mit Sensitivitätstests werden nicht routinemäßig empfohlen, weil eine lokale Behandlung mit Antiseptika die meisten durch Allergie bedingten Infektionen in den Griff bekommt, werden aber vor einer systemischen Antibiotika- und gegebenenfalls Antimykotikagabe empfohlen. (Abbildungen 4, 5)

### **Interpretation von Historie und Klinik**

Die atopische Dermatitis bei Tieren wird anhand der gründlichen Anamnese, klinischen Untersuchung und dem Ausschluss aller möglichen Differenzialdiagnosen gestellt (GEDON und MUELLER, 2018). Die wichtigsten Eckpfeiler, die in einer korrekten Allergie-Aufarbeitung auf keinen Fall fehlen sollten, sind in *Tabelle 1* zusammengefasst.

**Tabelle 1:** Für die Diagnostik einer atopischen Dermatitis wichtige Anamnese

<b>Frage</b>
Seit welchem Alter besteht der Juckreiz, ist es das klassische Allergie-Alter?
Sind die typischen Körperareale betroffen?
Liegen Primär- und/oder Sekundärläsionen vor?
Liegen ganzjährige oder saisonale Symptome vor?
Handelt es sich um eine prädisponierte Rasse?
Wurde in der Vergangenheit gut auf Cortison angesprochen?
Wurden sonstige Allergiemedikamente mit Erfolg verabreicht?

Treffen viele dieser aufgelisteten Punkte auf den Patienten zu, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei dem Krankheitsbild um die canine atopische Dermatitis handelt. Der nächste Schritt in der Aufarbeitung ist eine Zytologie, um Sekundärinfektionen festzustellen und, wenn nötig, zu behandeln. Gleichzeitig wird gegebenenfalls eine effektive Ektoparasitenprophylaxe begonnen. Anschließend kann durch eine Eliminationsdiät eine durch Umweltantigene induzierte von einer durch Futterantigene induzierten atopischen Dermatitis unterschieden werden.

### **Futterinduzierte canine atopische Dermatitis (Futtermittelallergie)**

Bei futterinduziertem Juckreiz muss differenziert werden zwischen der Futtermittelintoleranz, bei der das Immunsystem nicht beteiligt ist, und der klassischen futterassoziierten caninen atopischen Dermatitis, bei der es sich um eine Hypersensitivität, also eine überschießende Immunantwort auf Futterallergene, handelt. Zusätzlich zum klassischen Krankheitsbild der atopischen Dermatitis (in diesem Fall ganzjährig) können bei der futterinduzierten Variante auch gastrointestinale Symptome auftreten (HENSEL et al., 2015; MUELLER und UNTERER, 2018).

In vielen Studien konnten futterspezifische IgE-Antikörper in Hundeseren nachgewiesen werden. Allerdings gibt es zahlreiche Veröffentlichungen, die zeigen, dass es keine verlässliche Korrelation zwischen den ermittelten IgE-

Konzentrationen im Blut und der klinischen Exposition der belastenden Futterallergene gibt (MUELLER und OLIVRY, 2017). Möglicherweise lösen die Futtermittel eine zellmedierte Th1-Immunantwort aus. Die Labor-Ergebnisse der Stimulation von Lymphozyten-Kulturen mit Futterantigenen korrelieren besser mit den klinischen Beobachtungen als die bisherigen Tests, allerdings ist dieses Verfahren sehr kompliziert und kommerziell nicht verfügbar (MUELLER und OLIVRY, 2017; MUELLER und UNTERER, 2018). Aus diesem Grund ist momentan die Eliminationsdiät der Goldstandard zur Diagnosestellung von Futtermittelallergien. Alle alternativen, aktuell auf dem Markt erhältlichen Tests (und dabei spielt es keine Rolle, ob dafür Blut, Serum, Haare oder Speichel eingeschickt werden muss) sind nicht zu empfehlen, da sie die Besitzer zwar viel Geld kosten, die Ergebnisse aber bewiesenermaßen nicht mit den klinischen Gegebenheiten übereinstimmen (MUELLER und UNTERER, 2018).

#### *Eliminationsdiät*

Eine korrekt ausgeführte Eliminationsdiät sollte sich über einen Zeitraum von mindestens 8 Wochen erstrecken (OLIVRY et al., 2015b). Idealerweise wird sich für genau eine Protein- und eine Kohlenhydratquelle entschieden, welche das Tier noch nie zuvor gefressen hat. Die Besitzer sollten unbedingt darüber unterrichtet werden, dass in dieser Zeit nichts anderes gefüttert werden darf, als die ausgewählten Diätkomponenten (HENSEL et al., 2015; MUELLER und UNTERER, 2018). Verbessert sich der Zustand des Hundes innerhalb von dieser Diätperiode, wie dies bei 90% der Futtermittelallergiker der Fall ist (OLIVRY et al., 2015b), sollte im Anschluss der 8 Wochen unbedingt eine Provokation mit dem alten Futter erfolgen, da die Verbesserung auch anderen Faktoren geschuldet sein kann als der Futterumstellung, wie dem Wechsel der Jahreszeit und daraus resultierender Änderung der kursierenden Umweltallergene. Verschlechtert sich der Hund nach Fütterung des alten Futters wieder innerhalb von mehreren Stunden bis maximal zwei Wochen und verbessert sich daraufhin erneut, nachdem wieder auf das Diätfutter gewechselt wurde, ist dies ein klarer Beweis und die Diagnose der futterinduzierten atopischen Dermatitis bzw. Futtermittelallergie ist gestellt (MUELLER und UNTERER, 2018). Zu bedenken ist, dass manche atopische Hunde sowohl auf Futter-, als auch auf Umweltallergene allergisch reagieren können. Das wiederum bedeutet, dass sich diese Hunde nur teilweise unter Fütterung der Diät verbessern (PICCO et al., 2008). Selbstverständlich ist aber auch

ein Teilerfolg als Erfolg zu werten.

Bei der Auswahl der Diätkomponenten ist unbedingt zu berücksichtigen, dass kommerziell erhältliches Futter mit nur einer einzigen deklarierten Proteinquelle für die Diagnosestellung ungeeignet ist. Leider haben viele Studienergebnisse nämlich gezeigt, dass industriell hergestelltes Futter häufig mit Fremdprotein verunreinigt ist, welches auf dem Etikett nicht als Inhaltsstoff gelistet wurde (RADITIC et al., 2011; RICCI et al., 2013; WILLIS-MAHN et al., 2014; HORVATH-UNGERBOECK et al., 2017; OLIVRY und MUELLER, 2018). Eine gute Alternative stellt kommerzielles, hydrolysiertes Futter dar, dessen Allergenität durch die Verarbeitung des Proteins stark herabgesetzt ist (MUELLER und UNTERER, 2018). Nichtsdestotrotz sind auch diese Futtermittel nicht absolut zuverlässig, ein Teil der Hühnchen-allergischen Hunde reagierte auch auf hydrolysiertes Hühnereiweiß (BIZIKOVA und OLIVRY, 2016). Da die Hydrolysate somit nicht zu 100% verlässlich sind, stellt die selbst gekochte Diät noch immer die erste Wahl bei der Aufarbeitung der Allergie dar. Hierbei bereitet der Besitzer die ausgewählte Fleisch- und Kohlenhydratkomponente selbst zu und gewährleistet somit, dass wirklich nur diese beiden Elemente gefüttert werden. Da die Fütterung zweier Inhaltsstoffe keine ausgeglichene Diät darstellt, sollte bei jungen, schnellwachsenden Hunden eine Rationsberechnung durch einen Ernährungsspezialisten durchgeführt werden (MUELLER und UNTERER, 2018). Haben die Besitzer bereits etliche Fleischsorten zuvor gefüttert oder ist die Fütterungsgeschichte des vorgestellten Hundes unbekannt, besteht die Möglichkeit, einen Patchtest als Entscheidungshilfe durchzuführen. Hierbei werden Futtermittel auf der Haut des Hundes platziert und nach 48 Stunden abgelesen. Dieser Test hat eine sehr hohe negative, aber nicht positive Vorhersagekraft und dient somit nicht der Diagnosestellung, dafür aber der Auswahl der Futterkomponenten einer anstehenden Eliminationsdiät (BETHLEHEM et al., 2012; JOHANSEN et al., 2017).

Allen Tierärzten ist bewusst, dass eine niedrige Besitzer- bzw. Patienten-Compliance ein häufiges Problem bei der Durchführung der strikten Eliminationsdiät darstellt. Daher ist es umso wichtiger die Besitzer auf „versteckte“ Fallen während des Ablaufs der Diät aufmerksam zu machen. Dazu gehören nicht nur Medikamente in tierischer Gelatine-Kapsel, sondern auch Tabletten oder Zahnpasta mit Geschmacksstoffen, die die Besitzer in dieser Periode nicht eingeben

bzw. anwenden sollten. Auch Routineabläufe wie das Verstecken von Medikamenten in Streichwurst oder Ähnlichem sollte in dieser Zeit unterlassen werden, um den Ausgang der Diät nicht zu beeinflussen (HENSEL et al., 2015).

### **Umweltassoziierte canine atopische Dermatitis (Umweltallergie)**

Da die Futtermittelallergie ohne gastrointestinale Symptome klinisch in keiner Weise von der Umweltallergie gegen ganzjährig vorkommende Allergene unterschieden werden kann, ist es umso wichtiger eine korrekte Eliminationsdiät durchzuführen (HENSEL et al., 2015; GEDON und MUELLER, 2018). Denn nur durch Ausschluss der Futtermittelkomponente kann die endgültige Diagnose der Umweltallergie gestellt werden.

Ist die Diagnose der Umweltallergie erst einmal bestätigt, können Allergietests zum Einsatz kommen. Sie eignen sich zwar nicht als Screeningtest, da wie bereits dargestellt nicht nur atopische, sondern auch gesunde Hunde positive Reaktionen zeigen und auch andersherum nicht jeder Ausschlag in den angebotenen Tests gleichzeitig auch eine klinische Relevanz hat, sie bieten aber die Möglichkeit, die klinische Diagnose zu bestätigen. Die Testresultate werden außerdem dazu genutzt, die am stärksten belastenden Allergene zu identifizieren, um daraus in Kombination mit der Krankheitsgeschichte und der Erfahrung des behandelnden Tierarztes eine individuell auf den jeweiligen Patienten abgestimmte Allergenlösung herzustellen und eine Immuntherapie zu beginnen. Die Durchführung eines Allergietests empfiehlt sich insbesondere dann, wenn der Patient schwerwiegende Symptome zeigt und/oder länger als 3 Monate im Jahr damit zu kämpfen hat. Wenn der betroffene Hund mit symptomatischer Therapie nicht ausreichend unter Kontrolle zu bekommen ist oder sehr stark unter den Nebenwirkungen der verabreichten Medikamente zu leiden hat, ist der Allergietest ebenfalls die nächste zu treffende Maßnahme (HENSEL et al., 2015; GEDON und MUELLER, 2018).

Aktuell stehen beim Hund zwei Testmöglichkeiten zur Auswahl: Serumallergietest und Intrakutantest. Beide Testmethoden sind sehr unterschiedlich und noch immer nicht standardisiert, weshalb die Ergebnisse stark voneinander abweichen können (FOSTER et al., 2003). Trotzdem unterscheidet sich die Erfolgsrate bei der Immuntherapie basierend auf dem Intrakutantest nicht signifikant von der Erfolgsquote des Serumallergietests (PARK et al., 2000; GEDON und MUELLER, 2018).

*Intrakutantest (Intradermaltest)*

Der Intrakutantest ist ein etablierter Test zur Identifikation von an der Allergie beteiligten Umweltallergenen (HILLIER und DEBOER, 2001; HENSEL et al., 2015). Die Mastzell-Reaktivität in der Haut von atopischen Hunden wird hierbei indirekt gemessen, indem die auf der Zelloberfläche befindlichen IgE-Antikörper unterschiedlichen Allergenextrakten exponiert werden, woraufhin es im Fall von bereits sensibilisierten Mastzellen zur Degranulation kommt (DEBOER und HILLIER, 2001).

Der Intrakutantest wird an der lateralen Thoraxwand des Hundes durchgeführt. Hierfür wird ein Feld ausrasiert und 0,05 bis 0,1ml der jeweiligen Allergen-Testkonzentration intradermal injiziert. Nach 15 bis 20 Minuten erfolgt die Auswertung der Reaktionen (HENSEL et al., 2015). Dabei wird jede Injektionsstelle mit der Positiv- (Histamin-Phosphat) und mit der Negativkontrolle (Kochsalzlösung mit Phenol) verglichen und bewertet (HUBBARD und WHITE, 2011). Die Auswahl der Allergene wird maßgeblich von der geografischen Lage beeinflusst. Es ist wenig sinnvoll ein Tier gegen ein positiv getestetes Allergen zu desensibilisieren, welches nicht oder nur sehr selten in seinem Lebensraum vorkommt (HENSEL, 2012; HENSEL et al., 2015). In der dermatologischen Abteilung des Zentrums für klinische Tiermedizin der LMU München werden zum Beispiel pro Intrakutantest insgesamt 49 Allergene intradermal injiziert, darunter befinden sich viele verschiedene Bäume, Gräser, Pollen und Milben. (**Abbildung 6**)

*Serumallergietest*

Der Serumallergietest hat gegenüber dem Intrakutantest einige Vorteile zu bieten. Er ist einfach, überall verfügbar und weniger invasiv für den Patienten. Außerdem ist der Termin selbst weniger zeitintensiv und es muss keine großflächige Rasur an der seitlichen Thoraxwand vom Besitzer toleriert werden. Der große Nachteil an dem deutlich „bequemerem“ und mit weniger Aufwand verbundenen Testverfahren ist jedoch, dass ausschließlich allergenspezifische IgE-Antikörper im Blut ermittelt werden, alle anderen allergisch bedingten, im atopischen Hund ablaufenden Pathomechanismen werden komplett außer Acht gelassen (HENSEL et al., 2015). Desweiteren ist die Anzahl der getesteten Allergene in der Regel deutlich kleiner verglichen zum Intrakutantest.

Weist ein Hund im Bluttest stark positive Reaktionen gegen ein Allergen auf, welches ausschließlich in einer Jahreszeit vorkommt, in der der Hund keinerlei Symptome zeigt, wirft das Laborergebnis natürlich Fragen auf (PICCIONE und DEBOER, 2019). Um solche Diskrepanzen zukünftig vermeiden zu können, wird ständig daran geforscht, die angebotenen *in vitro* Tests in ihrer Aussagekraft zu verbessern. Einen neuen Ansatzpunkt der Wissenschaftler stellen sogenannte „cross-reactive carbohydrate determinants“ (CCDs) dar. Dabei handelt es sich um Kohlenhydratbestandteile, die häufig in Pflanzen- und Insektenallergenen zu finden sind und zur Ausbildung von spezifischen IgE-Antikörpern führen (GEDON et al., 2019; PICCIONE und DEBOER, 2019). In der Humanmedizin wurde bestätigt, dass solche Anti-CCD IgE-Antikörper zu falsch positiven *in vitro* Testergebnissen führen, da sie im Serumallergietest gemessen werden, jedoch keine klinische Relevanz haben (VAN DER VEEN et al., 1997; MARI et al., 1999; MARI, 2002; HOLZWEBER et al., 2013; GEDON et al., 2019; PICCIONE und DEBOER, 2019). In einer neueren Veröffentlichung konnte bestätigt werden, dass der Intradermaltest am besten mit den Hundeseren übereingestimmt hat, bei denen keine Anti-CCD IgE-Antikörper gefunden werden konnten, wohingegen die Seren, die solche Antikörper enthielten, nicht mit dem Hauttest korrelierten. Die Übereinstimmung der Testergebnisse konnte verbessert werden, nachdem die Anti-CCD IgE-Antikörper geblockt wurden (GEDON et al., 2019). Insgesamt scheint diese neue Methode somit ein vielversprechender Ansatz zu sein, zukünftige Tests zu verbessern. Es bedarf weiterer Studien, die dies untersuchen.

#### *Auswahl der Allergene - Kreuzreaktionen*

Bei der Auswahl der Allergene als Inhalt einer individuell zusammengesetzten Desensibilisierungslösung, die für eine Immuntherapie benötigt wird, werden die positiven Reaktionen des jeweils durchgeführten Allergietests mit der Krankheitsgeschichte des Hundes verglichen und aufeinander abgestimmt (HENSEL et al., 2015). Hierbei gilt es zu berücksichtigen, dass ein weiterer Faktor die korrekte Auswahl erschweren kann, nämlich vorkommende Kreuzreaktionen zwischen verwandten Allergenen, wie dies zum Beispiel bei Hausstaubmilben und Vorratsmilben der Fall ist (OLIVRY und MUELLER, 2019). Dieser Umstand verdeutlicht, weshalb es umso wichtiger ist herauszufinden, ob der Hund den positiv getesteten Allergenen tatsächlich ausgesetzt ist oder nicht. Die korrekte Interpretation aller vorliegender Informationen ist mit sehr viel Erfahrung

verbunden, der Gang zum Spezialisten wird empfohlen (HENSEL et al., 2015).

### *Intervenierende Medikamente*

Die Verabreichung einiger antiallergischer Medikamente kann zu falsch negativen Ergebnissen in den Allergietests führen. Die Ursache hierfür ist, dass manche Medikamente die im Allergiker ablaufenden, dysregulierten Immunantworten hemmen, die mithilfe der diagnostischen Tests erfasst werden. Darunter fallen zum Beispiel die Hemmung der Histamin-Ausschüttung oder auch weiteren Entzündungsmediatoren. Um die Auswertung nicht zu beeinflussen, wird die Einhaltung von Wartezeiten vor der Durchführung eines Allergietests empfohlen (OLIVRY und SARIDOMICHELAKIS, 2013; CLEAR et al., 2015; HENSEL et al., 2015; SOUZA et al., 2018) (*Tabelle 2*).

### **Behandlung**

Man unterscheidet grundsätzlich ursächliche und symptomatische Therapie. Durch den ursächlichen Therapieansatz kann man einigen Hunden die Eingabe von symptomatischen Medikamenten zum Teil, wenn nicht sogar gänzlich ersparen.

### *Ursächliche Therapie der futterinduzierten caninen atopischen Dermatitis*

Bei der futterinduzierten atopischen Dermatitis des Hundes besteht das erfolgreiche, langfristige Management aus der Vermeidung der belastenden Futterallergene. Idealerweise werden die allergieauslösenden Futterkomponenten durch eine sequenzielle Provokation ermittelt. Dies erfolgt, indem die einzelnen Bestandteile nacheinander zum Diätfutter hinzugegeben werden. Ist innerhalb von zwei Wochen keine Reaktion festzustellen, kann man den hinzugefügten Bestandteil auch in Zukunft weiterfüttern, weil keine Allergie dagegen vorliegt. Tritt dagegen eine Verschlechterung der Symptomatik auf, muss diese Komponente künftig gemieden werden. Die nächste Komponente kann erst wieder ausgetestet werden, nachdem sich die Symptome auf dem Diätfutter wieder gebessert haben (VERLINDEN et al., 2006; MUELLER und UNTERER, 2018).

Bei der sequenziellen Provokation handelt es sich um einen herausfordernden Prozess, den einige Patientenbesitzer nicht durchlaufen möchten. Viele favorisieren es, ihren Hund langfristig auf dem selbst gekochten oder kommerziellen, hydrolysierten Diätfutter zu belassen. Bei der selbst gekochten Variante empfiehlt es sich jedoch, einen Ernährungsspezialisten hinzuzuziehen, da die lebenslange

Fütterung von einer einzigen Kohlenhydrat- und Proteinquelle keineswegs bedarfsdeckend und ausgewogen ist (MUELLER und UNTERER, 2018).

**Tabelle 2:** Empfohlene Wartezeiten für ausgewählte Medikamente vor Allergietests

<b>Medikament</b>	<b>Wartezeit vor Intrakutan-tests in Tagen</b>	<b>Wartezeit vor Serumallergietests in Tagen</b>
<b>Antihistaminikum</b> (z.B. Cetirizin)	7	Vermutlich keine
<b>Kurzwirksames orales Glucocorticoid</b> (z.B. Prednisolon)	14	/
<b>Langwirksames zu injizierendes Glucocorticoid</b> (z.B. Methylprednisolonacetat)	28	< 28
<b>Topisches Glucocorticoid</b> (z.B. Hydrocortison)	14	/
<b>Ciclosporin</b>	Applikationsdauer < 6 Wochen: Keine Bei langer Applikationsdauer vermutlich 4-6 Wochen	
<b>Oclacitinib</b>	Applikationsdauer < 6 Wochen: Keine Bei langer Applikationsdauer vermutlich 4-6 Wochen	
<b>Lokivetmab</b>	/	/

*Ursächliche Behandlung der umweltassoziierten caninen atopischen Dermatitis*

Die Allergen-Immuntherapie (Hyposensibilisierung, Desensibilisierung) ist derzeit der einzige kurative Therapieansatz für umweltassoziierte canine atopische

Deratitis (GEDON und MUELLER, 2018). Das Desensibilisieren zielt darauf ab, die vorhandene Dysregulation des Immunsystems zu normalisieren, indem durch die Injektion relevanter Allergene eine Immunantwort initiiert wird, die eine Aktivierung regulatorischer T-Zellen und immunsuppressiver Zytokine mit einer anschließenden Verbesserung der klinischen Symptomatik zur Folge hat (MUELLER, 2019; NUTTALL et al., 2019). Die Behandlung ist in 50-75% der Fälle erfolgreich (GEDON et al., 2019). Häufig lassen sich Verbesserungen des Zustandes erst nach einer Applikationsdauer von sechs bis zwölf Monaten erkennen, weswegen die Desensibilisierung ein volles Jahr durchgeführt werden muss, bis die Wirksamkeit evaluiert werden kann (OLIVRY et al., 2015a; NUTTALL et al., 2019). Selbst wenn keine vollständige Besserung eintritt, ist es bereits als Erfolg zu werten, wenn die zusätzlich applizierten antiallergischen Medikamente reduziert werden können (MUELLER, 2019). Insgesamt betrachtet ist die Allergen-Immuntherapie als sichere Therapieoption einzustufen. Als Nebenwirkung kann gesteigerter Juckreiz beobachtet werden, insbesondere zu Beginn der Therapie. In nur sehr wenigen, seltenen Fällen kommt es zu anaphylaktischen Reaktionen (OLIVRY et al., 2015a; MUELLER, 2019).

Bei konventioneller Immuntherapie wird die Dosis in einem mehrwöchigen bis mehrmonatigen Induktionsintervall graduell erhöht, bis die Erhaltungsdosis erreicht wird. Bei der Variante der Rush-Immuntherapie wird die Dosis in kurzen Intervallen gesteigert, sodass die Erhaltungsdosis bereits an einem Tag erzielt werden kann (HOBI und MUELLER, 2014). Ist die Therapie erst einmal begonnen, gilt es, das Protokoll individuell auf den Patienten abzustimmen und bei Bedarf Dosis und/oder Intervall der Desensibilisierung anzupassen, um den bestmöglichen Erfolg für den Patienten zu erzielen (MUELLER, 2019; NUTTALL et al., 2019).

In den meisten Fällen wird die Allergenlösung mittels subkutaner Injektion verabreicht, es gibt aber auch die Option der intralymphatischen oder oromucosalen Applikationsroute, genau wie in der Humanmedizin (MUELLER, 2019; NUTTALL et al., 2019). Im Gegensatz zur konventionellen und Rush-Immuntherapie, die beide schon seit Jahrzehnten subkutan durchgeführt werden, sind für die intralymphatische und oromucosale Administration nur wenige und kurzfristige Erfahrungen vorhanden.

*Symptomatische Therapie*

Es gibt viele verschiedene Medikamente, die zur entzündungshemmenden und juckreizlindernden Therapie der caninen atopischen Dermatitis verwendet werden können (GEDON und MUELLER, 2018).

- *Glukokortikoide*

Da mittlerweile gezieltere Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen, ist die Gabe von Glukokortikoiden nicht mehr Mittel der ersten Wahl (GEDON und MUELLER, 2018; NUTTALL et al., 2019). Dennoch hat das jahrelang verwendete Medikament seine Daseinsberechtigung aufgrund von vielen Vorteilen, die es bietet: es ist kostengünstig, universal erhältlich, bei den meisten atopischen Hunden wirksam und hat einen sehr raschen Wirkungseintritt. Stellt sich nach der Gabe von Cortison keine Besserung ein, liegt oftmals zusätzlich eine Sekundärinfektion oder ein Ektoparasitenbefall vor, beides sollte unbedingt überprüft und ausgeschlossen oder behandelt werden (OLIVRY et al., 2015a; GEDON und MUELLER, 2018). Das ICADA (International Committee on Allergic Diseases of Animals) empfiehlt orales Prednisolon, Prednison oder Methylprednisolon in einer Dosierung von 0,5-1mg/kg pro Tag zu verabreichen. Nach erreichter Remission wird das Glukokortikoid auf die geringste noch wirkende Dosis und Frequenz reduziert, da potenziell schwerwiegende Nebenwirkungen proportional zur Dosierungsstärke, Applikationsdauer und Potenz des Medikamentes sind (OLIVRY et al., 2015a). Zu den Nebenwirkungen oraler und insbesondere injizierbarer Depotglukokortikoide zählen Polyurie und Polydipsie, Polyphagie, Muskelatrophie, sekundäre Hautinfektionen, Calcinosis cutis und andere (GEDON und MUELLER, 2018).

- *Ciclosporin*

Ciclosporin ist ein Calcineurin-Inhibitor und hat damit eine hemmende Wirkung auf die T-Helferzellen. Es ist hoch wirksam und erzielt vergleichbare Ergebnisse zu Glukokortikoiden (GEDON und MUELLER, 2018). Das ICADA empfiehlt orales Ciclosporin 1x täglich in einer Dosis von 5mg/kg zu verabreichen. Jedoch sollte bedacht werden, dass die volle Wirkung erst nach 4-6 Wochen eintritt. Ab diesem Zeitpunkt kann versucht

werden, die Frequenz auf jeden zweiten Tag zu senken, das ist bei mehr als der Hälfte der Patienten immer noch ausreichend (OLIVRY et al., 2015a).

Zu den am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen zählen milde gastrointestinale Symptome wie Durchfall und Erbrechen, insbesondere zu Beginn der Therapie. Diese lassen aber meist bei kontinuierlicher Einnahme nach und können durch Einfrieren der Kapseln, graduelle Dosiserhöhung über 3-4 Tage sowie durch Antiemetika in den ersten Tagen der Ciclosporin-Gabe minimiert werden. Von Hyperplasien des Zahnfleisches und hyperplastischer Dermatitis wird ebenfalls berichtet, diese klingen aber typischerweise mit einer Dosisreduktion oder dem vollständigen Absetzen wieder ab (GEDON und MUELLER, 2018).

Um dem späten Wirkungseintritt von Ciclosporin entgegenzuwirken, kann man anfänglich Prednisolon (1mg/kg täglich) für 7 Tage zur Ciclosporintherapie hinzufügen und es in den darauffolgenden 14 Tagen wieder ausschleichen. Somit hat man die Zeit, bis das Ciclosporin wirkt, gut überbrückt und erreicht durch die Kombinationstherapie eine zeitnahe Besserung der Hautläsionen und des Juckreizes (OLIVRY et al., 2015a).

- *Oclacitinib*

Oclacitinib hemmt selektiv die Janus Kinase 1. Dabei handelt es sich um ein Enzym, welches an den Signalwegen gewisser Zytokin-Rezeptoren beteiligt ist. Zu den betroffenen Rezeptoren zählen diejenigen für IL-2, IL-4, IL-6, IL-13 und IL-31. Oclacitinib ist sehr effektiv (vergleichbar mit Prednisolon) und gleichzeitig auch schnell wirksam. Die initiale Dosis von 0,4-0,6mg/kg 2x täglich kann und soll nach 14 Tagen auf 1x täglich verringert werden. Das ICADA empfiehlt bei kompletter Remission eine weitere Reduktion, bis die individuelle Erhaltungsdosis erreicht wird. Als Nebenwirkungen werden gelegentlich Anorexie, Erbrechen und Durchfall gesehen, bei Langzeittherapie wird von Sekundärinfektionen und Histiozytomen berichtet (OLIVRY et al., 2015a; SARIDOMICHELAKIS und OLIVRY, 2016; GEDON und MUELLER, 2018).

- *Lokivetmab*

Lokivetmab ist ein caninisierte monoklonale Antikörper, der den Juckreizbotenstoff IL-31 des Hundes selektiv bindet und dadurch

neutralisiert. Die Effektivität der Juckreizhemmung ist dabei vergleichbar zu der von oralem Prednisolon. Der Wirkstoff wird in seiner flüssigen Darreichungsform subkutan von einem Tierarzt injiziert (empfohlene Dosis: 1mg/kg). Zu den Vorteilen des Medikamentes gehören neben der sicheren Anwendung auch der schnelle Wirkeintritt und die lange Wirkdauer von ungefähr vier Wochen nach jeder einzelnen Injektion. Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten wurden nicht beobachtet. Während Oclacitinib erst ab einem Alter von 12 Monaten zugelassen ist, liegt bei Lokivetmab keine Altersrestriktion vor (OLIVRY et al., 2015a; GEDON und MUELLER, 2018; SOUZA et al., 2018). In einer großen Studie konnten nur milde Nebenwirkungen bei behandelten Hunden beobachtet werden, sie verschwanden ohne intervenierende Maßnahmen. Lethargie und Erbrechen traten dabei am häufigsten auf (SOUZA et al., 2018). Einige Hunde (2,5%) entwickeln gegen das Medikament einen Antikörperspiegel. Diese Anti-Lokivetmab-Antikörper können das Medikament neutralisieren und an der Wirkung hindern (MICHELS et al., 2016). Die Frequenz und klinische Relevanz solcher Antikörper ist zu diesem Zeitpunkt jedoch noch nicht in Langzeitstudien untersucht worden und bedarf weiterer Überprüfung.

- *Antihistaminika*

Antihistaminika haben insgesamt eine moderate Wirksamkeit und eignen sich insbesondere für Hunde mit milder Symptomatik. Die Wirksamkeit variiert jedoch von Hund zu Hund, weswegen eine Versuchstherapie mit unterschiedlichen Antihistaminika über einen Zeitraum von je 7-14 Tagen empfohlen wird. Ist die Einnahme juckreizlindernd, kann sie aufgrund der wenigen Nebenwirkungen langfristig fortgesetzt werden. Antihistaminika greifen erst ein, nachdem die Mastzellen bereits degranuliert sind. Die Einnahme eignet sich aus diesem Grund nicht zur Linderung eines akuten Schubes, sondern als präventive Dauertherapie, um solchen Schüben entgegenzuwirken. Gleichzeitig können Antihistaminika die zur Juckreizunterdrückung nötige Dosis anderer Medikamente wie zum Beispiel Glukokortikoiden verringern. Von oralem Hydroxyzin werden 2mg/kg 2x täglich empfohlen, bei seinem aktiven Metaboliten, dem Cetirizin, reicht die 1x tägliche Einnahme von 1mg/kg. Antihistaminika können auch miteinander kombiniert werden (OLIVRY et al., 2015a;

SARIDOMICHELAKIS und OLIVRY, 2016).

- *Topische Therapie*

Das Hydrocortisonaceponat-Spray ist sehr effektiv in der Anwendung bei akuten Allergieschüben. Im Gegensatz zu anderen topischen Glukokortikoidpräparaten wird es in der Haut metabolisiert und hat deswegen deutlich weniger systemische Nebenwirkungen. Es wird empfohlen, das Präparat täglich auf die betroffenen Stellen (insbesondere bei lokalisierten Läsionen) aufzutragen. Eine Besserung sollte in einem Zeitraum von 1-2 Wochen gesehen werden. Anschließend kann das Spray nur noch jeden zweiten Tag und bei manchen Patienten sogar nur 2x pro Woche aufgetragen werden, um das Risiko der Nebenwirkungen zu minimieren. Alternativ oder bei bereits eingetretener Hautatrophie kann ein lokaler Calcineurin-Inhibitor (Tacrolimus 0,1%) 1-2x täglich auf die Läsionen aufgebracht werden. Dabei gilt jedoch zu berücksichtigen, dass der Wirkeintritt der systemischen Variante des Wirkstoffs ähnelt und sich die Creme daher nicht bei akuten Verschlechterungen eignet (OLIVRY et al., 2010; OLIVRY et al., 2015a).

Häufiges Baden (mindestens 1x pro Woche) mit einem milden, nicht irritierenden Shampoo kann bei vielen Allergikern ebenfalls von großem Nutzen sein. Hierbei sollte das Shampoo genau auf die Bedürfnisse des Hundes abgestimmt werden: feuchtigkeitsspendende Inhaltsstoffe haben eine beruhigende Wirkung auf die Haut, wohingegen bei vorliegender Sekundärinfektion ein antiseptisches Präparat bevorzugt werden sollte. Anti-Seborrhoe-Shampoo sollte bei schuppiger, fettender Haut angewendet werden. Dabei ist es wichtig, den Hund mindestens 10 Minuten zu shampooen und danach mindestens 10 Minuten das Shampoo gründlich abzuwaschen, um ein Austrocknen der Haut zu vermeiden (OLIVRY et al., 2015a).

- *Essenzielle Fettsäuren*

Essenzielle Fettsäuren können entweder oral supplementiert werden oder lokal auf die Haut aufgetragen werden. Sie stärken die Hautbarriere, verbessern die Fellqualität und eignen sich somit hervorragend zur Unterstützung von Allergikern (OLIVRY et al., 2015a; GEDON und

MUELLER, 2018). Die zusätzliche orale Gabe von Fettsäuren hat die zur Kontrolle der atopischen Symptomatik nötigen Glukokortikoid- und Ciclosporindosen in Studien signifikant heruntergesetzt (SAEVIK et al., 2004; MÜLLER et al., 2016). Nebenwirkungen sind extrem selten, eine graduelle Dosiserhöhung wird allerdings zur Vermeidung von gastrointestinalen Symptomen empfohlen. In der Regel werden 50mg/kg/Tag der relevanten Fettsäuren (Linolsäure, gamma-Linolsäure, Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure) als Dosis empfohlen.

### **Management von Sekundärinfektionen**

Sekundärinfektionen auf der Haut mit Hefepilzen und/oder Bakterien kommen häufig erschwerend bei Hunden mit caniner atopischer Dermatitis hinzu (HENSEL et al., 2015; MUELLER und UNTERER, 2018). Der Einsatz von systemischer Antibiose und Antifungiziden ist aufgrund der steigenden Resistenzlage und der potenziellen Nebenwirkungen nicht in jedem Fall indiziert. Eine systemische Therapie mit Resistenzprofil ist bei Allergikern nur selten notwendig, meist wird auf topisch anzuwendende Alternativen wie Chlorhexidin bei bakteriellen Infektionen zurückgegriffen. Liegt hingegen eine Malassezien-Infektion vor, ist die Kombination aus Chlorhexidin und Mikonazol zu bevorzugen. Die Wirkstoffe gibt es je nach Besitzerpräferenz als Shampoos, Mousse, Pads oder Sprays (MUELLER et al., 2012; RAMOS et al., 2019). Zytologie-Kontrollen werden dringend in regelmäßigen Abständen empfohlen, um den Behandlungserfolg zu reevaluieren. (Abbildungen 7-10)

### **Zusammenfassung**

Die canine atopische Dermatitis ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei der nach heutigem Wissensstand eine genetische Prädisposition zusammen mit Umweltfaktoren zu einer defekten Hautbarriere und/oder zu einer überschießenden Immunantwort auf harmlos einzustufende Umwelt- und/oder Futterallergene führt.

Pruritus ist das Hauptsymptom der Erkrankung, dazu kommen bestimmte Primärläsionen und selbstinduzierte Sekundärläsionen, oft mit erschwerenden Sekundärinfektionen kombiniert. Häufig betroffene Körperareale sind die distalen Extremitäten inklusive der Pfoten, der axilläre/inguinale und ventrale Bereich, das Gesicht (v.a. periokulär, perioral), die Ohren und die Perianalregion. Zu den prädisponierten Rassen gehören insbesondere Labrador und Golden Retriever,

West Highland White Terrier, Deutscher Schäferhund, Cocker Spaniel, Boxer, Rhodesian Ridgeback, Mops und Französische Bulldoggen. Futtermittelallergien treten vor allem im Alter von < 1 Jahr und > 6 Jahren auf, wohingegen Umweltallergien in den meisten Fällen bei jüngeren Hunden (< 3 Jahren) beginnen.

Die Diagnose kann nur mittels gründlicher Anamnese, Klinik und dem Ausschluss von Differenzialdiagnosen gestellt werden. Eine Ektoparasitenprophylaxe schließt die Flohspeichelallergie und den Befall durch weitere Ektoparasiten aus, die Eliminationsdiät eine mögliche Futtermittelallergie. Liegt keine Futtermittelkomponente vor, ist die Umweltallergie als Ausschlussdiagnose bestätigt. Intrakutantest oder Serumallergietest können durchgeführt werden, um die passenden Allergene, unter Berücksichtigung des Vorberichts, für eine Desensibilisierung auszuwählen.

Wird keine ursächliche Therapie gewünscht, stehen viele Möglichkeiten der symptomatischen Therapie zur Auswahl. Die regelmäßige Entnahme von Zytologieproben, um eine Sekundärinfektion auszuschließen oder zu bestätigen und anschließend zu behandeln, ist bei der Betreuung eines Allergie-Patienten essenziell.

### **Abbildungsverzeichnis**

Abbildungen 1 bis 3: 10-jährige Mischlingshündin mit caniner atopischer Dermatitis. Erstvorstellung mit hochgradiger Malassezien-Dermatitis & bilateraler gemischter Otitis externa im chronischen Stadium.

**Abbildung 1:** Alopezie, Hyperpigmentierung und Lichenifizierung von Gesicht einschließlich Ohren und Pfoten. Stellenweise Alopezie am ventralen Thorax.



**Abbildung 2:** Alopezie, Hyperpigmentierung und Lichenifizierung des Abdomens, der Inguinalgegend und medialen Seite der Extremitäten einschließlich der Pfoten.

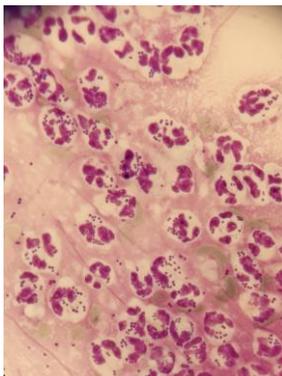


**Abbildung 3:** Alopezie, Hyperpigmentierung und Lichenifizierung der äußeren Pinnae.



Abbildungen 4 und 5

**Abbildung 4:** Mikroskopische Untersuchung eines Abklatsch-Präparates der Haut, 100-fache Vergrößerung mit Öl. Neutrophile Granulozyten mit intra- und extrazellulären Kokken.



**Abbildung 5:** Mikroskopische Untersuchung eines Abklatsch-Präparates der Haut, 100-fache Vergrößerung mit Öl. Malassezien.

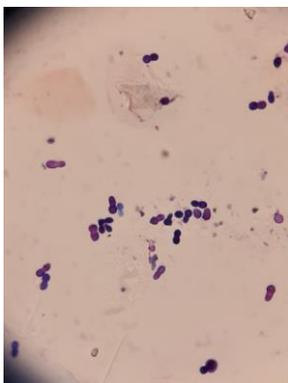
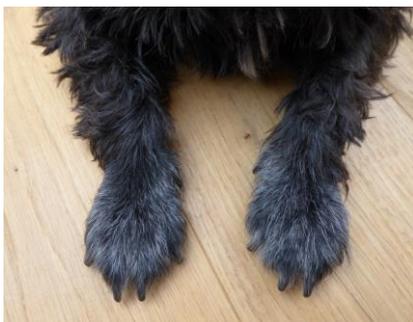


Abbildung 6**Abbildung 6:** Intrakutantest.Abbildungen 7 bis 10

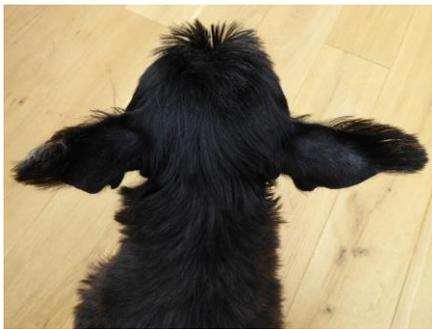
10-jährige Mischlingshündin mit caniner atopischer Dermatitis nach 5-wöchiger Behandlung mit Malaseb-Shampoo, Canesten-Creme, Allerderm-Fettsäuren, Ohrreiniger und Ohrentropfen. Oclacitinib wurde 12 Tage vor Erstvorstellung vom Haustierarzt begonnen und beibehalten. Nach 3 Wochen topischer Therapie konnte das Oclacitinib auf jeden 2. Tag reduziert werden.

**Abbildung 7:** Seitliche Ansicht von Kopf- und Halsbereich. Sichtbar nachgewachsenes Fell.**Abbildung 8:** Vorderpfoten mit nachgewachsenem Fell.

**Abbildung 9:** Medialer Bereich der hinteren Extremitäten und Hinterpfoten mit nachgewachsenem Fell. Abdominal nur noch ggr hyperpigmentiert und ggr lichenifiziert.



**Abbildung 10:** Äußere Pinnae mit nachwachsendem Fell.



**Literaturverzeichnis**

- Agler CS, Friedenbergs S, Olivry T, Meurs KM, Olby N. Genome-wide association analysis in West Highland White Terriers with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2019; 209: 1-6.
- Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Vet Immunol Immunopathol* 2012; 145: 582-9.
- Bizikova P, Pucheu-Haston CM, Eisenschenk MNC, Marsella R, Nuttall T, Santoro D. Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015a; 26: 95-e26.
- Bizikova P, Santoro D, Marsella R, Nuttall T, Eisenschenk MNC, Pucheu-Haston CM. Clinical and histological manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015b; 26: 79-e24.
- 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.
- 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.
- Chaudhary SK, Singh SK, Kumari P, Kanwal S, Soman SP, Choudhury S, Garg SK. Alterations in circulating concentrations of IL-17, IL-31 and total IgE in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2019; 30: 383-e114.
- Chermprapai S, Broere F, Gooris G, Schlotter YM, Rutten VPMG, Bouwstra JA. Altered lipid properties of the stratum corneum in Canine Atopic Dermatitis. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 2018; 1860: 526-33.
- Chervet L, Galichet A, McLean WHI, Chen H, Suter MM, Roosje PJ, Müller EJ. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2010; 19: e343-e6.
- Clear V, Petersen A, Rosser EJ, Ruggiero V. Investigation of the effects of 30 day administration of oclacitinib (Apoquel) on intradermal and allergen-specific IgE serology testing in atopic dogs. NAVDF proc, Nashville, TN 2015: 32.
- Combarros D, Cadiegues MC, Simon M. Update on canine filaggrin: a review. *Vet Q* 2020; 40: 162-8.

- DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 271-6.
- Elias PM. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J Invest Dermatol* 1983; 80
- Elias PM, Hatano Y, Williams ML. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1337-43.
- 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.
- Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JLN, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεRIα-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 93: 51-60.
- Furiani N, Scarpella F, Anna Martino P, Panzini I, Fabbri E, Ordeix L. Evaluation of the bacterial microflora of the conjunctival sac of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 22: 490-6.
- Gedon NKY, Mueller RS. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy* 2018; 8: 41.
- Gedon NKY, Boehm TMSA, 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.
- 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.
- Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 3: 207-8.
- Harvey ND, Shaw SC, Craighan PJ, Blott SC, England GCW. Environmental risk factors for canine atopic dermatitis: a retrospective large-scale study in Labrador and golden retrievers. *Vet Dermatol* 2019; 30: 396-e119.
- Hensel P. Differences in allergy skin testing among dermatologists within the same geographical region in the USA. *Vet Dermatol* 2012; 23
- Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill PB, Griffin C. Canine atopic dermatitis:

- detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res* 2015; 11: 196.
- 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.
- Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 289-304.
- Hobi S, Mueller RS. Efficacy and safety of rush immunotherapy with alumprecipitated allergens in canine atopic dermatitis. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2014; 42: 162-73.
- Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W, Altmann F. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy* 2013; 68: 1269-77.
- 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.
- Hubbard TL, White PD. Comparison of subjective and objective intradermal allergy test scoring methods in dogs with atopic dermatitis. *Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 399-405.
- 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.
- 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.
- Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Di Felice G, Pini C. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1005-11.
- Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Imm* 2002; 129: 286-95.
- Marsella R, Papastavros V, Ahrens K, Santoro D. Decreased expression of caspase-

- 14 in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Vet J* 2016; 209: 201-3.
- Mazrier H, Vogelnest LJ, Thomson PC, Taylor RM, Williamson P. Canine atopic dermatitis: breed risk in Australia and evidence for a susceptible clade. *Vet Dermatol* 2016; 27: 167-e42.
- 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* 2016; 27: 505-e136.
- Mueller RS, Bergvall K, Bensignor E, Bond R. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. *Vet Dermatol* 2012; 23: 330-e62.
- 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, Unterer S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet J* 2018; 236: 89-95.
- Mueller RS. Update on allergen immunotherapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2019; 49: 1-7.
- 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.
- Nishifuji K, Yoon JS. The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. *Vet Dermatol* 2013; 24: 60-e16.
- Nuttall TJ, Marsella R, Rosenbaum MR, Gonzales AJ, Fadok VA. Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2019; 254: 1291-300.
- Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol* 2010; 160: 1-9.
- 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, Saridomichelakis M. Evidence-based guidelines for anti-allergic drug withdrawal times before allergen-specific intradermal and IgE serological

- tests in dogs. *Vet Dermatol* 2013; 24: 225-e49.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res* 2015a; 11: 1-15.
- Olivry T, Mueller RS, Prélaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Vet Res* 2015b; 11: 1-3.
- 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: 1-5.
- Olivry T, Mueller RS. Critically Appraised Topic on Adverse Food Reactions of Companion Animals (8): Storage Mites in Commercial Pet foods. *BMC Vet Res* 2019; 15: 385.
- Pali-Schöll I, De Lucia M, Jackson H, Janda J, Mueller RS, Jensen-Jarolim E. Comparing immediate-type food allergy in humans and companion animals—revealing unmet needs. *Allergy Clin Immunol* 2017; 72: 1643-56.
- Park SJ, Ohya F, Yamashita K, Nishifuji K, Iwasaki TJ. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 983-8.
- Piccione ML, DeBoer DJ. Serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in healthy and atopic dogs. *Vet Dermatol* 2019; 30: 507-e153.
- Picco F, Zini E, Nett C, Naegeli C, Bigler B, Rüfenacht S, Roosje P, Gutzwiller MER, Wilhelm S, Pfister J. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Vet Dermatol* 2008; 19: 150-5.
- Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Marsella R, Santoro D, Nuttall T, Eisenschenk MNC. Lymphocytes, cytokines, chemokines and the T-helper 1–T-helper 2 balance in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 124-e32.
- 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.
- Ramos SJ, Woodward M, Hoppers SM, Liu CC, Pucheu-Haston CM, Mitchell MS. Residual antibacterial activity of canine hair treated with five mousse

- products against *Staphylococcus pseudintermedius* in vitro. *Vet Dermatol* 2019; 30: 183-e57.
- 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: 32-8.
- Saevik BK, Bergvall K, Holm BR, Saijonmaa-Koulumies LE, Hedhammar Å, 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.
- Santoro D, Marsella R, Pucheu-Haston CM, Eisenschenk MNC, Nuttall T, Bizikova P. 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.
- Schamber P, Schwab-Richards R, Bauersachs S, Mueller RS. Gene expression in the skin of dogs sensitized to the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. *G3 (Bethesda)* 2014; 4: 1787-95.
- Shaw SC, Wood JLN, Freeman J, Littlewood JD, Hannant D. Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *Am J Vet Res* 2004; 65: 1014-20.
- 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.
- Souza CP, Rosychuk RAW, Contreras ET, Schissler JR, Simpson AC. A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Vet Dermatol* 2018; 29: 489-e164.
- Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259.
- van der Veen MJ, van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM, van der Zee JSJ. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 327-34.
- Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens GPJ. Food allergy in dogs and cats: a

review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2006; 46: 259-73.

Wagner I, Geh KJ, Hubert M, Winter G, Weber K, Classen J, Klinger C, Mueller RS. Preliminary evaluation of cytosine-phosphate-guanine oligodeoxynucleotides bound to gelatine nanoparticles as immunotherapy for canine atopic dermatitis. *Vet Rec* 2017: vetrec-2016-104230.

Wilhem S, Kovalik M, Favrot C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 22: 143-9.

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.

Wolf R, Wolf D. Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2012; 30: 329-34.

Yoon JS, Nishifuji K, Sasaki A, Ide K, Ishikawa J, Yoshihara T, Iwasaki T. Alteration of stratum corneum ceramide profiles in spontaneous canine model of atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2011; 20: 732-6.



### III. PUBLIKATION 2: STUDIE 1

#### **Cross-reactive carbohydrate determinants in atopic and healthy dogs and their influence on allergy test specificity**

**Bettina Kasper**<sup>1</sup>

**Teresa Boehm**<sup>1</sup>, Dr. med. vet., Dipl. ECVD (Dermatology), Dipl. ACVD (Dermatology)

**Nadine Wittenstein**<sup>2</sup>, Dr. med. vet.

**Ralf S. Mueller**<sup>1</sup>, Prof. Dr. med. vet., Dipl. ECVD (Dermatology), Dipl. ACVD (Dermatology), Fellow Australian and New Zealand College of Veterinary Scientists (Dermatology), Fachtierarzt für Kleintierdermatologie (Deutschland)

<sup>1</sup> Centre of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstr. 13, Munich 80539, Germany

<sup>2</sup> Tierklinik Germering, Industriestr. 6, 82110 Germering, Germany

Present address: Teresa Boehm, Tierklinik Stuttgart Plieningen, Hermann-Fein-Str. 15, 70599 Stuttgart-Plieningen, Germany; Nadine Wittenstein, Filu Tierarztpraxis, Paul-Heyse-Str. 28, 80336 Munich, Germany

**Veterinary Record**, veröffentlicht

*Vet Rec.* 2023; e3308; doi: <https://doi.org/10.1002/vetr.3308>

Received: 9 March 2023 | Revised: 1 July 2023 | Accepted: 7 July 2023

DOI: 10.1002/vetr.3308

**VetRecord**

ORIGINAL RESEARCH

## Cross-reactive carbohydrate determinants in atopic and healthy dogs and their influence on allergy test specificity

Bettina Kasper<sup>1</sup>  | Teresa Boehm<sup>1</sup> | Nadine Wittenstein<sup>2</sup> | Ralf S. Mueller<sup>1</sup> <sup>1</sup>Center of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Munich, Germany<sup>2</sup>Tierklinik Germering, Germering, Germany**Correspondence**Ralf Mueller, Centre of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstr. 13, Munich 80539, Germany.  
Email:  
R.Mueller@medizinische-kleintierklinik.de**Present address**Teresa Boehm, Tierklinik Stuttgart  
Plieningen, Hermann-Fein-Str. 15, 70599,  
Stuttgart-Plieningen, Germany  
Nadine Wittenstein, filu Tierarztpraxis,  
Munich, Germany**Abstract****Background:** The selection of allergens for immunotherapy in atopic dogs is often based on serum allergy testing. Cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) are common structures in plant and insect allergens that reportedly induce polysensitisation, reduce agreement between intradermal and serum tests and complicate allergen selection.**Methods:** Thirty-four dogs with diagnosed atopic dermatitis and 10 healthy dogs were included in the study. An intradermal test was conducted in atopic dogs, and serum samples from allergic and healthy dogs were analysed for allergen-specific immunoglobulin E (IgE) before and after inhibition of detectable anti-CCD-IgE antibodies.**Results:** Anti-CCD-IgE antibodies were not found in any of the healthy dogs and no polysensitisation to plant and insect allergens was detected. The agreement between intradermal and serum allergy test results in the atopic dogs with anti-CCD-IgE antibodies improved from slight to fair after blocking the anti-CCD-IgE antibodies. In addition, blocking clearly reduced polysensitisation to plant allergens but not to acarid allergens.**Limitations:** Only a limited number of healthy dogs were tested in this study. A gold standard for determining the clinical relevance of IgE sensitisation does not exist.**Conclusion:** Inhibition of anti-CCD-IgE antibodies seems to be of importance to improve serum test specificity for allergen-specific IgE in atopic dogs in relation to intradermal allergy testing.

### INTRODUCTION

Atopic dermatitis (AD) caused by environmental allergens is a common skin disease in small animal practice.<sup>1,2</sup> Once the diagnosis of canine AD is confirmed, treatment can be either symptomatic or causal. The only option for causative therapy is allergen-specific immunotherapy (AIT).<sup>3–5</sup> Appropriate allergens for AIT are selected based on history and skin or serum testing for allergen-specific immunoglobulin E (IgE).<sup>6</sup> Serum-based IgE testing is widely used, but a challenging problem arises when the positive test reactions do not correlate with the patient's history.<sup>7</sup> The low specificity and sensitivity of in vitro IgE tests in relation to clinical relevance are recognised worldwide,<sup>6,8</sup> as is the fact that serum test results are often inconsistent with those of intradermal testing.<sup>9</sup> These discrepancies may be partly explained by the presence of cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs).

CCDs are carbohydrate components of glycoproteins commonly found on the cell surface of different plants and insects, such as  $\beta$ -1,2-xylose or  $\alpha$ -1,3-fucose bound to asparagine moieties of a protein. These specific N-glycans do not occur in mammals and form common antigenic epitopes. Consequently, polysensitisation is induced in some patients.<sup>10–13</sup>

In human medicine, anti-CCD-IgE antibodies typically do not cause clinical reactions but lead to false-positive results in serum allergy tests.<sup>14–18</sup> One possible explanation for their clinical irrelevance is their monovalent character, which does not enable cross-linking of IgE on mast cells with subsequent degranulation.<sup>13,19,20</sup>

Little is established about the role of CCDs in dogs<sup>7,21–25</sup> and cats.<sup>23,26</sup> Recently, anti-CCD-IgE antibodies were detected in 17%–39% of atopic dogs,<sup>7,21,22</sup> and in 13% of healthy dogs.<sup>7</sup> Blocking anti-CCD-IgE in the serum of atopic dogs resulted in a reduction of the multiple positive pollen test results.<sup>22–25</sup> Two

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

© 2023 The Authors. *Veterinary Record* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of British Veterinary Association.

recent studies in veterinary medicine looked at the agreement between skin and serum tests before and after inhibition of anti-CCD-IgE antibodies in sera from atopic dogs.<sup>22,25</sup> In the first study, blocking of anti-CCD-IgE prior to serum testing clearly improved the correlation between skin and serum results.<sup>22</sup> In contrast, another study with a larger number of cases using a different serum IgE test and different anti-CCD-IgE-blockers could not detect any improvement in the correlation between testing procedures before and after blocking IgE antibodies specific for CCDs.<sup>25</sup>

The main purpose of this study was to evaluate the agreement between intradermal and serum IgE test results in atopic dogs before and after blocking IgE directed against CCDs using a third serum test and blocking agent known as NEXT+ (Nextmune AB). This second-generation blocker is composed of a purified CCD linked to human serum albumin for stabilisation. The secondary aim was to find out whether polysensitisation to plant and insect allergens in CCD-positive sera from AD dogs is reduced by inhibition. In addition, normal dog sera were also evaluated for anti-CCD-IgE.

## MATERIALS AND METHODS

This prospective and blinded study was approved by the Ethics Committee of the University of Munich, part 1 (atopic dogs) under the number 204-04-03-2020 and part 2 (normal dogs) under the number 257-26-02-2021. The study protocol was completed before data collection started. Owners were informed about and consented to the study prior to inclusion. Patients meeting the study criteria were enrolled and samples were obtained and tested in the Dermatological Departments of the Center of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich and the Veterinary Clinic in Germering from February 2020 to August 2021. Thirty-four dogs with diagnosed AD and 10 healthy dogs without a history of allergic disease were included in the study.

### Study subjects

The diagnosis of patients with AD associated with environmental allergens was based on a combination of history, clinical presentation and exclusion of other differential diagnoses, such as flea bite sensitivity, food-induced AD, ectoparasite infestation and/or secondary infection. Most of the differential diagnoses were ruled out by simple diagnostic tests and methods, including flea control, skin scrapings, cytology and/or trichograms. Food-induced AD was determined by following a strict elimination diet for 6–8 weeks, which was either home-cooked (consisting of ingredients the patient had never been exposed to before) or a commercially available diet containing fully hydrolysed proteins (such as Anallergenic, Royal Canin or z/d, Hill's). If a complete resolution of symptoms was achieved in this food trial, provocation

by the previous food either confirmed or ruled out the diagnosis of food-induced AD. If partial improvement was observed with the implemented dietary change and subsequent provocation with the previously fed diet again resulted in partial deterioration, AD caused by food as well as environmental allergens was diagnosed.<sup>6</sup> To rule out an influence of drugs on the test results, injectable glucocorticoids were withdrawn 6 weeks prior to testing. Oral glucocorticoids and ciclosporin had to be discontinued for 4 weeks, and oclacitinib and antihistamines had to be discontinued for 2 weeks. Topical glucocorticoids were discontinued 1 week before the appointment. To obtain additional relevant information, a detailed questionnaire was completed by the owners. Along with signalment, it included questions about age of onset, presence of concomitant food-induced AD, seasonality of clinical signs, last given medication and pruritus at the time of testing measured on a validated pruritus visual analogue scale (pVAS).<sup>27,28</sup> The authors decided to use a case-by-case approach for minor variations in medication use previously excluded because of symptom onset.

Healthy dogs were at least 12 months of age. They had no historical evidence of skin disease and showed no pathologic findings on physical examination.

### Intradermal testing

Intradermal testing was performed exclusively on the atopic dogs. A total of 41 allergens from Nextmune B.V. were injected intradermally into the skin of the atopic patients. The concentrations depended on the individual allergen groups: 200 Noon Units (NU) for pollens, 100 NU for mites, 10 µg/mL for moulds, 1000 NU/mL for fleas and 100 µg/mL for *Malassezia*. Histamine phosphate at a dilution of 1:10,000 served as a positive control, and the diluent, phosphate-buffered saline with 0.47% phenol, was used as a negative control. If required, the dogs were sedated intravenously with dexmedetomidine (Sedadex, Dechra) before the intradermal test, and the dosage ranged from 3 to 8 µg/kg. The intradermal reactivity was evaluated subjectively from 0 (no reaction) to 4 (strong reaction) after 15 and 25 minutes based on erythema, wheal size, turgidity and borders of each reaction site, as previously reported.<sup>6,29</sup> Rarely, intermediate values were assigned, such as 2–3 or 3–4. In these cases, the mean value was taken in order to reflect the evaluation truthfully. Values greater than or equal to 2 in at least one of the readings were considered as positive.

### Serum testing

Immediately before the intradermal test in the atopic dogs was performed, 5–10 mL of whole blood was drawn by venipuncture from all dogs with AD and centrifuged. Serum samples from healthy dogs were obtained using surplus blood from health screening consultations. The serum was submitted to Nextmune,

and a serum test was performed at their laboratory in triplicates to detect specific IgE antibodies against CCDs as a first step and, if the three values obtained for the CCD-coated wells were positive, in duplicates against 34 individual allergens.

Samples positive for specific IgE against CCDs were analysed with and without blocking of anti-CCD-IgE, which was achieved by incubating serum with the CCD-blocker for 1 hour at room temperature before further testing. Samples without specific IgE against CCDs were tested without blocking anti-CCD-IgE, since no significant differences have been observed so far for negative samples after blocking in the quality control department of Nextmune.

Dog sera were diluted one-sixth in dilution buffer, regardless of whether they had been blocked with CCD-blocker before, and added to 96-well plates containing the coated allergens. After an overnight incubation at 4°C, plates were washed four times with washing buffer and a dog-specific anti-IgE monoclonal antibody labelled with alkaline phosphatase (targeting the CH<sub>4</sub> domain of dog IgE) was added and incubated for 2 hours. Afterwards, plates were washed again six times, and p-nitrophenyl phosphate substrate (Moss) was added and incubated for 30 minutes. The reaction was stopped with 1 N NaOH and absorbances were read at 405 nm using a spectrophotometer. Throughout the study duration, minor adjustments to improve specificity were included in the NEXT+ assay, although results underwent data curation to ensure consistency over time.

All results were expressed in arbitrary ELISA absorbance units (EAUs) after applying a multiplying factor of 1000. A dog IgE standard curve was included for internal control to assess the interassay reproducibility. Samples were tested in duplicates whenever the sample volume allowed it, and duplicate extracts in different plates were included for each sample. A positive control pool for CCDs with known values (pooled sera known to contain anti-CCD-IgE), negative controls (results below our threshold values) and background controls (coated wells without serum but with buffers and all subsequent reagents) were also included. Two thresholds for serum evaluation were used: 200 and 250 EAU. Values between 200 and 250 EAU are considered inconclusive, while values greater than 250 EAU are classified as positive reactions by the laboratory. The agreement between different test procedures was calculated for both thresholds before and after inhibition of anti-CCD-IgEs.

### Allergen selection

Immune responses to 20 allergen extracts tested in both the intradermal and serum tests were investigated. A list of those allergens, including the number of dogs with positive test results for each allergen, is provided in Table 1. Allergenic extracts used for the intradermal testing and those used in the serological test NEXT+ were supplied by the same company (Nextmune). However, not all allergens necessarily

originated from the same manufacturer, even when referring to the same allergen. The availability of lyophilised extracts is limited, and thus, the acquisition from different manufacturers was unavoidable. The reason for some discrepancies between the two testing procedures is that requirements for extracts used for intradermal testing are different to those for extracts used for serological testing, as phenol content and glycerol must be avoided for serological testing.

### Data accessibility

Blinding of the data was ensured by delaying the analysis of the study results until after data collection was completed. Nextmune did not have access to clinical information, including the results of the intradermal tests, until the completion of the first draft of the manuscript. The serum test results were retained by the study coordinator until the end of data collection.

### Statistical analysis

The results of serum and intradermal tests were compared for each allergen, and the agreement was evaluated with Cohen's kappa test. The values were interpreted as follows: less than 0, no agreement; 0–0.20, slight agreement; 0.21–0.40, fair agreement; 0.41–0.60, moderate agreement; 0.61–0.80, substantial agreement; and 0.81–1, almost perfect agreement.<sup>30</sup>

To assess the influence of inhibition of anti-CCD-IgE antibodies, a two-tailed Fisher's exact test was used to compare all serum reactions before and after inhibition of anti-CCD-IgEs. The two-tailed Fisher's exact test was also used to compare the number of polysensitised dogs before and after inhibition of anti-CCD-IgE antibodies. The significance level was set at a *p*-value of less than 0.05. The statistical analysis was conducted using GraphPad Prism software (GraphPad Prism 6.0, GraphPad Software).

Similar to the two previously published studies, polysensitisation was defined as the majority of reactions within an allergen subgroup being positive, that is, a minimum of three out of four grasses, three out of five mites or four out of six weeds.<sup>22,25</sup> The number of allergens in the subgroups 'moulds' and 'others' were too small to be evaluated in this fashion.

## RESULTS

### Study objects

The age and sex of the included dogs are shown in Table 2. The atopic dogs first displayed allergic symptoms at an average age of 1.6 years (range from 0 to 7 years), and 14 of them were additionally diagnosed with food-based AD. On the day of testing, the mean pVAS score was 6.1 (range from 0 to 10). A single dog had a pVAS score of 0 because of treatment

**TABLE 1** Number and percentage of positive test results<sup>a</sup> to allergens evaluated by intradermal test (IDT) and serum allergy test (SAT)

	IDT (n = 34)	SAT		
		CCD negative (n = 17)	CCD positive (n = 17) Non-blocked      Blocked	
<b>Grasses</b>				
<i>Dactylis glomerata</i> (Orchard grass)	13 (38%)	2 (12%)	9 (53%)      5 (29%)	
<i>Lolium perenne</i> (Perennial ryegrass)	13 (38%)	1 (6%)	9 (53%)      1 (6%)	
<i>Cynodon dactylon</i> (Bermuda grass)	6 (18%)	5 (29%)	12 (71%)      7 (41%)	
<i>Poa pratensis</i> (Kentucky bluegrass)	9 (26%)	3 (18%)	14 (82%)      6 (35%)	
<b>Weeds</b>				
<i>Chenopodium album</i> (White goosefoot)	10 (29%)	0	5 (29%)      1 (6%)	
<i>Ambrosia elatior</i> (Common ragweed)	8 (24%)	0	5 (29%)      6 (35%)	
<i>Rumex acetosella</i> (Red sorrel/field sorrel)	4 (12%)	0	7 (41%)      2 (12%)	
<i>Artemisia vulgaris</i> (Mugwort)	4 (12%)	1 (6%)	5 (29%)      0	
<i>Plantago lanceolata</i> (Ribwort plantain)	13 (38%)	1 (6%)	5 (29%)      2 (12%)	
<i>Brassica napus</i> (Oilseed rape)	9 (26%)	1 (6%)	9 (53%)      3 (18%)	
<b>Mites</b>				
<i>Dermatophagoides farinae</i> (House dust mite)	29 (85%)	8 (47%)	11 (65%)      11 (65%)	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (House dust mite)	18 (53%)	3 (18%)	8 (47%)      8 (47%)	
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Mould mite)	31 (91%)	1 (6%)	12 (71%)      10 (59%)	
<i>Lepidoglyphus destructor</i> (Storage mite)	25 (74%)	1 (6%)	3 (18%)      3 (18%)	
<i>Acarus siro</i> (Flour mite)	28 (82%)	4 (24%)	7 (41%)      9 (53%)	
<b>Moulds</b>				
<i>Alternaria alternata</i>	5 (15%)	4 (24%)	2 (12%)      3 (18%)	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5 (15%)	2 (12%)	4 (24%)      4 (24%)	
<i>Cladosporium herbarum</i>	2 (6%)	3 (18%)	5 (29%)      5 (29%)	
<b>Others</b>				
<i>Malassezia</i>	8 (24%)	2 (12%)	3 (18%)      1 (6%)	
<i>Ctenocephalides</i> spp. (Flea)	3 (9%)	2 (12%)	9 (53%)      7 (41%)	

Abbreviation: CCD, cross-reactive carbohydrate determinant.  
<sup>a</sup>IDT values ≥2 were considered positive. SAT values ≥250 EAU were considered positive.

**TABLE 2** Age and sex of the dogs included in the study

	AD (n = 34)	Healthy (n = 10)
<b>Sex</b>		
Female	5	5
Female spayed	12	1
Male	10	1
Male castrated	7	3
<b>Age at time of test (years)</b>		
Mean	4.1	7.4
Range	1–11	2–12

Abbreviation: AD, atopic dermatitis.

with lokivetmab. Three of the atopic dogs received medication based on allergy flare-ups that had been previously excluded. One patient received oclacitinib 3 weeks prior to testing, another owner discontinued oclacitinib for only 3 days after 2.5 months of use and treated one small, circumscribed wound on each of his dog's front paws with cortisone ointment 3 days before testing, and the last dog was given a combination of glucocorticoids and anti-

otics locally in the ears 5 days prior to testing due to acute otitis externa. After discussion with the owners, it was decided that an intradermal test would be performed to evaluate skin test reactivity. With strong positive reactions, a serum test would also be evaluated, and if both tests showed strong positive reactions, results would be considered interpretable. As all three dogs exhibited strong test reactions, the authors decided to include these patients despite the medication.

### Prevalence of anti-CCD-IgE antibodies

Anti-CCD-IgE antibodies were detected in 17 of the 34 atopic dog sera (50%). There were no differences in the seasonality of clinical signs between the groups with and without antibodies against CCDs (Fisher's exact test,  $p > 0.999$ ). Five of the participating patient owners could not report on the seasonality as their dogs were too young and/or the duration of the disease was less than 1 year.

None of the 10 healthy dog sera showed any specific anti-CCD-IgE antibodies, so all subsequent analyses

**TABLE 3** Cohen's kappa agreement<sup>a</sup> for intradermal and corresponding serum test results

CCD negative	0.08
CCD positive non-blocked	0.15
CCD positive blocked	0.25

Note: Data are shown for serum threshold of 250 EAU.

Abbreviation: CCD, cross-reactive carbohydrate determinant.

<sup>a</sup>Values <0 indicate no agreement, 0–0.20 slight, 0.21–0.40 fair, 0.41–0.60 moderate, 0.61–0.80 substantial and 0.81–1 almost perfect agreement.

were only performed with the results from the atopic dogs.

### Agreement between test procedures

The agreements between the different test procedures for both serum thresholds (200 and 250 EAU) were very similar; hence, only the results for the serum threshold of 250 EAU are presented (the data for the threshold of 200 EAU are shown in Tables S1 and S2).

A total of 680 reactions were investigated in both the intradermal and serum tests in atopic dogs. All Cohen's kappa values are summarised in Table 3. Overall, the agreement between the two procedures was slight. Blocking the anti-CCD-IgE antibodies increased the agreement from slight to fair.

The agreement between the intradermal test and all three variants of the serum allergy test (CCD negative, CCD positive with and without inhibition of anti-CCD-IgE antibodies) is illustrated in Table 4 with each of the four possible outcomes. In the dogs with anti-CCD antibodies, there was a significantly higher number of concordant results after blocking those antibodies compared to before blocking them (Fisher's exact test,  $p = 0.031$ ).

To evaluate the degree of change in serum test results after blocking CCD-positive dog sera, a total of 578 reactions to 34 allergens were available. The number of positive reactions before blocking anti-CCD-IgE was significantly higher than the number of positive reactions after blocking those antibodies in the group of grass pollens, tree pollens and weed pollens (two-tailed Fisher's exact test,  $p < 0.0001$  for each comparison). There was no significant difference for the group of mite allergens (two-tailed Fisher's exact test,  $p = 1.0$ ).

### Polysensitisation in dogs with AD and healthy dogs

Serum samples from healthy (200 reactions) and atopic dogs (680 reactions) were assessed for polysensitisation. Among the healthy dogs, there were no multiple positives in the groups of grass, weed and mite allergens. The polysensitisation detected in serum allergy tests of atopic dogs is presented in Table 5. In the atopic dogs without anti-CCD-IgE antibodies, the proportion of dogs that were polysensitised ranged from none to 12% between allergen

groups. In the atopic dogs with non-inhibited anti-CCD-IgEs, numerous multiple positive test reactions were present. Inhibition of anti-CCD-IgE antibodies significantly reduced polysensitisation for grasses (two-tailed Fisher's exact test,  $p = 0.0014$ ) but not for weeds (two-tailed Fisher's exact test,  $p = 0.102$ ) and mites (two-tailed Fisher's exact test,  $p > 0.999$ ).

### DISCUSSION

In this study, blocking the anti-CCD-IgE antibodies of dogs with AD increased the correlation of the intradermal test results with the results of allergen-specific IgE testing from slight to fair. Polysensitisation seen on serum IgE testing decreased significantly with blocking of those antibodies. Healthy control dogs did not show any anti-CCD-IgE antibodies or polysensitisation.

The prevalence of atopic dogs with anti-CCD-IgE antibodies in our study mirrors data from human medicine, where a prevalence of 18–71% was reported in allergic patients.<sup>17,18,31,32</sup> In veterinary medicine, a prevalence of 17–39% has been reported for atopic dogs,<sup>7,21,22</sup> with a single abstract reporting a prevalence of 73%.<sup>33</sup> There is only one study to date that detected specific IgE antibodies to CCDs in healthy dogs (present in 13% of the population tested).<sup>7</sup> In contrast, we could not identify anti-CCD-IgE antibodies in the 10 healthy dogs included in our study. The prevalence range reported may be due to patient selection, different geographical locations with different genetic backgrounds of the patients or differences in methodology. In addition, it is possible that there is no significant difference at all between the results of all those studies, supported by the fact that the 95% confidence intervals for the studies overlap. Another explanation could be that healthy dogs do not form antibodies against CCD structures and that the study identifying apparently healthy subjects with anti-CCD-IgE antibodies involved dogs that were in fact in an early, subclinical stage of AD. Further longitudinal investigations are needed to elucidate this.

This study confirmed that marked polysensitisation was present in sera from atopic dogs with anti-CCD-IgE antibodies compared to dogs without those antibodies and that those multiple positive test results were significantly reduced by inhibition of the anti-CCD-IgE antibodies. This reduction was particularly evident in the allergen subgroup of grasses and weeds—although the maximum reduction from four to zero dogs polysensitised to weeds was not sufficient for statistical significance, in contrast to grasses—and not so prominent with mites, as reported in previous veterinary<sup>22–25</sup> and human studies.<sup>17</sup> Arthropods contain no to a few CCDs,<sup>16,31</sup> in contrast to grasses and weeds, which carry more carbohydrate structures leading to the formation of anti-CCD-IgE antibodies.<sup>34</sup> Polysensitisation was rarely seen on intradermal testing, most likely due to the monovalent structure of the anti-CCD-IgE antibodies, which prevents cross-linking and thus degranulation of the mast cells, which

**TABLE 4** Agreements between the intradermal test (IDT) and the serum allergy test (SAT) for allergens evaluated in atopic dogs

	Positive disagreement (SAT positive, IDT negative)	Negative disagreement (SAT negative, IDT positive)	Positive agreement (both tests positive)	Negative agreement (both tests negative)
CCD negative	22 (6%)	105 (31%)	22 (6%)	191 (56%)
CCD positive non-blocked	83 (24%)	55 (16%)	61 (18%)	141 (41%)
CCD positive blocked	44 (13%)	66 (19%)	50 (15%)	180 (53%)

Note: Data are shown for serum threshold of 250 EAU.

Abbreviation: CCD, cross-reactive carbohydrate determinant.

**TABLE 5** Polysensitisation<sup>a</sup> in serum allergy tests of atopic dogs

	CCD negative (n = 17)	CCD positive (n = 17)	
		Non-blocked	Blocked
Grasses	1 (6%)	11 (65%)	2 (12%)
Weeds	0	4 (24%)	0
Mites	2 (12%)	9 (53%)	8 (47%)
No. of dogs <sup>b</sup>	2 (12%)	13 (76%)	9 (53%)

Note: Data are shown for the threshold of 250 EAU.

Abbreviation: CCD, cross-reactive carbohydrate determinant.

<sup>a</sup>If the majority of reactions within an allergen subgroup were positive (at least three of four grasses, three of five mites or four of six weeds), the dog was considered as polysensitised.

<sup>b</sup>Number of dogs with polysensitisation in at least one allergen group.

is also a reason for the presumed clinical irrelevance of those antibodies.<sup>13,19,20,35</sup> The exception are the IgE antibodies directed against  $\alpha$ -1,3-galactose (alpha-Gal) contained in red meat, which have been reported to cause severe allergic reactions in some human patients.<sup>18,36,37</sup> As a self-antigen of the dog, alpha-Gal does not normally induce an immune response in this species (in contrast to primates).<sup>38</sup> Nevertheless, a more recent study has demonstrated that IgG, IgM and IgE antibody production against alpha-Gal can be found in healthy dogs and can also be induced through sensitisation by tick bites.<sup>39</sup> However, further study is required to determine whether this is of clinical relevance in dogs.

Two previous studies compared the correlation between intradermal and serum testing before and after blocking anti-CCD-IgE antibodies in veterinary medicine with conflicting results.<sup>22,25</sup> One study was able to demonstrate an improvement in correlation after inhibiting the antibodies specific to CCDs,<sup>22</sup> as established in humans.<sup>17</sup> In contrast, another study with a larger number of participants did not show any difference.<sup>25</sup> In the present study, we investigated a third blocking procedure and showed an increase in correlation, but this was less pronounced than that seen in the previous study. The strength of this study compared to the publications mentioned above is that the allergens used for the intradermal and serum tests were both provided by the same company (Nextmune), which improves the comparability between the results of the test methods, even though not all allergens necessarily originated from the same manufacturer. Another explanation for the disparate results reported in the three studies evaluating the use of a blocking agent against anti-CCD-IgE is the

fact that each of them used a different blocking agent to inhibit reactions with anti-CCD-IgE. Whereas the Gedon et al.<sup>22</sup> study used a carbohydrate-blocker (proprietary product of Heska, specifically for veterinary use) composed of plant glycoproteins not derived from the allergen test field, the Canning et al.<sup>25</sup> study used a bromelain-CCD inhibitor (proprietary product of Stallergenes Greer) containing the carbohydrate components found in bromelain. In our study, we used the CCD-blocker NEXT+ (proprietary product of Nextmune), which is a semisynthetic blocker consisting of a purified CCD bound to human serum albumin for stabilisation. It seems likely that the efficacy of different blockers varies.<sup>17,18,34</sup> Additionally, methodological variations could also have affected the concordance between intradermal and serum allergy testing, as both German studies utilised a subjective scoring system to assess intradermal reactions, while the Americans referred to the global wheal score (composed of subjective and objective criteria). Different dog populations with different genetic backgrounds and different allergens used for intradermal testing may have further contributed to the difference between the American study and the two German studies.

The fact that, in dogs without anti-CCD-IgE antibodies, the serology is negative for 31% of allergens while the intradermal test is positive is very likely an effect of small numbers. The agreement between the negative intradermal and serum test reactions in our study was most pronounced. Inhibition of anti-CCD-IgE antibodies reduced positive serum test results inconsistent with intradermal testing by half, while negative serum results disagreeing with intradermal testing increased by only 3%, resulting in a decrease in the number of positive test results concordant in both tests. Whether anti-CCD-IgE antibodies are all 'false positives' and clinically irrelevant is still not clear. Even with their monovalent structure and inability to cause mast cell degranulation, a role in T-cell-mediated hypersensitivity reactions cannot be ruled out. Non-IgE-based immunological pathways may also play a role in canine AD.<sup>40</sup>

The measured responses in the allergen-specific IgE test were evaluated using two different thresholds (200 and 250 EAU) to see which of the two achieved better agreement with the intradermal testing. Overall, no difference in agreement was found between the two thresholds using Cohen's kappa scale. Polysensitisation was more frequent in atopic dogs in the lower threshold group, as expected, but inhibition of

anti-CCD-IgE antibodies equally reduced polysensitisation in both groups (Tables S1 and S2).

One limitation of the present study was that the number of healthy dogs was not large, and a larger number of healthy dogs would have possibly identified dogs with anti-CCD-IgE antibodies. Another restriction of this study was the participation of three atopic dogs that had received medication based on the onset of symptoms that had previously been excluded. Short-term use of oclacitinib does not seem to affect intradermal test activity. In one study, intradermal test activity was not significantly affected after 14 days of therapy in dogs experimentally sensitised to house dust mites.<sup>41</sup> All three dogs exhibited strong skin test reactions and each dog served as its own control in this study; consequently, the authors decided to include these patients despite the medication.

In conclusion, the present study confirmed that strong polysensitisation identified in serum allergen-specific IgE testing directed against pollen allergens in dogs with anti-CCD-IgE antibodies could be reduced by a blocking procedure, which increased the agreement between intradermal and serum allergy tests from slight to fair. This shows that inhibition of anti-CCD-IgEs in serological tests with suitable blocking agents is likely to improve test specificity and reliability.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Teresa Boehm made substantial contributions to the acquisition of data. Nadine Wittenstein made substantial contributions to the acquisition of data. Ralf Mueller made substantial contributions to the conception and design, analysis and interpretation of data and was involved in drafting the manuscript by revising it critically and giving final approval of the version to be published. Bettina Kasper made substantial contributions to the acquisition of data, analysis and interpretation of data and wrote the first draft of the manuscript.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Nextmune for providing the allergens for the intradermal test and Ana Mas and Joana Leite from Nextmune for analysing the serum samples free of charge. We would also like to thank Amelie von Voigts-Rhetz and Viviane Kinnula for their support in preparing the intradermal tests and all owners who agreed to let their dogs participate in this study.

Open access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

#### CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

Ralf Mueller acted as a consultant or received support for studies or lectures from Artuvet, Bayer Animal Health, Ceva Animal Health, Ecuphar, Elanco Animal Health, Greer Laboratories, Heska Laboratories, Hill's, Royal Canin, MSD Animal Health, Nextmune, Synlab, Virbac Animal Health and Zoetis. Bettina Kasper,

Teresa Boehm and Nadine Wittenstein did not report any conflicts of interest.

#### FUNDING INFORMATION

There are no funders to report for this submission.

#### DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that supports the findings of this study are available in the supplementary material of this article.

#### ETHICS STATEMENT

This prospective and blinded study was approved by the Ethics Committee of the University of Munich, part 1 (atopic dogs) under the number 204-04-03-2020 and part 2 (normal dogs) under the number 257-26-02-2021.

#### ORCID

Bettina Kasper  <https://orcid.org/0000-0002-2876-5529>

Ralf S. Mueller  <https://orcid.org/0000-0001-5835-5910>

#### REFERENCES

- Klinger CJ. Analyse des fallaufkommens in deutschen tierarztpraxen. Dissertation. LMU München: Faculty of Veterinary Medicine; 2016.
- Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:147–51.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res.* 2015;11:1–15.
- Saridomichelakis MN, Olivry T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J.* 2016;207:29–37.
- Marsella R. Atopic dermatitis in domestic animals: what our current understanding is and how this applies to clinical practice. *Vet Sci.* 2021;8:124.
- Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill PB, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015;11:196.
- Piccione ML, DeBoer DJ. Serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in healthy and atopic dogs. *Vet Dermatol.* 2019;30:507–e153.
- 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.* 2001;81:277–87.
- Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JLN, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεR1α-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;93:51–60.
- Faye L, Chrispeels MJ. Common antigenic determinants in the glycoproteins of plants, molluscs and insects. *Glycoconj J.* 1988;5:245–56.
- Laurière C, Laurière M, Sturm A, Faye L, Chrispeels MJ. Characterization of β-fructosidase: an extracellular glycoprotein of carrot cells. *Biochimie.* 1988;70:1483–91.
- Faye L, Gomord V, Fitchettelaine AC, Chrispeels MJ. Affinity purification of antibodies specific for Asn-linked glycans containing α1→3 fucose or β1→2 xylose. *Anal Biochem.* 1993;209:104–8.
- Jin C, Hantusch B, Hemmer W, Stadlmann J, Altmann F. Affinity of IgE and IgG against cross-reactive carbohydrate determinants on plant and insect glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:185–90.

14. van Derveen MJ, Van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM, et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100:327–34.
15. Van Ree R, Aalberse RC. Specific IgE without clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:1000–1.
16. Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Di Felice G, et al. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:1005–11.
17. Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W, et al. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy.* 2013;68:1269–77.
18. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int.* 2016;25:98–105.
19. Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes—classification, cross-reactivity, and clinical impact. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2005;37:122–8.
20. Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142:99–115.
21. 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.
22. Gedon NKY, Boehm TMSA, 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.
23. Lee KW, Mckinney BH, Blankenship KD, Morris DO. Detection and Inhibition of IgE for cross-reactive carbohydrate determinants evident in an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of allergen-specific IgE in the sera of dogs and cats. *Vet Dermatol.* 2020;31:439–e116.
24. Mohammaddavoodi A, Christian M, Müller E, Panakova L, Burgener I, Wagner R. Prevalence of immunoglobulin E against cross-reactive carbohydrate determinants and the impact of a blocker in canine sera. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere.* 2021;49(4):272–7.
25. Canning P, Brame B, Stefanovski D, Lee KW, Cain CL, Rook K, et al. Multivariable analysis of the influence of cross-reactive carbohydrate determinant inhibition and other factors on intradermal and serological allergen test results: a prospective, multicentre study. *Vet Dermatol.* 2021;32(4):347–e96.
26. Mohammaddavoodi A, Panakova L, Christian M, Burgener I, Müller E, Wagner R. Prevalence of immunoglobulin E against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) and impact of a blocker in seasonal allergy tests. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere.* 2020;48:404–9.
27. Hill PB, Lau P, Rybníček J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol.* 2007;18:301–8.
28. Rybníček J, Lau-Pillard PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol.* 2009;20:115–22.
29. Hubbard TL, White PD. Comparison of subjective and objective intradermal allergy test scoring methods in dogs with atopic dermatitis. *Am Anim Hosp Assoc.* 2011;47:399–405.
30. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33:159–74.
31. Vidal C, Sanmartín C, Armisen M, Rodríguez V, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Minor interference of cross-reactive carbohydrates with the diagnosis of respiratory allergy in standard clinical conditions. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;157:176–85.
32. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy.* 2004;34:137–44.
33. Bexley JT, Kingswell NJ, Halliwell REW. Inhibition of canine serum IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants in environmental allergens. *Vet Dermatol.* 2018;29:357.
34. Yokoi H, Yoshitake H, Matsumoto Y, Kawada M, Takato Y, Shinagawa K, et al. Involvement of cross-reactive carbohydrate determinants-specific IgE in pollen allergy testing. *Asia Pac Allergy.* 2017;7:29–36.
35. Mari A, Ooievaar-De Heer P, Scala E, Giani M, Pirrotta L, Zuidmeer L, et al. Evaluation by double-blind placebo-controlled oral challenge of the clinical relevance of IgE antibodies against plant glycans. *Allergy.* 2008;63:891–6.
36. Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD, et al. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- $\alpha$ -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:426–33.
37. Fischer J, Hebsaker J, Caponetto P, Platts-Mills TAE, Biedermann T. Galactose-alpha-1,3-galactose sensitization is a prerequisite for pork-kidney allergy and cofactor-related mammalian meat anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134:755–9.
38. Galili U, Shohet SB, Kobrin E, Stults CL, Macher BA. Man, apes, and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells. *J Biol Chem.* 1988;263:17755–62.
39. Hodžić A, Mateos-Hernández L, Leschnik M, Alberdi P, Rego ROM, Contreras M, et al. Tick bites induce anti- $\alpha$ -Gal antibodies in dogs. *Vaccine.* 2019;7:114.
40. Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Marsella R, Santoro D, Nuttall T, Eisenschenk MNC. Lymphocytes, cytokines, chemokines and the T-helper 1–T-helper 2 balance in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2015;26:124–e32.
41. Aleo MM, Galvan EA, Fleck TJ, Humphrey WR, Coscarelli EM, Mahabir SP, et al. Effects of oclacitinib and prednisolone on skin test sensitivity. *Vet Dermatol.* 2013;24:297.

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Kasper B, Boehm T, Wittenstein N, Mueller RS. Cross-reactive carbohydrate determinants in atopic and healthy dogs and their influence on allergy test specificity. *Vet Rec.* 2023;e3308.  
<https://doi.org/10.1002/vetr.3308>



## IV. PUBLIKATION 3: STUDIE 2

### Long-term use of lokivetmab in dogs with atopic dermatitis

**Bettina Kasper**<sup>1</sup>

**Yury Zablotski**<sup>1</sup>, PhD

**Ralf S. Mueller**<sup>1</sup>, Prof. Dr. med. vet., Dipl. ECVD (Dermatology), Dipl. ACVD (Dermatology), Fellow Australian and New Zealand College of Veterinary Scientists (Dermatology), Fachtierarzt für Kleintierdermatologie (Deutschland)

<sup>1</sup> Centre of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstr. 13,  
Munich 80539, Germany

**Veterinary Dermatology**, veröffentlicht

*Vet Dermatol.* 2024; 00:1–9; doi: <https://doi.org/10.1111/vde.13286>

Received: 4 October 2023 | Accepted: 2 August 2024

DOI: 10.1111/vde.13286

## ORIGINAL ARTICLE

# Long-term use of lokivetmab in dogs with atopic dermatitis

Bettina Kasper  | Yury Zablotzki | Ralf S. Mueller Centre for Clinical Veterinary Medicine,  
LMU Munich, Munich, Germany**Correspondence**Bettina Kasper, Centre for Clinical  
Veterinary Medicine, LMU Munich,  
Veterinärstr. 13, Munich 80539, Germany.  
Email: [bettina.kasper@yahoo.com](mailto:bettina.kasper@yahoo.com)**Abstract****Background:** Lokivetmab, a caninised monoclonal antibody against interleukin (IL)-31, is an effective treatment for the pruritus associated with canine atopic dermatitis (cAD).**Objectives:** To investigate the efficacy and safety of lokivetmab during long-term treatment defined as at least three consecutive lokivetmab injections in atopic dogs under field conditions. To assess individual factors influencing treatment outcome and adverse events.**Animals:** 150 dogs with cAD.**Materials and Methods:** Medical records of dogs treated with lokivetmab were reviewed, and owners and/or veterinarians were contacted as needed for follow-up. A decrease of the pruritus Visual Analog Scale (PVAS) score by  $\geq 2$  or a PVAS score  $\leq 2$  after treatment was considered as treatment success. Logistic regression was used to investigate the influence of a variety of factors on outcome: type of cAD (food versus environment), age at first lokivetmab administration, disease chronicity, dosage and/or secondary infection. Any adverse event that occurred during the study period was recorded.**Results:** Lokivetmab reduced the PVAS score with long-term use ( $p < 0.01$ ); the success rate was 53 of 69 total dogs (77%). The probability of treatment failure decreased with increasing treatment duration. None of the factors investigated influenced the treatment outcome. Twelve dogs of 150 (8%) showed adverse events such as gastrointestinal signs or lethargy.**Conclusion and Clinical Relevance:** Lokivetmab appears to be an effective and safe long-term anti-itch therapy for dogs with cAD.**KEYWORDS**

canine, cytopoint, IL-31, monoclonal antibody

## INTRODUCTION

Canine atopic dermatitis (cAD) is a common allergic skin disease, with a reported prevalence of 10%–15%.<sup>1</sup> The chronic skin condition is characterised by pruritus, often associated with cutaneous inflammation, and typically requires life-long therapy.<sup>2,3</sup> Although the pathogenesis of this multifactorial disease is still not fully understood,<sup>4,5</sup> there are a number of symptomatic treatment options, which differ in their efficacy and associated adverse events.<sup>6–8</sup> Broad-spectrum medications such as glucocorticoids and calcineurin inhibitors were the only therapies available in the past decades, yet newer therapeutic approaches provide more targeted treatment options with fewer adverse events.<sup>4</sup>

Lokivetmab (Cytopoint; Zoetis Belgium SA) is a caninised monoclonal antibody which selectively binds to circulating interleukin (IL)-31 in dogs. It was shown to effectively inhibit pruritus and related skin lesions in cAD for  $>1$  month, have a fast onset of action and minimal adverse events.<sup>9–14</sup> In one study, the quality of life (QoL) of owners and their animals suffering from cAD increased as a consequence of the significant reduction of pruritus achieved through treatment with lokivetmab.<sup>15</sup> In another study, the administration of lokivetmab significantly decreased both pruritus Visual Analog Scale (PVAS) scores and serum IL-31 levels in dogs with cAD.<sup>16</sup>

A possible cause for the loss of efficacy during treatment with monoclonal antibodies is development of antidrug antibodies (ADAs). Three studies evaluated ADAs in dogs with cAD treated with lokivetmab.

Study presentation: The abstract of this study was presented at the DGVD (Deutsche Gesellschaft für Veterinärdermatologie) congress, 30 April 2023.

One study detected no treatment-induced immunogenicity after a single dose of lokivetmab,<sup>9</sup> and in two other studies, antibodies were formed in 2.1%–2.5% of treated dogs.<sup>10,11</sup> In another study, 2.6% of allergic dogs experienced a loss of efficacy after the second lokivetmab injection, yet no ADA levels were measured in those patients.<sup>17</sup>

To the best of the authors' knowledge, there is only one published study from North America that has investigated individual factors predictive of initial treatment success.<sup>17</sup> This prompted us to explore whether similar factors, such as the type of cAD (food- or environmentally induced), the age at which lokivetmab was first administered, the disease chronicity, the dosage used and the presence of secondary infections on the day of the initial lokivetmab injection, have an impact not only on the initial treatment outcome but also on the long-term results in European dogs. The primary objective of the present study was to investigate the long-term use of lokivetmab in atopic dogs under field conditions in Germany. The secondary objective was to assess if concurrent factors affect treatment outcome initially in the long term. The tertiary objective was to report any adverse events observed over the study period.

## MATERIALS AND METHODS

This retrospective study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Veterinary Medicine/University of Munich under the number 232-26-08-2020.

### Study design

Data were collected retrospectively from July 2017 to October 2021 by searching the database of the Centre for Clinical Veterinary Medicine at LMU Munich. In most cases, the available information was supplemented by telephone and mail contact with the pet owner and/or the primary veterinarian as needed.

### Inclusion/exclusion criteria

All medical records of dogs with suspected cAD that received at least one lokivetmab injection at the Centre for Clinical Veterinary Medicine at LMU Munich during the study period were included. Patients whose treatment was initiated at the Centre, with some of the subsequent injections administered by the referring veterinarians, were intentionally also included. cAD was suspected based on the history and clinical presentation and confirmed by ruling out other differential diagnoses such as flea bite hypersensitivity and/or ectoparasite infestation. Food allergy was ruled out or confirmed by an elimination diet trial for 8 weeks with either a commercially available fully hydrolysed protein, or a home-cooked diet consisting of a protein and

carbohydrate source to which the animal had not previously been exposed.<sup>18</sup>

### Study objects

The following data were collected: signalment, body weight, date of birth, date of onset of cAD clinical signs, elimination diet trial status, previous medications (glucocorticoids, oclacitinib, ciclosporin), exact dates of lokivetmab injections, lokivetmab dosage and any observed adverse events.

Pruritus was measured as a score on a PVAS scale<sup>19,20</sup> documented at different time points and included in the data collection of the study: before the first lokivetmab administration and after the first and last lokivetmab injections, respectively.

Any other medication received in the 28 day period before and after the first lokivetmab visit also was recorded, and a medication score was calculated using a previously published scoring system<sup>21,22</sup> adapted to our study purposes (Table 1). Glucocorticoids were evaluated according to the potency of the respective active ingredient.<sup>23–25</sup>

Secondary infections on the day of the first lokivetmab administration and within 1 month after injection were recorded if a cytological sample was available and had been assessed using a previously validated cytological score scale ranging from 0 to 4.<sup>26</sup> If the cytological score indicated infection (score  $\geq 1$ ), the cytological results were considered positive. If the dog had a negative cytological sample or the clinician decided not to take a cytological sample based on clinical presentation, typically because of the absence of both pruritus and clinical lesions, the dog was considered negative for secondary infection.

TABLE 1 Medication score.

Treatment	Points
No medication	0
Topical medication (except tacrolimus and topical glucocorticoids)	5
Oral antihistamines and essential fatty acids	10
Systemic antibiotics or antimycotics	30
Prednisolone <sup>b</sup> >1 mg/kg daily <sup>a</sup>	40
Prednisolone <sup>b</sup> 0.5–1 mg/kg daily <sup>a</sup>	30
Prednisolone <sup>b</sup> 0.2–0.5 mg/kg daily <sup>a</sup>	20
Prednisolone <sup>b</sup> <0.2 mg/kg daily <sup>a</sup> or topical glucocorticoids	10
Ciclosporin >5 mg/kg daily <sup>a</sup>	40
Ciclosporin 2.5–5 mg/kg daily <sup>a</sup>	30
Ciclosporin 1.25–2.5 mg/kg daily <sup>a</sup>	20
Topical tacrolimus or ciclosporin <1.25 mg/kg daily <sup>a</sup>	10
Oclacitinib 0.4–0.6 mg/kg twice daily <sup>a</sup>	40
Oclacitinib 0.4–0.6 mg/kg daily <sup>a</sup>	30
Oclacitinib <0.4 mg/kg daily <sup>a</sup>	20

<sup>a</sup>Mean daily dosage for the last month before examination.

<sup>b</sup>Glucocorticoid potency compared to prednisolone: methylprednisolone and triamcinolone—1.25× more potent, dexamethasone—7.5× more potent.

### Evaluation of treatment efficacy

Long-term treatment was defined as receiving at least three lokivetmab injections. The corresponding long-term efficacy was evaluated after the last injection administered at the time of data collection, and the initial response was assessed after the first lokivetmab administration. Efficacy was measured primarily by improvement in the PVAS score by  $\geq 2$  following the lokivetmab injection by comparing the PVAS score recorded immediately before the first lokivetmab injection with the PVAS score after the first and last lokivetmab treatments, respectively. If the dog's pruritus was low before the first injection of lokivetmab owing to prior treatment with other medications, a PVAS score of  $\leq 2$  following the corresponding lokivetmab administration was likewise considered a success. All dogs with a PVAS score  $< 2$  after lokivetmab treatment were recorded separately, as this was regarded as the normal range.<sup>20</sup> As recommended by the International Committee for Allergic Diseases in Animals,<sup>27</sup> the number of dogs in which the PVAS score was reduced by  $\geq 50\%$  also was calculated.

In addition to pruritus, changes in medication score and the development of secondary infection under the effect of the first lokivetmab dose were assessed.

### Loss of treatment effectiveness associated with long-term use

Loss of efficacy was considered when the initial success which had been recorded after the first lokivetmab administration was no longer observed after the last administered lokivetmab injection. The extent of the effect reduction of the treatment was estimated using the following formula:

$$\text{Level of effect reduction (in\%)} = \frac{\text{PVAS after last} - \text{PVAS after first}}{\text{PVAS before first} - \text{PVAS after first}} \times 100$$

The calculated percentages of effect reduction of lokivetmab treatment were classified  $\leq 20\%$ , no loss;  $> 20\%$  and  $\leq 40\%$ , low effect reduction;  $> 40\%$  and  $\leq 60\%$ , moderate effect reduction; and  $> 60\%$ , severe effect reduction.

### Statistical analysis

The normality assumption was assessed by the Shapiro–Wilk normality test. For non-normally distributed data, nonparametric tests were used.

A Friedman test followed by a Durbin–Conover test was conducted to show the PVAS change over the course of treatment in all included long-term patients with three or more administered lokivetmab injections.

Long-term success was measured by means of a survival analysis. For the analysis, long-term patients with an average interval of injections  $\leq 100$  days were included.

In order to determine whether the outcome of long-term and initial lokivetmab therapy was affected by

individual factors (such as food versus environmentally induced cAD, disease chronicity, dosage and secondary infection on day of first lokivetmab administration for the initial success; and age during first lokivetmab administration and dosage for the long-term success), a logistic regression with both univariate and multivariate analysis was performed with all included dogs receiving initial or long-term treatment, respectively. As the results of both analyses were identical, only the results of the multivariate analysis are presented.

The significance level of all analyses conducted was set at  $p < 0.01$ .

## RESULTS

### Study objects

A total of 150 medical records were included in the study of which 69 could be evaluated for long-term analysis. Of these 69 long-term patients, 50 dogs received injections at an average interval of  $\leq 100$  days. The signalment of included dogs is given in Table 2.

The study included 44 of 150 dogs (29%) diagnosed with cAD sensu lato (no elimination diet performed), 72 of 150 dogs (48%) with cAD sensu stricto (pruritus failed to respond to an elimination diet) and 34 of 150 dogs (23%) presenting with a concurrent food allergy. Before the first treatment with lokivetmab, of 150 dogs, 103 (69%) had received glucocorticoids, 101 (67%) oclacitinib and 15 (10%) ciclosporin. Further data on the course of the disease are presented in Table S1 in the Supporting information, and the total number of lokivetmab injections is listed in Table S2. The dog with the highest number of injections received 35 treatments in total over 36.5 months. The lokivetmab dosage administered ranged from 0.8 to 2.5 mg/kg (mean 1.3 mg/kg). The average injection interval of each dog ranged from 19 to 409 days (median 48 days). Therapy duration varied from 1 to 48 months (average 9.4 months).

### Evaluation of treatment efficacy

The PVAS score over the course of lokivetmab therapy is illustrated in Figure 1. While the median PVAS score was 6 before the first lokivetmab administration, it decreased to 1 after that first injection and to 2 after the last. Pruritus decreased significantly from before in comparison with after therapy with lokivetmab. This was observed both after initial injection ( $p < 0.01$ ) and in association with long-term use ( $p < 0.01$ ). There also was a significant difference between the PVAS score after the first and after the last lokivetmab injections ( $p < 0.01$ ).

Eighty-nine dogs of 150 (59%) had a PVAS score  $< 2$  after the first lokivetmab injection; a PVAS score reduction by  $\geq 50\%$  was observed in 119 of 150 dogs (79%) after the first administration of lokivetmab. Thirty-two of 69 dogs (46%) receiving long-term therapy obtained a PVAS score  $< 2$  after their last lokivetmab treatment. In 43 of 69 dogs (62%) receiving long-term treatment,

**TABLE 2** Signalment of dogs receiving lokivetmab.

	Initial treatment (n=150)	Long-term treatment (n=69)
Sex		
Female	49 (33%)	26 (38%)
Female spayed	36 (24%)	14 (20%)
Male	39 (26%)	18 (26%)
Male castrated	26 (17%)	11 (16%)
Body weight		
Range (kg)	4–60	4–49
Breed		
Pure-bred	122 (81%)	58 (84%)
Mixed breed	28 (19%)	11 (16%)
Most represented		
French bulldog	13	7
Labrador retriever	11	7
German shepherd dog	11	5
West Highland white terrier	8	5
Pug	6	3
Golden retriever	5	3
Poodle	4	2
Boxer	4	2
Rhodesian ridgeback	3	2
White Swiss shepherd dog	3	2
Cocker spaniel	3	1
Parson Russell terrier	3	1
English bulldog	3	1

the reduction of  $\geq 50\%$  was seen when comparing the PVAS score before the first with that after the last lokivetmab application.

The efficacy rate after the first lokivetmab injection was 90% (135 of 150 dogs). Comparing the assessed medication score before and after the first lokivetmab injection, it decreased in 67 of 150 dogs (45%). A decrease of the medication score by  $\geq 50\%$  was observed in 34 of 150 dogs (23%). Forty-eight dogs of 150 (32%) were assessed to show no clinical or cytological signs of secondary infections at the first visit: 35 of 48 dogs (73%) maintained this status, while 13 of 48 (27%) developed infections within 4 weeks of therapy. Fifty-one of 150 dogs (34%) were identified with an infection at the first visit: 30 of the 51 (59%) responded to concurrent, appropriate antimicrobial therapy and 21 (41%) maintained cytological positivity. Aural haematomas formed in 2 of 150 dogs (1%) and acute moist dermatitis in 4 of 150 (3%) during treatment with lokivetmab.

Long-term efficacy in PVAS reduction was achieved in 77% (53 of 69 dogs). The outcome of long-term use of lokivetmab based on a survival analysis is visualised in Figure 2. Treatment failure was observed in 13 of 50 dogs by Day (D) 740. The last treatment failure was

on D749. The longer treatment with lokivetmab was continued, the lower the likelihood of treatment failure.

### Loss of treatment effectiveness with long-term use

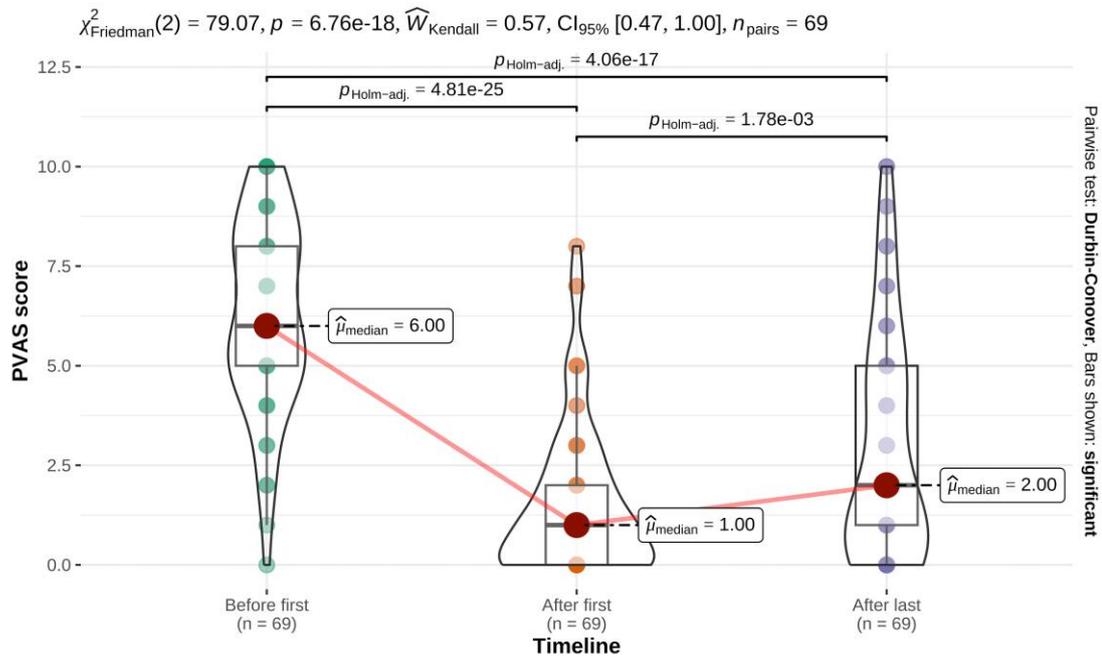
Overall, 12 of 69 dogs (17%) treated long-term experienced a loss of efficacy; in all 12, the level of effect reduction was severe. The remaining 57 dogs (83%) did not develop any loss of effect over the treatment period.

### Influencing factors of the treatment outcome

There was no significant association between the treatment outcome and any of the tested factors in the regression analysis. The initial efficacy was not significantly influenced by the diagnosis of food-induced versus environmentally induced cAD ( $p=0.88$ ), nor by the disease chronicity ( $p=0.53$ ), the dosage administered ( $p=0.079$ ) or the presence of a secondary infection on the day of the first lokivetmab administration ( $p=0.92$ ). The outcome of long-term efficacy also was not significantly affected by the age during the first lokivetmab administration ( $p=0.67$ ) or the administered dosage ( $p=0.061$ ).

### Adverse events

A total of 12 of 150 dogs (8%) experienced adverse events during treatment with lokivetmab. Gastrointestinal signs such as diarrhoea, vomiting or nausea were observed in two of these (1.33%), unspecified skin rashes occurred in two others (1.33%), anorexia in two (1.33%) and lethargy in six (4%). More detailed information about the reported adverse events is provided in Table 3. Of particular note is dog 129. This dog developed a multifocal crusting dermatitis following the first lokivetmab injection. Several biopsy samples were obtained 1 month after lokivetmab was administered. The histological examination revealed epidermal hyperplasia, multifocal epidermal necrosis, serocellular crusts, moderate parakeratosis with serum lakes and occasional bacteria. Intracorneal and subcorneal neutrophilic as well as mononuclear pustules were observed. Additionally, a chronic, superficial, moderate, perivascular-to-interstitial, mixed mononuclear dermatitis with oedema and mucin, along with some fibroblastic changes, was identified. Small vessel leucocytoclastic vasculitis with haemorrhage and dilated lymphatic vessels also was noted. The morphological diagnosis was hyperplastic, mixed dermatitis characterised by the presence of serocellular crusts, intra- and subcorneal pustules and leucocytoclastic vasculitis with small vessels. The lesions resolved with oclacitinib. Further injections of lokivetmab were not administered and as such an adverse drug reaction remains a possibility. This dog was included in our



**FIGURE 1** Development of the pVAS score over the course of lokivetmab therapy. The  $p$ -value of the Friedman's test ( $6.76e-18$ ) indicates a significant difference in the pVAS score among the various time points ( $p < 0.01$ ). The Kendall's W (with its 95% confidence intervals) refers to the effect size and reveals that this difference between the groups is moderate (0.57 [0.48 - 1]). To determine the specific group differences, we employed the Durbin-Conover pairwise tests with Holm corrected  $p$ -values for multiple comparisons, which demonstrate that the pVAS score varies significantly between each time point ( $p < 0.01$ ). The "4.06e-17" is a scientific notation of a very small  $p$ -value with 17 zeros and is  $= 4.06 \times 10^{-17}$ . Medians are shown due to the non-parametric nature of Friedman Test. Red lines connect the timepoints in order to emphasize the dependency of observations (aka repeated measures). The darkness of points emphasizes samples size for a particular pVAS score (the darker the point, the more frequent a particular score was found). Similarly, the violin plot displays the distribution of scores within every timepoint.

analysis. All other listed adverse events were reversible and resolved either spontaneously or with mild symptomatic therapy.

## DISCUSSION

Pruritus of dogs with cAD was effectively reduced by single and long-term administration of lokivetmab.

To the best of the authors' knowledge, no previous study has investigated the efficacy and safety of lokivetmab over a relatively long period of time. In one study, lokivetmab was administered three times in three consecutive months, with a significant decrease in pruritus and Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-04 score.<sup>14</sup> In another study, the first part of the trial demonstrated that lokivetmab was noninferior to ciclosporin in terms of pruritus reduction in atopic dogs after 3 months of treatment. In the second part of the study, some of the dogs from the lokivetmab group were treated with lokivetmab for an additional 6 months, allowing efficacy to be monitored for up to 9 months, and 76.3% of the dogs were classified as normal at the end of the study.<sup>11</sup> In another publication, a total of 21 dogs were treated with lokivetmab monotherapy according to manufacturer's instructions and followed for up to 1 year. One quarter of the dogs did not experience a disease flare during monotherapy with

lokivetmab for at least 1 year, and half of the treated dogs developed a flare within 2 months after discontinuing other anti-allergic medications.<sup>28</sup>

Compared with the initial lokivetmab success rate, a decrease in treatment efficacy was observed. One potential cause for the decrease in efficacy may be the formation of ADAs directed against lokivetmab, even though lokivetmab is a caninised monoclonal antibody.<sup>29,30</sup> ADAs may bind to the administered monoclonal antibodies and lead to their neutralisation, and consequently result in a reduction of treatment efficacy.<sup>30,31</sup> ADAs directed against lokivetmab have been measured in two veterinary studies and identified in 2.1%–2.5% of atopic dogs treated with this monoclonal antibody.<sup>10,11</sup> In a 9-month field study, treatment efficacy was reduced in one of a total of three dogs with ADA levels present against lokivetmab. ADAs were formed only in the first 3 months of treatment, not thereafter.<sup>11</sup> One study did not detect any treatment-induced immunogenicity after a single injection of lokivetmab.<sup>9</sup> The results of the presents study support those findings. The Kaplan–Meier curve illustrates that the probability of treatment failure decreased with treatment duration. In another study, a loss of efficacy was noted in 2.6% of allergic dogs after the second dose of lokivetmab, yet ADA levels were not measured in that study. Interestingly, one of the affected dogs was reported to exhibit

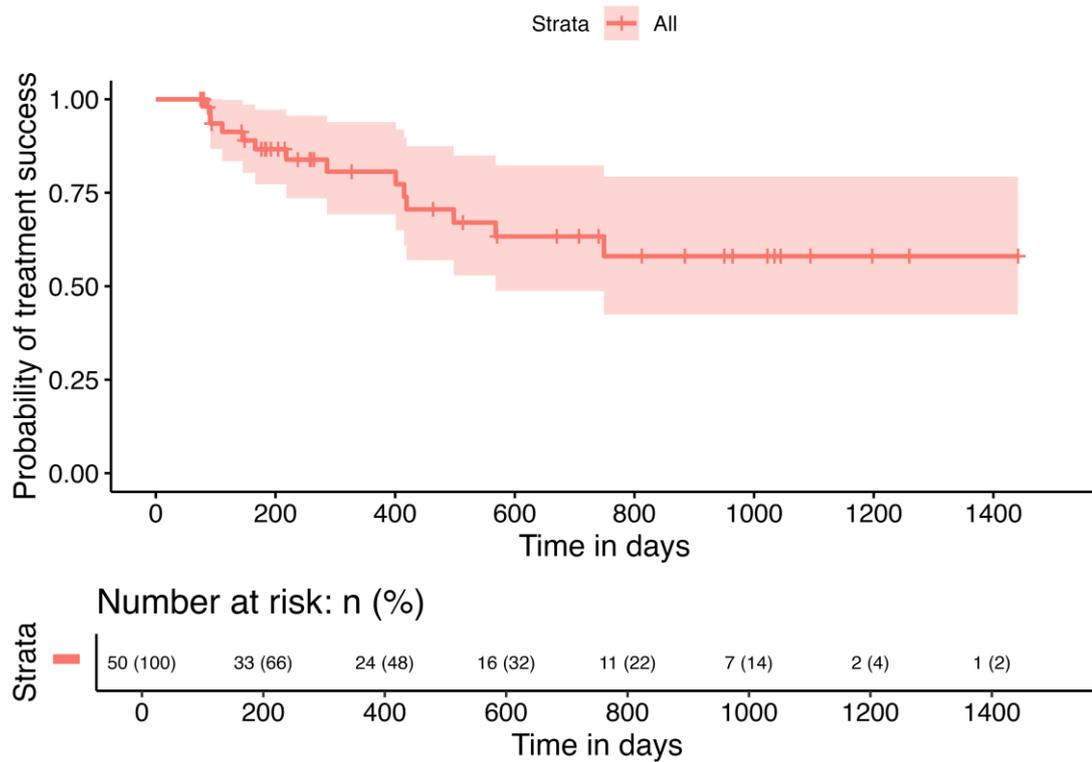


FIGURE 2 Long-term treatment outcome.

TABLE 3 Adverse events.

Case number	Total number of Lmab	Adverse event	Time period
4	6	Nausea	One day after second Lmab
29	2	Pustular rash	Within 30 min after second Lmab
68	3	Anorexia	Within 4 weeks after first Lmab
89	1	Lethargy	11 days after first Lmab
93	2	Diarrhoea, vomiting	The day after both Lmab
102	12	Lethargy	After twelfth unsuccessful Lmab
105	7	Lethargy	The day after some Lmab
107	10	Lethargy	Persistent for 1 week after Lmab
125	8	Lethargy	Directly after Lmab up to 2 days
129	1	Multifocal crusting dermatitis	Within the month after first Lmab
134	2	Anorexia	On Days 3 and 4 after first Lmab
142	8	Lethargy	No additional information

Abbreviation: Lmab, lokivetmab.

lethargy in association with its third injection.<sup>17</sup> We observed this phenomenon in one of our study participants. Dog 102 showed lethargy and loss of efficacy after the twelfth lokivetmab administration. In a laboratory safety evaluation of lokivetmab, in which healthy laboratory beagle dogs received seven consecutive monthly doses of lokivetmab, no evidence of immunogenicity was observed; unfortunately, ADA levels were not measured.<sup>32</sup> Further prospective long-term studies are needed as the clinical relevance of ADAs in dogs treated with lokivetmab is not clear. It would be extremely interesting to measure ADA

concentrations not only in treatment failures but also in long-term patients receiving >10 injections.

Pruritus as a result of secondary infections could be another possible cause of treatment failure with long-term use. In previous studies, treatment with lokivetmab was more effective in controlling pruritus than inflammatory skin lesions.<sup>9,11,28</sup> In our study, owners were often late for the recommended 4-week follow-up visits for continued treatment with lokivetmab. The average injection intervals of the individual dogs in our study showed a wide range. In addition, skin cytological investigation and subsequent

topical therapy was only infrequently conducted at the primary care veterinarian during the course of lokivetmab therapy. Consequently, skin lesions and secondary infections possibly occurred during allergy flares. Nevertheless, this delay in treatment is not necessarily detrimental. The duration of action of lokivetmab varies slightly by patient and time of year, and in one study, an injection of lokivetmab at 2 mg/kg inhibited pruritus for  $\leq 42$  days.<sup>12</sup>

Our criteria defining treatment success were chosen to be comparable to the results of previous studies with similar study designs investigating the initial success of lokivetmab.<sup>17,33</sup> Based on these criteria, our observed initial success rate of 90% is consistent with both of the previous studies, in which initial success rates of 87.8% and 98% were reported in dogs with allergic dermatitis after 1 month of treatment.<sup>17,33</sup> A PVAS score reduction by  $\geq 50\%$  after initial treatment with lokivetmab occurred in 79% of our patients, which is in line with other reports in other studies of 73%–77%.<sup>13,17</sup>

Treatment failure in the small proportion of dogs not responding to lokivetmab could result from the fact that these dogs may have less circulating IL-31 and/or other cytokines more prominently involved in the pruritus cascade. cAD is a complex, multifactorial disease and accordingly demands a multifaceted treatment spectrum.<sup>8</sup> Breed-associated variations in the clinical phenotypes of cAD have been detected, suggesting differences in the underlying pathomechanisms.<sup>34</sup> Likewise, study results from human medicine on the use of monoclonal antibodies confirmed that some patients did not respond to these specifically targeted treatment options.<sup>35–37</sup>

No significant association was found in our study between treatment outcome and any of the factors tested, including the type of cAD, age at first administration of lokivetmab, disease chronicity, dosage and the presence of secondary infections on the day of the first lokivetmab injection. Those results are consistent with a previous study that also reported no significant association between treatment success and similar parameters.<sup>17</sup> There appeared to be a subtle and not statistically significant association between dosage of lokivetmab and treatment efficacy: the higher the dose of lokivetmab, the lower the treatment success. In a previous study, the administration of higher doses of lokivetmab also did not increase the likelihood of treatment success.<sup>17</sup> Therefore, administration of higher doses of lokivetmab does not seem to offer any additional benefit for atopic patients. Additional and larger prospective studies are needed to verify this.

The absence of a statistically significant impact of secondary infections on the day of the initial lokivetmab injection on treatment outcome may be a consequence of the strong antipruritic action of the antibody. Alternatively or additionally, the topical antimicrobial therapy prescribed in those dogs may have sufficiently treated the infection to render it insignificant.

The type of cAD did not seem to influence treatment outcome. Lokivetmab may be a viable long-term treatment option for any dog with suspected cAD

whose owners are hesitant to pursue a comprehensive work-up. Likewise, neither age at the time of first administration of lokivetmab nor chronicity of disease affected treatment outcome. Additional prospective studies are necessary to elucidate this.

Lokivetmab appears to be a safe and effective pruritus treatment for long-term use in cAD. Most of the adverse events that we recorded throughout the entire study period, including gastrointestinal signs, anorexia and lethargy, were very mild and consistent with previous publications.<sup>9,10,17</sup> Lokivetmab proved safe not only when administered once within 28 days<sup>13</sup> but also in a clinical trial with monthly injections for up to 9 months.<sup>11</sup> In a laboratory study of the safety of lokivetmab, in which a dose of  $\leq 10$  mg/kg was administered to 24 healthy laboratory beagle dogs for 7 consecutive months, lokivetmab also was observed to be well-tolerated.<sup>32</sup> Two of our study patients developed unspecified skin rashes that had not been previously reported. In the dog with multifocal crusting dermatitis resulting from a suspected drug reaction, treatment with lokivetmab resulted in a significant decrease in PVAS score from 9 to 2, yet the owners still chose to discontinue the therapy. Instead, oclacitinib was administered, resulting not only in the disappearance of the multifocal crusts but also in the continued reduction of pruritus. A second dog exhibited a pustular rash within 30 min of receiving lokivetmab from the primary care veterinarian. Whether this was an acute medication reaction or detection of a previously unobserved bacterial infection is unclear, as unfortunately no cytological samples were obtained. Peracute development would be atypical for bacterial pyoderma. As the primary veterinarian successfully treated the pustular rash with prednisolone, a drug reaction seems possible. More studies are needed to further evaluate rare adverse events with lokivetmab.

The major limitation of this study is its retrospective nature. Owners and primary veterinarians were actively contacted, yet information was recalled from medication records and owner statements related to the past, which limits reliability compared to prospectively collected and standardised data. For the same reason, injection intervals and medication intake were not standardised, complicating the comparability of the data.

In conclusion, the current study demonstrates that lokivetmab is an effective and safe pruritus treatment option for long-term use in cAD under field conditions. Additional prospective studies conducted under standardised settings are necessary to validate our findings. Regular follow-up visits conducted by specialists utilising validated scoring systems can corroborate owners' statements and facilitate sample collection for cytological investigation and the measurement of ADAs.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Bettina Kasper:** Writing – original draft; data curation; project administration; investigation; validation; writing – review and editing. **Yury Zablotzki:** Formal analysis; writing – review and editing; methodology. **Ralf**

**S. Mueller:** Writing – review and editing; supervision; project administration; conceptualization; methodology.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Sonya Bettenay for her critical review of the manuscript and especially for her revision of the biopsy report. We also would like to thank all of the veterinarians and owners who participated in the study, and provided us with indispensable information.

#### FUNDING INFORMATION

Self-funded.

#### CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

Ralf Mueller acted as a consultant or received support for studies or lectures from Artuvet, Bayer Animal Health, Ceva Animal Health, Ecuphar, Elanco Animal Health, Greer Laboratories, Heska Laboratories, Hill's, Royal Canin, MSD Animal Health, Nextmune, Synlab, Virbac Animal Health and Zoetis. Bettina Kasper and Yury Zablotzki did not report any conflicts of interest.

#### ORCID

Bettina Kasper  <https://orcid.org/0000-0002-2876-5529>

Ralf S. Mueller  <https://orcid.org/0000-0001-5835-5910>

#### REFERENCES

- Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:147–51.
- Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;114:207–8.
- 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.
- Marsella R. Atopic dermatitis in domestic animals: what our current understanding is and how this applies to clinical practice. *Vet Sci.* 2021;8:124.
- 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.
- Gedon NKY, Mueller RS. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy.* 2018;8:41.
- Saridomichelakis MN, Olivry T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J.* 2016;207:29–37.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the international committee on allergic diseases of animals (ICADA). *BMC Vet Res.* 2015;11:210.
- Michels GM, Ramsey DS, Walsh KF, Martinon OM, Mahabir SP, Hoeyers JD, et al. 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.* 2016;27:478–e129.
- Michels GM, Walsh KF, Kryda KA, Mahabir SP, Walters RR, Hoeyers JD, et al. 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.* 2016;27:505–e136.
- Moyaert H, Van Brussel L, Borowski S, Escalada M, Mahabir SP, Walters RR, et al. 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.
- Fleck TJ, Norris LR, Mahabir S, Walters RR, Martinon O, Dunham SA, et al. Onset and duration of action of lokivetmab in a canine model of IL-31 induced pruritus. *Vet Dermatol.* 2021;32:681–e182.
- Van Brussel L, Moyaert H, Escalada M, Mahabir SP, Stegemann MR. A masked, randomised clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to saline control in client-owned dogs with allergic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2021;32:477–e131.
- Szczepanik MP, Popiel J, Cekiera A, Pomorska-Handwerker D, Karaś-Tećza J, Ściskalska M, et al. Evaluation of the clinical efficiency of lokivetmab in client privately owned atopic dogs – multicenter study. *Pol J Vet Sci.* 2020;23:191–5.
- Stuart Marques V, Calesso JR, de Carvalho OV, da Costa-Val Bicalho AP. Hair cortisol concentration, disease severity and quality of life in dogs with atopic dermatitis during lokivetmab therapy. *Vet Dermatol.* 2023;34:339–47.
- Calesso JR, Marques VS, de Carvalho OV, Costa-Val AP. Correlation between clinical efficacy on pruritus and serum interleukin-31 levels in dogs with atopic dermatitis treated with lokivetmab. *Pol J Vet Sci.* 2023;26:231–8.
- Souza CP, Rosychuk RAW, Contreras ET, Schissler JR, Simpson AC. A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Vet Dermatol.* 2018;29:489–e164.
- 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 PB, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol.* 2007;18:301–8.
- Rybnicek J, Lau-Gillard PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol.* 2009;20:115–22.
- 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;42:162–73.
- Mueller RS, Fieseler KV, Fettman MJ, Zabel S, Rosychuk RA, Ogilvie GK, et al. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *J Small Anim Pract.* 2004;45:293–7.
- Yang R, Yu Y. Glucocorticoids are double-edged sword in the treatment of COVID-19 and cancers. *Int J Biol Sci.* 2021;17:1530–7.
- Buttgereit F, Brand MD, Burmester GR. Equivalent doses and relative drug potencies for non-genomic glucocorticoid effects: a novel glucocorticoid hierarchy. *Biochem Pharmacol.* 1999;58:363–8.
- Tanaka H, Hirano F, Nomura Y, Miura T, Makino Y, Fukawa E, et al. Relative glucocorticoid potency revisited. *Rheumatol Int.* 1994;14:9–12.
- Budach SC, Mueller RS. Reproducibility of a semiquantitative method to assess cutaneous cytology. *Vet Dermatol.* 2012;23:426–e80.
- Olivry T, Bensignor E, Favrot C, Griffin CE, Hill PB, Mueller RS, et al. Development of a core outcome set for therapeutic clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis (COSCAD'18). *BMC Vet Res.* 2018;14:238.
- Tamamoto-Mochizuki C, Paps JS, Olivry T. Proactive maintenance therapy of canine atopic dermatitis with the anti-IL-31 lokivetmab. Can a monoclonal antibody blocking a single cytokine prevent allergy flares? *Vet Dermatol.* 2019;30:98–e26.
- Li M, Li H, Gao K, Wang M, An W, Zhu Y, et al. A simple and cost-effective assay for measuring anti-drug antibody in human patients treated with Adalimumab. *J Immunol Methods.* 2018;452:6–11.
- Chaigne B, Watier H. Monoclonal antibodies in excess: a simple way to avoid immunogenicity in patients? *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:814–6.
- Xu Z, Davis HM, Zhou H. Clinical impact of concomitant immunomodulators on biologic therapy: pharmacokinetics, immunogenicity, efficacy and safety. *J Clin Pharmacol.* 2015;55(Suppl 3):S60–S74.
- Krautmann M, Walters RR, King VL, Esch K, Mahabir SP, Gonzales A, et al. Laboratory safety evaluation of lokivetmab,

- a canine anti-interleukin-31 monoclonal antibody, in dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 2023;258:110574.
33. Gober M, Hillier A, Vasquez-Hidalgo MA, Amodie D, Mellencamp MA. Use of cytopoint in the allergic dog. *Front Vet Sci.* 2022;9:909776.
  34. Wilhem S, Kovalik M, Favrot C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2011;22:143–9.
  35. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:278–87.
  36. Owczarczyk K, Lal P, Abbas AR, Wolslegel K, Holweg CT, Dummer W, et al. A plasmablast biomarker for nonresponse to antibody therapy to CD20 in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med.* 2011;3:101ra92.
  37. Papp KA, Langley RG, Lebwohl M, Krueger GG, Szapary P, Yeilding N, et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). *Lancet.* 2008;371:1675–84.

**Résumé**

XXXXXXXXX.

**Resumen**

XXXXXXXXX.

**Zusammenfassung**

XXXXXXXXX.

**SUPPORTING INFORMATION**

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Kasper B, Zablotzki Y, Mueller RS. Long-term use of lokivetmab in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2024;00:1–9. <https://doi.org/10.1111/vde.13286>

## V. DISKUSSION

Viele Tierbesitzer möchten für ihren chronisch kranken Vierbeiner nicht dauerhaft nur symptomatische Behandlungen durchführen und entscheiden sich stattdessen für die kausale AIT. Daher stellt sich für Tierärzte oft die Frage, welche der positiv getesteten Allergene tatsächlich relevant sind und in die Allergenlösung aufgenommen werden sollten. Dies erweist sich insbesondere bei hochpositiven Serumtestergebnissen als Herausforderung, da in Europa nur wenige und relevante Allergene für das Extrakt ausgewählt werden.

In der ersten Studie dieser vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass Serumtests mit Blockierung von Anti-CCD-IgE Antikörpern unter Zuhilfenahme geeigneter Blockierungsmittel zu bevorzugen sind. Zuvor gemessene Polysensibilisierungen konnten im Serumtest von Hunden mit AD durch die Blockierung reduziert werden, wodurch die Übereinstimmung zwischen Serum- und Intrakutantestergebnissen erhöht wurde. In den Seren gesunder Kontrollhunde konnten weder Anti-CCD-IgE Antikörper noch Polysensibilisierungen detektiert werden.

Die in dieser Studie ermittelte Prävalenz von Anti-CCD-IgE Antikörpern in Höhe von 50 % in Seren atopischer Hunde stimmt nicht nur mit vergangenen veterinärmedizinischen Studien überein, in denen Prävalenzen von 17-73 % bestimmt wurden (BEXLEY et al., 2018; LEVY und DEBOER, 2018; GEDON et al., 2019; PICCIONE und DEBOER, 2019), sondern auch mit Daten aus der Humanmedizin, in welchen Prävalenzen von 18-71 % angegeben wurden (EBO et al., 2004; VIDAL et al., 2012; HOLZWEBER et al., 2013; ALTMANN, 2016). CCDs sind Kohlenhydratbestandteile von häufig auf der Zelloberfläche verschiedener Pflanzen und Insekten vorkommenden Glykoproteinen. Da Säugetiere keine CCDs aufweisen und diese somit als Epitope fungieren, kann eine Polysensibilisierung induziert werden (FAYE und CHRISPEELS, 1988; FAYE et al., 1993; JIN et al., 2008). Warum jedoch einige atopische Patienten eine humorale Immunantwort gegen CCD-Strukturen entwickeln und andere nicht, bleibt bislang ungeklärt und erfordert weitere Forschung. Mögliche Gründe für die große Bandbreite der in den verschiedenen Studien ermittelten Prävalenzraten sind die Auswahl der Patienten, verschiedene geografische Standorte mit unterschiedlichen

genetischen Hintergründen und Unterschiede in der Testmethodik. Auch die Tatsache, dass die Blutproben zu unterschiedlichen Zeiten des Jahres entnommen wurden, könnte dazu beigetragen haben. In unserer gesunden Hundepopulation wurden bei keinem der zehn Hunde Anti-CCD-IgE Antikörper detektiert. Dies steht im Widerspruch zu einer anderen Studie, in welcher eine Prävalenz von 13 % in der gesunden Kontrollgruppe ermittelt wurde (PICCIONE und DEBOER, 2019). Ob gesunde Hunde nun tatsächlich keine Anti-CCD-IgE Antikörper ausbilden und ob in der genannten Studie vermeintlich gesunde Hunde inkludiert wurden, welche sich bereits im subklinischen Stadium der AD befanden, ist unklar.

Diese Studie bestätigte, dass eine ausgeprägte Polysensibilisierung in Seren von atopischen Hunden mit vorliegenden Anti-CCD-IgE Antikörpern auftrat, im Vergleich zu gesunden und atopischen Hunden, bei denen diese Antikörper nicht nachgewiesen werden konnten. Durch die Blockierung der Anti-CCD-IgE Antikörper in den Hundeseren der Atopiker konnten die multiplen positiven Testergebnisse in der Untergruppe der Gräser signifikant reduziert werden. In der Untergruppe der Kräuter wurde durch die Blockierung ebenfalls eine markante Reduktion der polysensibilisierten Hunde erzielt, allerdings war die Zahl der polysensibilisierten Hunde mit vier nicht für das Erreichen einer statistischen Signifikanz ausreichend. Im Gegensatz zu den Untergruppen der Gräser und Kräuter konnte in der Untergruppe der Milben keine signifikante Veränderung der Polysensibilisierung durch Blockierung erreicht werden, wie dies bereits in früheren veterinärmedizinischen (GEDON et al., 2019; LEE et al., 2020; CANNING et al., 2021; MOHAMMADAVOODI et al., 2021) und humanmedizinischer Studien (HOLZWEBER et al., 2013) berichtet wurde. Hintergrund hierfür ist, dass verschiedene Gräser und Kräuter identische Kohlenhydratstrukturen in ihren Glykoproteinen aufweisen (YOKOI et al., 2017), während Milben nahezu keine CCD-Strukturen haben (MARI et al., 1999; VIDAL et al., 2012).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen des Serumtests zeigten die atopischen Hunde im Intrakutantest nur selten eine Polysensibilisierung. Dies könnte im Zusammenhang mit der vermuteten klinischen Irrelevanz von Anti-CCD-IgE Antikörpern stehen. Die monovalente Struktur der Anti-CCD-IgE Antikörper verhindert ihre Vernetzung auf der Oberfläche von sensibilisierten Mastzellen, sodass keine Degranulation resultieren kann (MALANDAIN, 2005; ALTMANN, 2007; JIN et

al., 2008; MARI et al., 2008). Inwiefern alle Anti-CCD-IgE Antikörper klinisch irrelevant und somit als „falsch positive“ Ergebnisse im Serumtest zu interpretieren sind, bleibt eine bislang offene Frage. Zum jetzigen Zeitpunkt kann eine potenzielle Beteiligung von Anti-CCD-IgE Antikörpern an T-Zell vermittelten Überempfindlichkeitsreaktionen nicht sicher ausgeschlossen werden. Immunologische Mechanismen, unabhängig von der IgE Produktion und deren Auswirkungen auf Mastzellen, sind in der Pathogenese der caninen AD ebenfalls relevant (PUCHEU-HASTON et al., 2015b). In humanmedizinischen Studien wurde in der Vergangenheit bereits von Ausnahmen bezüglich der klinischen Irrelevanz von Anti-CCD-IgE Antikörpern berichtet: Rotes Fleisch enthält eine Kohlenhydratstruktur namens  $\alpha$ -1,3-galactose (alpha-Gal) und Anti-CCD-IgE Antikörper, welche gegen alpha-Gal gerichtet sind, können schwerwiegende allergische Reaktionen bei Menschen auslösen (COMMINS et al., 2009; FISCHER et al., 2014; ALTMANN, 2016). Die Hypothese, dass alle Anti-CCD-IgE Antikörper klinisch irrelevant sind, wurde somit widerlegt. Da Hunde im Gegensatz zu Primaten alpha-Gal als eigenes Antigen besitzen, induziert dieses normalerweise keine Immunantwort in ihnen (GALILI et al., 1988). Einer Studie zufolge konnte jedoch eine Immunantwort gegen alpha-Gal nicht nur in gesunden Hunden gemessen, sondern auch durch Zeckenbisse ausgelöst werden (HODŽIĆ et al., 2019). Weitere Studien werden benötigt, um zu beleuchten, ob Anti-CCD-IgEs gegen alpha-Gal in Hunden möglicherweise doch eine klinische Relevanz haben und zu allergischen Reaktionen führen können.

Insgesamt betrachtet stieg die Korrelation zwischen den Ergebnissen der Serum- und Intrakutantests atopischer Hunde in unserer Studie nach der Blockierung vorhandener Anti-CCD-IgE Antikörper leicht an. In der Literatur sind neben unserer Studie zwei andere veterinärmedizinische Publikationen zu finden, welche die Korrelation zwischen beiden Testverfahren vor und nach der Blockierung von Anti-CCD-IgE Antikörpern untersucht haben. Während in der ersten Studie ein deutlicher Anstieg in der Korrelation beider Testergebnisse durch die Blockierung der Antikörper gegen CCDs erzielt wurde (GEDON et al., 2019), konnte in der zweiten Studie kein Unterschied vor und nach der Blockierung festgestellt werden (CANNING et al., 2021). Das Ergebnis unserer Studie liegt zwischen den Resultaten beider oben genannter Publikationen (GEDON et al., 2019; CANNING et al., 2021), da die Korrelation zwar zunahm, jedoch nicht in dem Ausmaß wie

vorangegangen berichtet. Daten aus der Humanmedizin bestätigen eine bessere Korrelation zwischen Intrakutantest, Krankengeschichte und Laborergebnissen nach Einsatz eines Blockierungsmittels (HOLZWEBER et al., 2013). Die variierenden Ergebnisse in den drei veterinärmedizinischen Studien bezüglich der festgestellten Korrelation zwischen beiden Testverfahren vor und nach der Blockierung von Antikörpern gegen CCD-Strukturen könnten auf diverse Ursachen zurückzuführen sein. In allen drei Studien wurden unterschiedliche Blockierungsmittel eingesetzt. Es scheint, als ob die verwendeten Blockierungsmittel in unterschiedlichem Maße effektiv waren. Zusätzlich variieren die beiden deutschen Studien von der amerikanischen Studie in Bezug auf die Verwendung unterschiedlicher Bewertungssysteme für die Auswertung des Intrakutantests. Des Weiteren könnten Unterschiede in den Hundepopulationen mit divergentem genetischem Hintergrund zu den Diskrepanzen zwischen der amerikanischen Studie und den beiden deutschen Studien beigetragen haben. Darüber hinaus unterscheidet sich die Auswahl geeigneter Allergene für den Intrakutantest zwischen den beiden Nationen. Inwieweit Allergenextrakte auf Basis von Serumtestergebnissen mit blockierten Anti-CCD-IgE Antikörpern zu einem besseren Ansprechen auf die AIT führen, ist derzeit noch unklar und bietet Raum für weitere Studien.

Eine Limitierung der vorliegenden Studie war die geringe Anzahl an gesunden Kontrollhunden. Bei einer umfangreicheren Anzahl an gesunden Patienten wäre möglicherweise der Nachweis von Anti-CCD-IgE Antikörpern erfolgt. Inwiefern gesunde Hunde nun tatsächlich keine Anti-CCD-IgE-Antikörper ausbilden, bedarf weiterer Forschung. Zusätzlich wäre es von Interesse gewesen, die Serumtestergebnisse mit der Patientengeschichte zu vergleichen und zu prüfen, ob eine Blockierung der Anti-CCD-IgE Antikörper die Korrelation verbessert hätte, wie es in der Humanmedizin beschrieben wurde (HOLZWEBER et al., 2013).

Das Hauptergebnis der ersten Studie bestand darin, dass die Blockierung von Anti-CCD-IgE-Antikörpern mittels eines geeigneten Blockierungsmittels die Spezifität des Serumtests erhöhte. Jedoch muss in diesem Zusammenhang hervorgehoben werden, dass der Serumtest nicht zur Diagnosestellung der caninen AD geeignet ist. Er sollte lediglich in Betracht gezogen werden, wenn Besitzer ihren Hund kausal therapieren möchten und die Auswahl der Allergene für das Allergenextrakt vorgenommen werden muss. Bei der Entscheidung für den Serumtest als Grundlage, was in den meisten Tierarztpraxen aufgrund der einfachen und

schnellen Durchführung üblich ist, sollten Varianten mit Blockierung der Anti-CCD-IgE-Antikörper bevorzugt werden. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass durch die Blockierung mittels geeignetem Blockierungsmittel die Polysensibilisierung gegen Pollenallergene reduziert wurde, was zu einer erhöhten Korrelation zwischen Serum- und Intrakutantest führte. Dennoch ist der Bezug zur Krankengeschichte nicht zu vernachlässigen. Testergebnisse dürfen niemals isoliert, sondern müssen stets in Verbindung mit der Klinik betrachtet werden.

In der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten zweiten Studie wurde die Langzeitanwendung von Lokivetmab untersucht. Symptomatische Medikamente wie Lokivetmab finden auch in der heutigen Zeit berechnigte Anwendung. Ihr Einsatz ist beispielsweise indiziert, wenn die AIT als alleinige kausale Therapieoption nicht die gewünschte Verbesserung der mit der AD verbundenen Symptome herbeigeführt hat. Darüber hinaus sind die Beschwerden der Allergien Patienten in vielen Fällen gerade zu Beginn der AIT nicht allein mit dem Allergenextrakt unter Kontrolle zu bringen. Daher wird die kausale AIT in der Anfangsphase oft mit symptomatischen Medikamenten kombiniert, die im besten Fall nicht das Immunsystem supprimieren. Wenn Patientenbesitzer nicht dazu bereit sind, die Allergie ihres Hundes umfassend aufzuarbeiten, sind symptomatische Medikamente auch dann erforderlich. In Anbetracht der verschiedenen oben aufgeführten Indikationen symptomatischer Medikamente ist es wichtig, jede einzelne Therapieoption auch in der Langzeitanwendung auf Wirksamkeit und potenzielle Nebenwirkungen zu untersuchen. Lokivetmab hat sich in unserer Studie unter Feldbedingungen als sicheres und effizientes Langzeitmedikament bei der caninen AD bewährt. Der Juckreiz der atopischen Hunde konnte nicht nur nach der initialen Lokivetmab-Injektion effektiv reduziert werden, sondern auch in der Langzeitanwendung. Keiner der von uns untersuchten Faktoren trug zur Vorhersage des anfänglichen oder langfristigen Behandlungserfolgs bei. Alle während des vierjährigen Studienzeitraums verzeichneten Nebenwirkungen waren gering, mit Ausnahme eines Hundes, der eine multifokale krustige Dermatitis entwickelte.

In dieser Studie wurde sowohl nach der initialen als auch nach der langfristigen Therapie mit Lokivetmab, gemessen an einer validierten Juckreizskala (Pruritus Visual Analogue Scale, pVAS) (HILL et al., 2007; RYBNÍČEK et al., 2009), ein signifikanter Rückgang im Juckreiz erzielt. Beim Vergleich der Zeitpunkte nach

der ersten mit nach der letzten verabreichten Lokivetmab-Injektion ist interessanterweise ein kleiner Anstieg im Juckreiz festzustellen. Statistisch gesehen ist dieser Anstieg signifikant, allerdings ist das Ausmaß des Anstiegs klinisch sehr gering. Bei Betrachtung der absoluten Zahlen lag der mediane pVAS-Score vor Beginn der Lokivetmab Therapie bei 6 und konnte nach der langfristigen Therapie auf 2 reduziert werden. Ein pVAS-Score  $< 2$  wird als „Normalbereich“ angesehen (RYBNÍČEK et al., 2009), daher ist das Ergebnis als Erfolg zu werten. In unserer Studie erreichten 46 % der Langzeitpatienten einen „normalen“ pVAS-Score.

Die von uns ermittelte Ersterfolgsrate von 90 % stimmt mit vergangenen Studien überein, in denen Ersterfolgsraten von 87,8 % und 98 % bei Hunden mit allergischer Dermatitis erzielt wurden (SOUZA et al., 2018; GOBER et al., 2022). Eine Verringerung des pVAS-Scores um  $\geq 50$  % nach der Erstbehandlung mit Lokivetmab trat bei 79 % unserer Patienten auf, was ebenfalls mit Berichten aus anderen Studien von 73-77 % übereinstimmt (SOUZA et al., 2018; VAN BRUSSEL et al., 2021). Wie an diesen Zahlen zu erkennen ist, spricht ein geringer Teil der allergischen Hunde nicht auf eine Therapie mit Lokivetmab an. Studien aus der Humanmedizin bestätigen die Erkenntnis, dass eine Therapie mit monoklonalen Antikörpern nicht bei allen Patienten wirksam ist (PAPP et al., 2008; OWCZARCZYK et al., 2011; SCOTT et al., 2012). Das Versagen der Behandlung mit Lokivetmab bei dem geringen Anteil der Hunde könnte darauf zurückzuführen sein, dass bei diesen Hunden insgesamt weniger IL-31 zirkuliert und/oder andere Zytokine stärker an der Juckreizkaskade beteiligt sind. In der Vergangenheit wurden bereits rassebedingte Unterschiede im klinischen Phänotyp der AD festgestellt, was auf Unterschiede in den zugrunde liegenden Pathomechanismen hindeutet (WILHEM et al., 2011). AD als eine komplexe und multifaktorielle Erkrankung erfordert ein vielseitiges Behandlungsspektrum (OLIVRY et al., 2015).

Bislang existiert keine Studie, die die Langzeitwirkung und -sicherheit von Lokivetmab in dem von uns ausgewählten Zeitrahmen durchgeführt hat. In unserer Studie erhielten die Langzeitpatienten insgesamt bis zu 35 aufeinanderfolgende Lokivetmab-Injektionen. Dabei wurde ein Langzeiterfolg von 77 % verzeichnet und in 62 % unserer Langzeitpatienten wurde eine Verringerung des pVAS-Scores um  $\geq 50$  % ermittelt. Die längste in der Literatur zu findende Studie begleitete Hunde, die mit Lokivetmab behandelt wurden, über einen Zeitraum von einem Jahr (TAMAMOTO-MOCHIZUKI et al., 2019), eine weitere neun Monate

(MOYAERT et al., 2017). Beim Vergleich der Erfolgsraten zwischen der Erst- und Langzeitbehandlung in unserer Studie ist ein Rückgang in der Behandlungseffektivität festzustellen. Der verzeichnete Rückgang in der Wirksamkeit könnte mit der Ausbildung von gegen Lokivetmab gerichteten Antikörpern zusammenhängen. Obwohl es sich bei Lokivetmab um einen caninisierten monoklonalen Antikörper handelt, bleibt sein immunogener Charakter bis zu einem gewissen Grad erhalten, wodurch folglich eine Immunantwort in den behandelten Patienten induziert werden kann (CHAIGNE und WATIER, 2015; LI et al., 2018). Möglicherweise binden sich die gegen das Lokivetmab gerichteten Antikörper an das Medikament und führen zu dessen Neutralisation, was ein Behandlungsversagen erklären würde (CHAIGNE und WATIER, 2015; XU et al., 2015). In zwei vergangenen veterinärmedizinischen Studien ist bereits der Nachweis von gegen Lokivetmab gerichteten Antikörpern gelungen, sie konnten in 2,1 – 2,5 % der atopischen Hunde gemessen werden (MICHELS et al., 2016b; MOYAERT et al., 2017). Bei einem dieser Hunde wurde gleichzeitig von einer reduzierten Wirksamkeit berichtet, was ebenfalls im Zusammenhang mit den vorhandenen Antikörpern gegen Lokivetmab stehen könnte (MOYAERT et al., 2017). In einer anderen Publikation wurde bei 2,6 % der allergischen Hunde ein Wirkverlust nach der zweiten Gabe von Lokivetmab beschrieben, auf eine dritte Lokivetmab-Injektion reagierte einer der Hunde mit Lethargie (SOUZA et al., 2018). Leider wurde der Antikörperspiegel gegen Lokivetmab in den betroffenen Hunden nicht gemessen, sodass keine sichere Aussage über das Vorhandensein getroffen werden kann. Interessanterweise waren die Erfahrungen in unserer Studie ähnlich, denn Hund Nummer 102 verzeichnete nach seiner zwölften Lokivetmab-Anwendung nicht nur einen Wirkverlust, sondern war laut Aussage seiner Besitzer auch lethargisch. In der schon erwähnten neunmonatigen Feldstudie bildeten alle betroffenen Hunde die Antikörper gegen Lokivetmab bereits in den ersten drei Behandlungsmonaten aus (MOYAERT et al., 2017). Nach einer einzigen Lokivetmab-Injektion konnte allerdings noch keine behandlungsbedingte Immunogenität festgestellt werden (MICHELS et al., 2016a). Wir konnten mit unseren Studienergebnissen anhand der Kaplan-Meier Kurve aufzeigen, dass mit zunehmender Therapiedauer die Wahrscheinlichkeit eines Behandlungsversagens von Lokivetmab sinkt, selbst wenn der beschriebene Rückgang mittels logistischer Regression keine statistische Signifikanz erreichte. Kürzlich wurde eine Laborstudie zur Sicherheit von Lokivetmab veröffentlicht, in

der gesunde Laborhunde sieben aufeinanderfolgende monatliche Dosen Lokivetmab erhielten (KRAUTMANN et al., 2023). Im Rahmen dieser Studie konnten allerdings keinerlei Anzeichen von Immunogenität beobachtet werden, jedoch wurden auch hier keine Antikörperspiegel gemessen. In Anbetracht aller aufgeführten Studienergebnisse ist festzustellen, dass die klinische Relevanz der Antikörper gegen Lokivetmab noch immer nicht vollständig geklärt ist und weitere prospektive Langzeitstudien in diesem Zusammenhang benötigt werden.

Neben der behandlungsinduzierten Immunogenität als Reaktion auf einen therapeutischen monoklonalen Antikörper ist als weiterer Grund für ein Therapieversagen der aufkommende Juckreiz aufgrund einer vorliegenden Sekundärinfektion in Betracht zu ziehen. Der Einsatz von Lokivetmab hat sich in der Vergangenheit als wirksamer in der Kontrolle von allergischem Juckreiz gezeigt als in der Kontrolle von entzündlichen Hautläsionen (MICHELS et al., 2016a; MOYAERT et al., 2017; TAMAMOTO-MOCHIZUKI et al., 2019). Hautläsionen bei atopischen Hunden treten häufig in Kombination mit Sekundärinfektionen auf, allerdings können Sekundärinfektionen auch ohne für das Auge sichtbare Hautläsionen vorhanden sein und den vorhandenen Juckreiz verstärken (GRIFFIN und DEBOER, 2001; BIZIKOVA et al., 2015). Daher ist eine regelmäßige zytologische Kontrolle bei atopischen Hunden essenziell. Während der weiterführenden Behandlung unserer Studienpatienten beim Haustierarzt wurde dies allerdings nicht optimal durchgeführt. In den seltensten Fällen wurde eine Hautzytologie genommen, während gleichzeitig die topische Therapie nicht konsequent weitergeführt wurde. Darüber hinaus wurden die empfohlenen vierwöchigen Kontrolltermine von den Patientenbesitzern oftmals zu spät oder gar nicht wahrgenommen, sodass das Injektionsintervall von Lokivetmab in unserem Studienzeitraum von 19 bis 409 Tagen reichte. Infolgedessen kam es möglicherweise zur Entwicklung von Hautläsionen und Sekundärinfektionen während der Allergieschübe, die mit Lokivetmab allein nicht mehr unter Kontrolle zu bringen waren und ein vermeintliches Therapieversagen erklären könnten. Nichtsdestotrotz muss in diesem Zusammenhang erwähnt werden, dass nicht jede Verzögerung der Behandlung nachteilig ist, da die Wirkungsdauer von Lokivetmab je nach Patienten und Jahreszeit geringfügig variiert. In einer Studie hemmte eine Injektion von Lokivetmab in einer Dosierung von 2 mg/kg den Juckreiz beispielsweise für bis zu 42 Tage (FLECK et al., 2021).

Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem anfänglichen oder langfristigen Behandlungsergebnis und einem der untersuchten Faktoren festgestellt, einschließlich der Art der AD (lebensmittel- oder umweltbedingt), des Alters bei der erstmaligen Verabreichung von Lokivetmab, der Chronizität der Erkrankung, der verwendeten Dosierung und dem Vorhandensein von Sekundärinfektionen am Tag der ersten Injektion von Lokivetmab. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit einer früheren Studie, in der ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem initialen Behandlungserfolg und anderen Faktoren ermittelt wurde (SOUZA et al., 2018). Unsere Studiendaten zeigten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Dosierung von Lokivetmab und dem Behandlungserfolg. Das entspricht den Ergebnissen der soeben genannten Studie, in der festgestellt wurde, dass die Verabreichung von höheren Lokivetmab Dosen nicht die Wahrscheinlichkeit eines Behandlungserfolgs erhöht hat (SOUZA et al., 2018). Daraus lässt sich ableiten, dass die Anwendung höherer Dosen von Lokivetmab keinen zusätzlichen Nutzen für unsere atopischen Patienten zu bieten scheint, auch nicht im Falle eines Therapieversagens. Die Tatsache, dass das Vorhandensein von Sekundärinfektionen am Tag der ersten Injektion von Lokivetmab keinen signifikanten Einfluss auf den initialen Behandlungserfolg hatte, kann sehr wahrscheinlich auf die gleichzeitige Verabreichung anderer Medikamente zurückgeführt werden. Hunde, bei denen Sekundärinfektionen diagnostiziert wurden, erhielten eine topische antimikrobielle Therapie, um das Behandlungsergebnis zu optimieren. Auch die Art der AD hatte keinen Einfluss auf das Behandlungsergebnis, sodass sich Lokivetmab folglich als praktikable langfristige Behandlungsoption für jeden Hund eignet, bei dem der Verdacht auf eine Allergie besteht. Dies gewinnt insbesondere dann an Bedeutung, wenn die Tierhalter nicht dazu gewillt sind eine umfassende und langwierige Allergieaufarbeitung durchzuführen. Ähnlich verhielt es sich mit dem Alter zum Zeitpunkt der erstmaligen Verabreichung von Lokivetmab und der Chronizität der Erkrankung. Beide Faktoren beeinflussten das Behandlungsergebnis nicht. Dies deutet darauf hin, dass sich das Zytokinprofil von Hunden im Laufe der Jahre nicht verändert hat, woraus sich schlussfolgern lässt, dass Lokivetmab eine praktikable Behandlungsoption für Hunde aller Altersgruppen und Allergiestadien darstellt. Große prospektive Studien sollten diese Ergebnisse und Folgerungen überprüfen und gegebenenfalls bestätigen.

In vergangenen Studien erwies sich Lokivetmab nicht nur bei einmaliger Verabreichung innerhalb von 28 Tagen als sicher (VAN BRUSSEL et al., 2021), sondern auch in einer klinischen Studie mit monatlichen Injektionen über bis zu neun Monate (MOYAERT et al., 2017). In einer kürzlich veröffentlichten Laborstudie zur Sicherheit von Lokivetmab, bei der 24 gesunden Laborhunden über sieben aufeinanderfolgende Monate eine Dosis von bis zu 10 mg/kg verabreicht wurde, zeigte sich Lokivetmab ebenfalls als gut verträglich (KRAUTMANN et al., 2023). Die meisten der innerhalb unseres Studienzeitraums verzeichneten Nebenwirkungen wie gastrointestinale Symptome, Anorexie und Lethargie waren sehr mild und stimmen mit anderen in der Literatur zu findenden Publikationen überein (MICHELS et al., 2016a; MICHELS et al., 2016b; SOUZA et al., 2018). Interessanterweise entwickelten zwei unserer Studienpatienten unspezifische Hautausschläge, über die zuvor noch nicht berichtet worden war. Bei einem Hund trat innerhalb eines Monats nach der ersten Lokivetmab-Injektion eine multifokale krustige Dermatitis auf, deren Biopsieergebnisse mit einer Medikamentenreaktion vereinbar waren. Die Diagnose wurde jedoch aus ethischen Gründen nicht durch eine erneute Verabreichung von Lokivetmab bestätigt. Lokivetmab führte bei diesem Hund zu einem starken Rückgang des pVAS-Scores von 9 auf 2, dennoch entschieden sich die Besitzer die Therapie abubrechen. Stattdessen wurde Oclacitinib verabreicht, was nicht nur zum Abheilen der multifokalen Krusten, sondern auch zu einer anhaltenden Verringerung des Juckreizes führte. Bei einem zweiten Hund zeigte sich innerhalb von 30 Minuten nach der Verabreichung von Lokivetmab durch den behandelnden Haustierarzt ein pustulöser Ausschlag. Ob es sich dabei um eine akute Medikamentenreaktion oder um den Nachweis einer zuvor nicht beobachteten bakteriellen Infektion handelte ist unklar, da keine zytologischen Proben entnommen wurden. Die perakute Entwicklung ist jedoch untypisch für eine bakterielle Pyodermie. Außerdem behandelte der Haustierarzt den pustulösen Ausschlag erfolgreich mit Prednisolon, wodurch eine Medikamentenreaktion möglich erscheint. Weitere und größere Studien sind notwendig, um auch selten auftretende Nebenwirkungen von Lokivetmab zu erfassen und genauer zu untersuchen.

Die größte Limitierung unserer zweiten Studie war ihr retrospektiver Charakter. Die Studiendaten wurden aus Patientenakten und Aussagen der Besitzer abgerufen, die aktiv kontaktiert wurden und nicht prospektiv in einer standardisierten Weise

erfasst. Dementsprechend waren die Injektionsintervalle von Lokivetmab nicht einheitlich und unterschieden sich zum Teil stark voneinander. Dies kann gleichzeitig als Vorteil ausgelegt werden, da reale Feldbedingungen repräsentiert wurden. Neben den erfassten Studiendaten wäre es von besonderem Interesse gewesen, den Antikörperspiegel gegen Lokivetmab zu quantifizieren, nicht nur bei Hunden mit Behandlungsversagen, sondern auch bei Langzeitpatienten mit mehr als zehn Lokivetmab-Injektionen, um weitere Aussagen über möglicherweise vorhandene Antikörper gegen Lokivetmab und deren klinische Relevanz treffen zu können.

Zusammenfassend hat sich Lokivetmab innerhalb dieser Studie als eine wirksame und sichere Behandlungsoption für die langfristige Anwendung bei caniner AD unter Feldbedingungen bewährt. Die Verabreichung höherer Dosen von Lokivetmab schien keinen zusätzlichen Nutzen für unsere atopischen Patienten zu bewirken. Aus diesem Grund raten wir davon ab Hunde, die nicht oder nicht mehr auf Lokivetmab angesprochen haben, mit höheren Dosierungen zu therapieren. Ob eine behandlungsinduzierte Immunogenität durch die Verabreichung von höheren Dosierungen verstärkt hervorgerufen wird und wie es sich mit der genauen klinischen Relevanz der ausgebildeten Antikörper gegen Lokivetmab verhält, bedarf weiterer Studien. Patienten mit futtermittelinduzierter AD sprachen ähnlich gut auf die Behandlung mit Lokivetmab an wie Patienten mit umweltinduzierter AD, woraus abzuleiten ist, dass Lokivetmab eine gute Therapieoption für alle Hunde darstellt, deren Allergie nicht aufgearbeitet worden ist. Weder das Alter bei der ersten Verabreichung von Lokivetmab noch die Chronizität der Erkrankung hatten einen Einfluss auf das Behandlungsergebnis. Folglich kann Lokivetmab als langfristige Behandlungsoption für Hunde aller Altersgruppen und Allergiestadien angesehen werden. Um einen langfristigen Behandlungserfolg zu sichern, empfehlen wir den Besitzern regelmäßige Kontrolluntersuchungen samt Zytologieproben beim Tierarzt wahrzunehmen, um mögliche Sekundärinfektionen auszuschließen oder wenn notwendig, zeitgleich zu Lokivetmab zu therapieren. Im Rahmen dieser Studie konnte gezeigt werden, dass ein Wirkverlust von Lokivetmab immer unwahrscheinlicher wurde, je länger die Patienten behandelt wurden. Nebenwirkungen durch Lokivetmab sind innerhalb des Studienzeitraums aufgetreten und somit möglich, waren aber selten und reversibel.



## VI. ZUSAMMENFASSUNG

### **Kreuzreagierende Kohlenhydratbestandteile bei atopischen und gesunden Hunden und ihr Einfluss auf die Spezifität von Allergietests**

Die Auswahl geeigneter Allergene für die Immuntherapie bei atopischen Hunden erfolgt in vielen Fällen auf Grundlage von Serumallergietests. Kreuzreaktive Kohlenhydratdeterminanten (CCDs) sind häufige Strukturen in Pflanzen- und Insektenallergenen, die Berichten zufolge Polysensibilisierungen hervorrufen, die Übereinstimmung zwischen Intrakutan- und Serumallergietests verringern und dadurch die Allergenauswahl erschweren. Das Hauptziel dieser Studie war es, den Einfluss von CCD-spezifischen IgE Antikörpern (Anti-CCD-IgE Antikörper) auf die Übereinstimmung zwischen Intrakutan- und Serumallergietests für allergenspezifisches IgE bei atopischen Hunden zu bewerten. Darüber hinaus wurde die Polysensibilisierung gegen Pflanzen- und Insektenallergene vor und nach der Hemmung von Anti-CCD-IgE Antikörpern in atopischen und gesunden Hundeseren bestimmt. Vierunddreißig Hunde wurden mit diagnostizierter atopischer Dermatitis und zehn gesunde Hunde in die Studie eingeschlossen. Bei atopischen Hunden wurde ein Intrakutantest durchgeführt, und Serumproben von allergischen und gesunden Hunden wurden auf allergenspezifisches IgE vor und nach der Hemmung nachweisbarer Anti-CCD-IgE Antikörper analysiert. Anti-CCD-IgE Antikörper wurden bei keinem der gesunden Hunde nachgewiesen, und es wurde auch keine Polysensibilisierung gegen Pflanzen- und Insektenallergene festgestellt. Die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des Intrakutan- und des Serumallergietests bei den atopischen Hunden mit Anti-CCD-IgE Antikörpern verbesserte sich nach der Blockierung der Anti-CCD-IgE Antikörper von gering auf mäßig. Darüber hinaus verringerte die Blockierung die Polysensibilisierungen gegen Pflanzenallergene deutlich, nicht aber gegen Insektenallergene. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Hemmung von Anti-CCD-IgE Antikörpern für die Verbesserung der Spezifität von Serumallergietests auf allergenspezifisches IgE in Bezug auf Intrakutantests bei atopischen Hunden von Bedeutung zu sein scheint.

**Langzeitanwendung von Lokivetmab bei Hunden mit atopischer Dermatitis**

Lokivetmab ist ein caninisierte monoklonaler Antikörper gegen Interleukin-31 (IL-31), der sich als wirksame Therapie bei Hunden mit atopischer Dermatitis (AD) erwiesen hat. Das Ziel dieser Studie war es die Wirksamkeit und Sicherheit von Lokivetmab unter Langzeitanwendung bei Hunden mit AD unter Feldbedingungen zu untersuchen, wobei die Langzeitanwendung als mindestens drei aufeinanderfolgende Lokivetmab-Injektionen definiert wurde. Zusätzlich sollte überprüft werden, ob bestimmte Faktoren wie die Art der AD (lebensmittel- oder umweltbedingt), das Alter bei der erstmaligen Verabreichung von Lokivetmab, die Chronizität der Erkrankung, die verwendete Dosierung und das Vorhandensein von Sekundärinfektionen am Tag der ersten Injektion von Lokivetmab einen Einfluss auf das anfängliche und/oder das langfristige Behandlungsergebnis haben. Des Weiteren wurden alle im Verlauf der Studie beobachteten Nebenwirkungen erfasst. Insgesamt wurden 150 Hunde mit AD in diese Studie inkludiert. Die Krankenakten der mit Lokivetmab behandelten Hunde wurden eingesehen und falls erforderlich wurden die Besitzer und/oder Haustierärzte kontaktiert. Ein Rückgang in der Juckreizskala (Pruritus Visual Analogue Scale, pVAS) um  $\geq 2$  oder ein pVAS-Score  $\leq 2$  nach der Behandlung wurde als Behandlungserfolg gewertet. Lokivetmab führte bei langfristiger Anwendung zu einer signifikanten Verringerung des pVAS-Scores ( $p < 0,01$ ), die Erfolgsquote unter Langzeitanwendung betrug 77 %. Die Wahrscheinlichkeit eines Behandlungsversagens nahm mit zunehmender Behandlungsdauer ab. Es konnte kein Einfluss der untersuchten Faktoren auf das Behandlungsergebnis festgestellt werden. Bei zwölf Hunden (8 %) traten Nebenwirkungen wie gastrointestinale Symptome oder Lethargie auf. Lokivetmab scheint somit eine wirksame und sichere Langzeitbehandlung für Hunde mit AD zu sein. Basierend auf dieser Studie sind Nebenwirkungen möglich, treten jedoch selten auf und sind reversibel.

## VII. SUMMARY

### **Cross-reactive carbohydrate determinants in atopic and healthy dogs and their influence on allergy test specificity**

The selection of appropriate allergens for immunotherapy in atopic dogs is frequently based on serum allergy testing. Cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) are common structures in plant and insect allergens that have been reported to cause polysensitisation, reduce the agreement between intradermal and serum allergy tests and thereby complicate allergen selection. The main objective of this study was to evaluate the influence of CCD-specific IgE antibodies (anti-CCD-IgE antibodies) on the agreement between intradermal and serum allergy tests for allergen-specific IgE in atopic dogs. In addition, polysensitisation to plant and insect allergens was determined before and after inhibition of anti-CCD-IgE antibodies in atopic and healthy dog sera. Thirty-four dogs diagnosed with atopic dermatitis and ten healthy dogs were included in this study. An intradermal test was conducted in atopic dogs, and serum samples from allergic and healthy dogs were analysed for allergen-specific IgE before and after inhibition of detectable anti-CCD-IgE antibodies. Anti-CCD-IgE antibodies were not found in any of the healthy dogs, and no polysensitisation to plant and insect allergens was detected. The agreement between intradermal and serum allergy test results in the atopic dogs with anti-CCD-IgE antibodies improved from slight to fair after blocking the anti-CCD-IgE antibodies. In addition, blocking clearly reduced polysensitisation to plant allergens, but not to insect allergens. In conclusion, inhibition of anti-CCD-IgE antibodies appears to be of importance for improving the specificity of serum allergy tests for allergen-specific IgE in relation to intradermal allergy tests in atopic dogs.

### **Long-term use of lokivetmab in dogs with atopic dermatitis**

Lokivetmab is a caninised monoclonal antibody targeting interleukin-31 (IL-31) and has demonstrated to be an effective therapy in dogs with atopic dermatitis (AD). The objective of this study was to investigate the efficacy and safety of lokivetmab as long-term treatment defined as receiving at least three consecutive lokivetmab injections in dogs with AD under field conditions. In addition, the aim was to assess

whether individual factors such as the type of AD (food- or environmentally induced), the age at which lokivetmab was first administered, the disease chronicity, the dosage used, and the presence of secondary infections on the day of the initial lokivetmab injection had an impact on the initial and/or long-term treatment outcome. Any adverse events observed throughout the study period were recorded. A total of 150 dogs with AD were included in this study. The medical records of the dogs treated with lokivetmab were reviewed and owners and/or veterinarians were contacted as necessary for follow-up. A reduction of the pruritus Visual Analogue Scale (pVAS) score by  $\geq 2$  or a pVAS score  $\leq 2$  after treatment were considered a treatment success. Lokivetmab resulted in a significant reduction of the pVAS score with long-term use ( $p < 0.01$ ), the success rate with long-term use was 77%. The probability of treatment failure decreased with an increasing duration of treatment. No influence of the investigated factors on the treatment outcome could be determined. Adverse events such as gastrointestinal symptoms or lethargy occurred in twelve dogs (8 %). In summary, lokivetmab appears to be an effective and safe long-term treatment for dogs with AD. According to this study, adverse events are possible but infrequent and reversible.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142: 99-115.

Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int* 2016; 25: 98-105.

Bexley JT, Kingswell NJ, Halliwell REW. Inhibition of canine serum IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants in environmental allergens. *Vet Dermatol* 2018; 29: 357.

Bizikova P, Santoro D, Marsella R, Nuttall T, Eisenschenk MNC, Pucheu-Haston CM. Clinical and histological manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 79-e24.

Brehmer Y, Li S-C, Müller V (2007) Memory plasticity across the lifespan : uncovering children's latent potential. S. 465-78

Canning P, Brame B, Stefanovski D, Lee KW, Cain CL, Rook K, Morris DO. Multivariable analysis of the influence of cross-reactive carbohydrate determinant inhibition and other factors on intradermal and serological allergen test results: a prospective, multicentre study. *Vet Dermatol* 2021;

Chaigne B, Watier H. Monoclonal antibodies in excess: A simple way to avoid immunogenicity in patients? *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 814-6.

Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD, Woodfolk JA, Platts-Mills TAE. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- $\alpha$ -1, 3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 426-33. e2.

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, 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.

Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld-Franklin M, Presnell SR, Haugen HS, Maurer M, Harder B, Johnston J. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol* 2004; 5: 752-60.

Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 137-44.

Faye L, Chrispeels MJ. Common antigenic determinants in the glycoproteins of plants, molluscs and insects. *Glycoconj J* 1988; 5: 245-56.

Faye L, Gomord V, Fitchettelaine AC, Chrispeels MJ. Affinity purification of antibodies specific for Asn-linked glycans containing  $\alpha 1 \rightarrow 3$  fucose or  $\beta 1 \rightarrow 2$  xylose. *Anal Biochem* 1993; 209: 104-8.

Fischer J, Hebsaker J, Caponetto P, Platts-Mills TAE, Biedermann T. Galactose- $\alpha$ -1, 3-galactose sensitization is a prerequisite for pork-kidney allergy and cofactor-related mammalian meat anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 755-9. e1.

Fleck TJ, Norris LR, Mahabir S, Walters RR, Martinon O, Dunham SA, Gonzales AJ. Onset and duration of action of lokivetmab in a canine model of IL-31 induced pruritus. *Vet Dermatol* 2021; 32: 681-e182.

Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JLN, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ -based

assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 93: 51-60.

Frenkel M, Frye A, Heliker D, Finkle T, Yzaguirre D, Bulik R, Sierpina V. Lessons learned from complementary and integrative medicine curriculum change in a medical school. *Med Educ* 2007; 41: 205-13.

Galili U, Shohet SB, Kobrin E, Stults CL, Macher BA. Man, apes, and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells. *J Biol Chem* 1988; 263: 17755-62.

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

Gedon NKY, Boehm TMSA, 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.

Gober M, Hillier A, Vasquez-Hidalgo MA, Amodie D, Mellencamp MA. Use of Cytopoint in the Allergic Dog. *Front Vet Sci* 2022; 9

Gortel K. An embarrassment of riches: an update on the symptomatic treatment of canine atopic dermatitis. *Can. Vet. J.* 2018; 59: 1013.

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.

Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 3: 207-8.

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

11: 196.

Hill PB, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol* 2007; 18: 301-8.

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

Hodžić A, Mateos-Hernández L, Leschnik M, Alberdi P, Rego ROM, Contreras M, Villar M, De La Fuente J, Cabezas-Cruz A, Duscher GG. Tick bites induce anti- $\alpha$ -Gal antibodies in dogs. *Vaccine* 2019; 7: 114.

Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W, Altmann F. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy* 2013; 68: 1269-77.

Jin C, Hantusch B, Hemmer W, Stadlmann J, Altmann F. Affinity of IgE and IgG against cross-reactive carbohydrate determinants on plant and insect glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 185-90. e2.

Kraft W. Säure-Base-Haushalt. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin* 5. Aufl edn: 1999: 166-8.

Krautmann M, Walters RR, King VL, Esch K, Mahabir SP, Gonzales A, Dominowski PJ, Sly L, Mwangi D, Foss DL. Laboratory safety evaluation of lokivetmab, a canine anti-interleukin-31 monoclonal antibody, in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2023; 258: 110574.

Lee KW, McKinney BH, Blankenship KD, Morris DO. Detection and Inhibition of IgE for cross-reactive carbohydrate determinants evident in an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of allergen-specific IgE in the sera of dogs and cats. *Vet Dermatol* 2020; 31: 439-e116.

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.

Li M, Li H, Gao K, Wang M, An W, Zhu Y, Ding L, Wang L, Gu J, Zuo C. A simple and cost-effective assay for measuring anti-drug antibody in human patients treated with Adalimumab. *J Immunol* 2018; 452: 6-11.

Linek M, Favrot C. Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Vet Dermatol* 2010; 21: 456-62.

Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes--classification, cross-reactivity, and clinical impact. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2005; 37: 122-8.

Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Di Felice G, Pini C. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1005-11.

Mari A, Ooievaar-de Heer P, Scala E, Giani M, Pirrotta L, Zuidmeer L, Bethell D, Van Ree RJA. Evaluation by double-blind placebo-controlled oral challenge of the clinical relevance of IgE antibodies against plant glycans. *Allergy* 2008; 63: 891-6.

Marsella R. Atopic Dermatitis in Domestic Animals: What Our Current Understanding Is and How This Applies to Clinical Practice. *Vet Sci* 2021a; 8: 124.

Marsella R. Advances in our understanding of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021b; 32: 547-e151.

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*

2016a; 27: 478-e129.

Michels GM, Walsh KF, Kryda KA, Mahabir SP, Walters RR, Hoeyers 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* 2016b; 27: 505-e136.

Mohammaddavoodi A, Christian M, Müller E, Panakova L, Burgener I, Wagner R. Prevalence of immunoglobulin E against cross-reactive carbohydrate determinants and the impact of a blocker in canine sera. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2021;

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.

Noli C. Assessing quality of life for pets with dermatologic disease and their owners. *Vet. Clin. N. Am. - Small Anim. Pract.* 2019; 49: 83-93.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res* 2015; 11: 1-15.

Owczarczyk K, Lal P, Abbas AR, Wolslegel K, Holweg CT, Dummer W, Kelman A, Brunetta P, Lewin-Koh N, Sorani M. A plasmablast biomarker for nonresponse to antibody therapy to CD20 in rheumatoid arthritis. *Science translational medicine* 2011; 3: 101ra92-ra92.

Papp KA, Langley RG, Lebwohl M, Krueger GG, Szapary P, Yeilding N, Guzzo C, Hsu M, Wang Y, Li S. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). *The Lancet*

2008; 371: 1675-84.

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

Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Eisenschenk MNC, Santoro D, Nuttall T, Marsella R. The role of antibodies, autoantigens and food allergens in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015a; 26: 115-e30.

Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Marsella R, Santoro D, Nuttall T, Eisenschenk MNC. Lymphocytes, cytokines, chemokines and the T-helper 1–T-helper 2 balance in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015b; 26: 124-e32.

Rybníček J, Lau-Gillard PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol* 2009; 20: 115-22.

Saleem MD, Oussedik E, D’Amber V, Feldman SR. Interleukin-31 pathway and its role in atopic dermatitis: a systematic review. *J Dermatolog Treat* 2017; 28: 591-9.

Santoro D, Marsella R, Pucheu-Haston CM, Eisenschenk MNC, Nuttall T, Bizikova P. 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.

Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 278-87.

Souza CP, Rosychuk RAW, Contreras ET, Schissler JR, Simpson AC. A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Vet Dermatol* 2018; 29: 489-e164.

Stadler O. Einführung der Klinischen Rotation in das Curriculum der Tiermedizinischen Fakultät LMU München. GMA 2007;

Szczepanik MP, Popiel J, Cekiera A, Pomorska-Handwerker D, Karaś-Tęcza J, Ścisławska M, Oczkowska K, Taube M, Olender V, Parys P. Evaluation of the clinical efficiency of lokivetmab in client privately owned atopic dogs—multicenter study. *Pol J Vet Sci* 2020; 191-5--5.

Tamamoto-Mochizuki C, Paps JS, Olivry T. Proactive maintenance therapy of canine atopic dermatitis with the anti-IL-31 lokivetmab. Can a monoclonal antibody blocking a single cytokine prevent allergy flares? *Vet Dermatol* 2019; 30: 98-e26.

Van Brussel L, Moyaert H, Escalada M, Mahabir SP, Stegemann MR. A masked, randomised clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to saline control in client-owned dogs with allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021; 32: 477-e131.

Vidal C, Sanmartín C, Armisén M, Rodríguez V, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Minor interference of cross-reactive carbohydrates with the diagnosis of respiratory allergy in standard clinical conditions. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157: 176-85.

Villforth Y. Krankheiten und Todesursachen von Greifen und Eulen. *Diss. med. vet.* 1995.

Wilhem S, Kovalik M, Favrot C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 22: 143-9.

Xu Z, Davis HM, Zhou H. Clinical impact of concomitant immunomodulators on biologic therapy: pharmacokinetics, immunogenicity, efficacy and safety. *J Clin Pharmacol* 2015; 55: S60-S74.

Yokoi H, Yoshitake H, Matsumoto Y, Kawada M, Takato Y, Shinagawa K, Sakurai

---

H, Saito K. Involvement of cross-reactive carbohydrate determinants-specific IgE in pollen allergy testing. *Asia Pac Allergy* 2017; 7: 29-36.

Zhang Q, Putheti P, Zhou Q, Liu Q, Gao W. Structures and biological functions of IL-31 and IL-31 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 347-56.



## IX. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. Ralf S. Müller. Lieber Ralf, ich möchte mich herzlich für deine herausragende Betreuung und unermüdliche Unterstützung in jeder Lebenslage bedanken. Deine fachliche Expertise und Hingabe haben nicht nur meine Begeisterung für die Dermatologie entfacht, sondern auch eine hervorragende fachliche und wissenschaftliche Ausbildung ermöglicht. Ich bin dankbar, dass ich in den vergangenen Jahren so viel von dir lernen durfte!

Außerdem möchte ich mich herzlich beim gesamten Team der Dermatologie für die unfassbar schöne, aber auch lehrreiche Zeit bedanken. Danke liebe Laura Udraite, Dr. Teresa Böhm, Tamara Weitzer und Katja Baumann, dass ihr mir immer mit Rat und Tat zur Seite standet und ich euch Löcher in den Bauch fragen durfte. Die gemeinsame Zusammenarbeit bleibt unvergessen! Ein großes Dankeschön geht auch an Amelie von Voigts-Rhetz und Viviane Kinnula. Ihr habt uns nicht nur vor tierischen Angreifern beschützt, sondern auch großartig im Klinikalltag unterstützt. Des Weiteren möchte ich mich bei Dr. Sonya Bettenay bedanken. Liebe Sonya, danke dafür, dass du mich mit deiner Leidenschaft zur Mikroskopie angesteckt hast und ein großes Vorbild für mich geworden bist!

Aus tiefstem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken. Eure bedingungslose Unterstützung hat es mir ermöglicht, meinen Traum zu leben und als Tierärztin diese Doktorarbeit zu schreiben. Ein besonders großer Dank gilt meiner Mutter. Danke Mama, dass du immer an mich glaubst, mir den Rücken freihältst und es schaffst mir in jeder noch so ausweglosen Situation einen guten Rat zu geben. Ein ebenso großer Dank geht an meinen Ehemann Markus. Danke, dass du immer an meiner Seite bist und mit mir jede Höhe und Tiefe des Studiums und dieser Doktorarbeit gemeistert hast. Deine positive Art und Unterstützung bei all meinen Vorhaben lassen mich über mich hinauswachsen. Mein allergrößter Dank gilt meiner Tochter Marlina. Danke, dass du mein Lichtblick geworden bist und mir zeigst, wofür es sich lohnt zu kämpfen.