

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

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Ralf Müller

Futtermittel-spezifisches IgG und IgE vor und nach Eliminationsdiäten bei allergischen Hunden

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

von
Anja Zimmer
aus Rostock

München 2012

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Müller

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

Tag der Promotion: 21. Juli 2012

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG.....	1
II	LITERATURÜBERSICHT.....	3
1.	Futterunverträglichkeit.....	3
1.1	Allergische und nicht allergische Futterunverträglichkeiten.....	4
1.2	Canine Atopische Dermatitis und Futterunverträglichkeit.....	6
1.3	Nahrungsmittelallergie und –unverträglichkeit in der Humanmedizin	8
2.	Pathogenese der Futterunverträglichkeit.....	10
2.1	Genetische Prädisposition	14
2.2	Darmbarriere.....	15
2.3	Änderung der Immuntoleranz.....	18
3.	An Futterunverträglichkeit beteiligt Antigene.....	20
4.	Klinik.....	22
5.	Diagnose.....	23
5.1	Eliminationsdiät.....	25
5.1.1	Arten der Eliminationsdiät	26
5.1.2	Provokation.....	27
5.2	Patientenbetreuung.....	28
5.3	Serologische Tests	29
6.	Therapie/ Medikation.....	30
III	FOOD ALLERGEN-SPECIFIC IGG AND IGE BEFORE AND AFTER ELIMINATION DIETS IN ALLERGIC DOGS.....	33
IV	DISKUSSION.....	53
1.	Änderung der Serumkonzentration von futtermittelspezifischem IgG und IgE in Abhängigkeit von der angebotenen Diät.....	53
2.	Atopische Dermatitis und Futtermittelreaktionen.....	55
3.	Nicht-immunologisch verursachte Futtermittelreaktionen.....	56
4.	Rolle der spezifischen Antikörper bei der Pathogenese von FAR.....	57
5.	IgG und IgE Produktion beeinflussende Faktoren.....	58

6.	Kreuzreaktionen	59
7.	Halbwertszeit von IgE.....	60
8.	Klinische Relevanz	62
V	ZUSAMMENFASSUNG	63
VI	SUMMARY	64
VII	LITERATURVERZEICHNIS.....	65
VIII	ANHANG	84
IX	DANKSAGUNG.....	86

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACVD	engl. American College of Veterinary Dermatology
AD	atopische Dermatitis
APZ	Antigen-präsentierende Zellen
BZR	B-Zell Rezeptor
bzw.	Beziehungsweise
B-Zellen	B für Bursa Fabricii- Zellen
CAD	canine atopische Dermatitis
CD 4	engl. Cluster of Differentiation 4
CD 40	engl. Cluster of Differentiation 40
DALG	Darm-assoziiertes Lymphgewebe
DBPKNP	doppelblind-placebokontrollierte Nahrungsmittelprovokation
DipACVD	engl. Diplomate, American College of Veterinary Dermatology
DipEd	Diploma of Education
Dr.med.vet.	Doktor der Veterinärmedizin
Dr.med.vet.habil.	habilitierter Doktor der Veterinärmedizin
ESVD	engl. European Society of Veterinary Dermatology
ELISA	engl. enzyme linked immunosorbent assay
FcεRI	Fc-Epsilon-Rezeptor
FU	Futterunverträglichkeit
GM-CSF	engl. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
IFN-γ	Interferon Gamma
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
Igα	Immunglobulin Alpha
Igβ	Immunglobulin Beta
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgGd	Immunglobulin Gd
IgM	Immunglobulin M
IL 1	Interleukin 1
IL 2	Interleukin 2
IL 4	Interleukin 4
IL 5	Interleukin 5

IL 6	Interleukin 6
IL 10	Interleukin 10
IL 12	Interleukin 12
IL 13	Interleukin 13
IL 15	Interleukin 15
kUA/L	Maßeinheit für Immunglobuline im Serum
kg	Kilogramm
M	Mol
MACVSc	engl. Member, Australian College of Veterinary Science
MALT	Mukosa-assoziiertes Lymphgewebe
mg	Milligramm
MHC	engl. Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
M-Zellen	M engl. microfold-Zellen
n	Anzahl
nm	Nanometer
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
sIgA	Sekretorisches Immunglobulin A
sIgM	Sekretorisches Immunglobulin M
SNP	engl. single nucleotide polymorphisms
SPINK	Geneigenname
TÄ	Tierärztin
TCR	engl. T-cell receptor
Th0	T-Helfer-0-Zellen
Th1	T-Helfer-1-Zellen
Th2	T-Helfer-2-Zellen
TNF- α .	Tumornekrosefaktor α
TReg	regulatorische T-Zellen
T-Zellen	T für Thymus-Zellen
USA	engl. United States of America
WHO	engl. World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel

I EINLEITUNG

Jede klinisch abnorme Antwort auf die Verdauung von Futter oder Futterzusatzstoffen ist nach Hillier und Griffin als Futterunverträglichkeit definiert (Hillier und Griffin, 2001). Ich werde in dieser Arbeit ebenfalls den Begriff Futterunverträglichkeit (FU) benutzen, da dieser Begriff neben den immunologisch bedingten, auch die nicht-immunologisch bedingten Reaktionen auf Futtermittel mit einschließt.

Beim Hund ist die exakte Inzidenzrate der FU unbekannt (Verlinden et al., 2006) und die Prävalenz von immunologischen und nicht-immunologischen Futtermittelreaktionen und deren Verhältnis ist unklar (Chesney, 2001).

Symptome von Futterunverträglichkeitsreaktionen beim Hund können die Haut und den Gastrointestinaltrakt betreffen. Beständiger, nicht saisonaler Pruritus ist das auffälligste Symptom der FU (White, 1986 und 1988). Juckreiz und Hautläsionen können generalisiert auftreten, sind jedoch häufig im Gesicht und an den Pfoten, perianal und ventral (axillar und inguinal) lokalisiert (White, 1986; Rosser, 1993). Eine Unterscheidung in der klinischen Erscheinungsform von atopischer Dermatitis verursacht durch Futtermittelantigene und atopischer Dermatitis verursacht durch Umweltallergene ist nicht möglich (Favrot et al., 2010; Picco et al., 2008). Die Diagnose der FU ist allerdings nach wie vor sehr aufwändig. Nach gründlicher Anamnese und dem Ausschluss aller Differentialdiagnosen erfolgt eine Eliminationsdiät für 6-8 Wochen (Rosser, 1993). Die Futterzusammensetzung für die Diät besteht aus einer dem Hund bis dahin unbekanntem Protein- und Kohlenhydratquelle (Chesney, 2002; Leistra et al., 2001; Rosser, 1993), bzw. aus einer kommerziellen Diät, basierend auf hydrolysiertem Protein (Loeffler et al., 2004; Biourge et al., 2004). Da ausschließlich dieses Futter gefüttert werden darf, ist eine gute Zusammenarbeit mit den Patientenbesitzern Voraussetzung für den Erfolg des diagnostischen Fütterungsversuches (Chesney, 2002). Nach einer Besserung der Symptome während der Diät wird das ursprüngliche Futter für maximal vierzehn Tage gegeben. Eine Besserung während der Diät und eine Verschlechterung bei Provokation mit dem ursprünglichen Futter gelten als Beweis für Futterunverträglichkeit (Rosser, 1993).

Die Pathogenese der Futtermittelunverträglichkeit ist nicht vollständig geklärt. Den Immunglobulinen, insbesondere dem IgE, wird von vielen Autoren eine große Bedeutung in der Pathogenese zugeschrieben (Halliwell und DeBoer, 2001)

Ein serologischer Test zur Messung von allergen-spezifischem IgG und IgE gegen Futterantigene im Serum hat sich in der Vergangenheit allerdings nicht als zuverlässig für die Diagnose von FU erwiesen (Mueller und Tsohalis, 1998; Jeffers et al., 1991). Eine aktuelle Studie (Schaefer et al., 2011) beschäftigt sich mit dem positiven und negativen Vorhersagewert des Epikutan-Tests (Patch-Tests) und des Serumtests. Dabei deutet die hohe Sensitivität und der hohe negative Vorhersagewert des Epikutan-Tests und zu einem geringeren Grad auch des serologischen Tests für Futtermittel-spezifische Antikörper darauf hin, dass wenn ein Antigen keine Reaktion bei diesen Tests zeigt, dieses Antigen eine gute Wahl für eine Eliminationsdiät ist (Schaefer et al., 2011). Somit können auf der Grundlage dieser Studie Bestandteile der Eliminationsdiät nach den Ergebnissen des Epikutan-Test und des serologischen Test ausgewählt werden.

Das Ziel dieser Arbeit war, den Einfluß der Eliminationsdiät auf die Serumkonzentrationen der Futtermittel-spezifischen Antikörper IgG und IgE zu bestimmen. Der Einfluss anderer Parameter, wie Geschlecht und Alter der Patienten, Alter bei Beginn der FU, Art der Eliminationsdiät, wurde zusätzlich bewertet. Erwartet wurde eine dynamische Änderung in den Serumkonzentrationen der Futtermittel-spezifischen IgG und IgE in Abhängigkeit von der angebotenen Diät.

II LITERATURÜBERSICHT

1. Futterunverträglichkeit

Futterunverträglichkeit ist nach Hillier und Griffin (2001) definiert als jede klinisch abnorme Antwort auf die Verdauung von Futter oder Futterzusatzstoffen. Futterunverträglichkeit beinhaltet sowohl Futtermittelallergie als auch Futtermittelintoleranz und kann durch zelluläre oder Immunglobulin-(Ig)E-vermittelte Mechanismen ausgelöst werden. Die Futtermittelallergie ist immunologisch bedingt, im Gegensatz zu den nicht-immunologisch bedingten Futtermittelintoleranzen oder Unverträglichkeitsreaktionen wie z.B. Futtermittelvergiftung, pharmakologische, metabolische oder idiosynkratische Reaktionen (Hillier und Griffin, 2001).

Bei den immunologisch bedingten Reaktionen auf Bestandteile des Futters handelt es sich meist um eine allergische Reaktion des Typ I, aber auch Reaktionen des Typ IV und Mischformen sind beschrieben (Prélaud, 2002; Scott, 1978). Beim Menschen sind die meisten durch Lebensmittel verursachten Reaktionen durch solche nicht-immunologischen Vorgänge bedingt (Sampson, 1999). Beim Hund ist die Prävalenz von immunologischen und nicht-immunologischen Futtermittelreaktionen und deren Verhältnis unbekannt. Ebenso wenig gibt es klare Angaben für die Prävalenz von FU in der gesamten Hundepopulation, sowie für die Prävalenz von FU bei allen Hunden mit Juckreiz, wie Chesney in seinem systematischen Überblick über die Prävalenz von Futtermittelreaktionen bei Hunden angibt (Chesney, 2001).

Die Symptome beim Hund können in Form von gastrointestinalen Problemen oder Hautveränderungen auftreten, wobei kutane Symptome sehr viel häufiger beschrieben sind als gastrointestinale Störungen, die bei etwa 10-15% der Fälle auftraten (Day, 2005).

Das Alter der Tiere beim ersten Auftreten der Symptome kann sehr stark variieren, aber viele Hunde zeigen erste klinische Symptome bevor sie ein Jahr alt sind (Kennis, 2002). In einer Studie von Leistra variierte das Alter von 7 Wochen bis zu 8 Jahren und 53% der Hunde waren beim ersten Auftreten klinischer Symptome jünger als ein Jahr (Leistra et al., 2001). Bei Rosser variiert das Alter von 4 Monaten bis zu 11 Jahren, dabei sind 33% der Hunde jünger als ein Jahr,

51% sind ein bis drei Jahre alt und 16% der Hunde sind vier bis elf Jahre alt (Rosser 1993). White gibt an, dass das Alter der Hunde bei Ausbruch der Krankheit variabel sei (White, 1986).

Von FU können grundsätzlich alle Rassen und ihre Mischlinge betroffen sein. Eine Prädisposition für bestimmte Rassen scheint aber wahrscheinlich, da von einer genetischen Prädisposition für allergische Erkrankungen ausgegangen werden kann, was im Kapitel 2.1. näher erläutert wird. Rosser berechnete für bestimmte Rassen einen relativen Risikofaktor, der sich aus der Prozentzahl an Hunden dieser Rasse aus der Gesamtgruppe mit FU und der Prozentzahl an Hunden dieser Rasse aus der Gesamtgruppe der in der Klinik vorgestellten Hunde zusammensetzte. Dabei war das relative Risiko, an FU zu erkranken, bei folgenden Rassen der Reihe nach am größten: Soft-coated Wheaten Terrier, Dalmatiner, West Highland White Terrier, Collie, Chinese Char Pei, Lhasa Apso und Cocker Spaniel, gefolgt von Zwergschnauzer, Labrador Retriever, Golden Retriever und Deutscher Schäferhund (Rosser, 1993.) Loeffler dagegen macht wegen der geringen Anzahl der Hunde mit diagnostisch bestätigter FU keine statistischen Angaben zu Alter, Rasse und Geschlecht, aber von den neun Hunden mit bestätigter FU waren zwei West Highland White Terrier und zwei Deutsche Schäferhunde (Loeffler et al., 2004). White konnte in seiner Studie keine Prädisposition für FU bei bestimmten Rassen beobachten (White, 1986). Auch Day meint, dass es wenig Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen FU und dem gehäuften Auftreten dieser Krankheit bei bestimmten Rassen gibt, gibt dazu aber keine Quellen an (Day, 2005).

Eine geschlechtliche Prädisposition für das Auftreten von FU verglichen mit der Gesamtgruppe der in der Klinik vorgestellten Hunde ist nicht zu erkennen (Leistra et al., 2001; Rosser, 1993; White, 1986).

1.1 Allergische und nicht allergische Futterunverträglichkeiten

Hillier und Griffin haben für die Arbeitsgruppe des ACVD (American College of Veterinary Dermatology) für canine atopische Dermatitis (CAD) - The ACVD Task Force on Canine Atopic Dermatitis - folgende Definitionen gefunden. Allergisch bedingte FU sind immunologisch bedingte

Unverträglichkeitsreaktionen auf Futtermittel ohne jeden Zusammenhang zu irgendeinem physiologischen Effekt des Futters oder Futterzusatzes. Nicht allergische Futterunverträglichkeiten beziehen sich auf jede abnormale Reaktion auf ein Futtermittel, von der angenommen wird, daß sie nicht immunologischer Natur ist, und können Futtermittelvergiftung, idiosynkratische, pharmakologische oder metabolische Reaktionen beinhalten (Hillier und Griffin, 2001).

Dabei ist der Nachweis einer immunologischen Reaktion nicht immer einfach. Nach Ermel können in der Humanmedizin akute IgE Reaktionen durch Intrakutantests und den RAST-Test (Radio-Allergo-Sorbent-Test) bestätigt werden, aber es gibt keinen zuverlässigen Test für nicht IgE vermittelte Reaktionen. Die IgG und IgA Antikörper gegen verschiedene Nahrungsmittel korrelieren nicht besonders eng mit den Symptomen der Krankheit. In der Humanmedizin beruht der objektive Beweis für einen immunologischen Mechanismus vorwiegend auf positiven Ergebnissen beim Intrakutantest, beim *in vitro* Test auf zelluläre Immunantwort und auf orale Provokation und das Messen von Nahrungsmittel-spezifischen Immunglobulinen im Serum (Ermel et al., 1997).

Aus der Humanmedizin stammen auch die Begriffe „extrinsische“ Form für IgE-assoziierte Dermatitis, und „intrinsische“ Form für Dermatitis ohne erhöhte IgE Konzentrationen im Serum (Werfel und Kapp, 1999). Ungefähr 20% der Patienten leiden an einer Hautkrankheit, welche klinisch den Hautläsionen und dem Verteilungsmuster von atopischer Dermatitis (AD) ähnelt, aber nicht mit erhöhten Serum IgE Konzentrationen assoziiert ist und keine Sensibilisierung auf Umwelt- oder Nahrungsmittelallergene aufweist (Wollenberg und Bieber, 2000). Marsella schreibt in ihrem Artikel über die weniger eindeutige Rolle von IgE (wie auch IgG und IgA) bei caniner AD insofern, dass das Auftreten der Krankheit nicht besonders eng mit dem Vorhandensein von allergen-spezifischem IgE oder Allergenexpression korreliert (Marsella und Olivry, 2003). Lian und Halliwell haben allergen-spezifisches IgE und IgGd Antikörper bei atopischen und normalen Hunden untersucht. Bei gesunden Hunden ohne AD, die dem Allergen ausgesetzt waren, war zirkulierendes IgE nachweisbar, ohne dass diese Hunde jedoch klinische Symptome entwickelten (Lian und Halliwell, 1998). Ähnlich der humanen intrinsischen AD (Werfel und Kapp, 1999) können Hunde mit klassischen klinischen Symptomen von AD in umgekehrter Weise einen

negativen Intrakutantest und/ oder allergen-spezifischen IgE Wert im Serum aufweisen (Marsella und Olivry, 2003). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Fraser überein, welcher mit seiner Studie zeigen konnte, dass Hunde eine weite Bandbreite von totalen IgE Konzentrationen im Serum haben und es nicht möglich war, atopische Hunde von nicht-atopischen Hunden auf der Basis ihrer totalen IgE Serumkonzentration zu differenzieren. Somit ist die totale IgE-Serumkonzentration nicht für die Diagnose von CAD geeignet (Fraser et al., 2003).

Da in der Praxis allergische und nicht allergische Futterunverträglichkeiten sich sowohl in der Klinik, als auch in der Diagnose und Therapie nicht unterscheiden, ist die Frage nach dem pathologisch-immunologisch unterschiedlichen Hintergrund der FU für den Praktiker in den meisten Fällen sicherlich nicht relevant.

1.2 Canine atopische Dermatitis und Futterunverträglichkeit

Der Artikel von Olivry unterstützt die Reevaluierung der historischen und nosologischen Trennung von caniner atopischer Dermatitis und sich kutan manifestierender Futterunverträglichkeit. Die internationale Arbeitsgruppe für canine atopische Dermatitis (International Task Force on Canine AD) unterstützt das Konzept, dass sich Futtermittelunverträglichkeit bei einigen Hunden als atopische Dermatitis manifestieren kann, oder mit anderen Worten, dass bei Hunden die gegenüber bestimmten Futtermittelkomponenten hypersensibel sind, diese das Aufflackern von AD auslösen könnten (Olivry et al., 2007).

Es gibt einige Studien, die diese Aussage unterstützen. Zwei Studien wurden an der North Carolina State University durchgeführt, wo atopische Beagle-Malteser Mischlinge Symptome von CAD entwickelten, nachdem sie eine orale Provokationsdiät mit Nahrungsmittelbestandteilen erhielten, auf die sie spontan allergisch reagierten (Jackson et al., 2003; Jackson und Hammerberg, 2002). Olivry zitiert auch Foster und Halliwell, in deren Studien Hunde mit AD oft hohe Level von allergenspezifischem-IgE gegen Futtermittel entwickelten (Foster et al., 2003 und Halliwell et al., 2005). In einer Reihe von Studien (Rosser, 1993; Harvey, 1993; Carlotti et al, 1990; White, 1986) wies ein variabler Anteil der

Patienten mit FU klinische Symptome auf, die den Symptomen der atopischen Dermatitis glichen. Picco und Favrot konnten mittlerweile nachweisen, dass eine Unterscheidung in der klinischen Erscheinungsform von atopischer Dermatitis verursacht durch Futtermittelantigene und atopischer Dermatitis verursacht durch Umweltallergene nicht möglich ist (Favrot et al., 2010; Picco et al., 2008). Lediglich die Behandlung mit Glucokortikoiden ist weniger oft erfolgreich bei AD bedingt durch Futtermittel (Favrot et al., 2010; Chesney, 2001) und das Alter beim ersten Auftreten der Symptome ist etwas früher oder später, als bei AD verursacht durch Umweltallergene (Favrot et al., 2010).

Olivry erwähnt den möglichen Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer IgE Hypersensibilisierung gegen Vorratsmilben und der Ausbildung von AD durch Vorratsmilben in unzureichend gelagertem Hundetrockenfuttermittel (Olivry et al., 2007). Die orale Applikation von Dermatophagoides (Haustaubmilben) Extrakt an hochgradig IgE produzierende und auf Haustaubmilben sensibilisierte Beagle induzierte Symptome von AD, allerdings weniger deutlich als bei kutaner Applikation (Marsella et al., 2006). In einer Studie von Henneveld über Milbenkontamination im Hundefutter, lag allerdings in keiner der untersuchten Proben ein Hinweis auf eine Kontamination mit Vorratsmilben vor. Die negativen Ergebnisse gelten sowohl für die über einen Zeitraum von bis zu sechs Wochen untersuchten Proben als auch für die acht Proben aus alten Futterresten (Henneveld et al., 2007).

In der Humanmedizin gilt das frühe Auftreten (in der Kindheit) einer Hypersensitivität gegenüber Lebensmittelallergenen als Marker für die sich später entwickelnde atopische Dermatitis (Yunginger et al., 2000).

Nickel beschreibt in seiner Studie einen Zusammenhang zwischen der Sensibilisierung von Kindern gegen Nahrungsmittelallergene, und der späteren Ausbildung einer Sensibilität für Aeroallergene. Wenn ein Kind eine für Allergien positive Familiengeschichte und mit 12 Monaten einen Ei-spezifischen IgE Level über 2 kUA/L vorwies, dann war die positive Wahrscheinlichkeit 78% und die Spezifität 99% für die Entwicklung einer Sensibilität auf Aeroallergene im Alter von drei bis 10 Jahren (Nickel et al., 1997).

Doppelblind-placebokontrollierte orale Nahrungsmittelprovokationen ergaben bei vielen Menschen mit AD, besonders bei Kindern, positive Ergebnisse

(Niggemann et al., 1999). Außerdem lösten Nahrungsmittelbestandteile bei solchen hypersensibilisierten Patienten oft Rückfälle von AD aus (Pourpak et al., 2004).

1.3 Nahrungsmittelallergie und –unverträglichkeit in der Humanmedizin

In der Humanmedizin wird, wie in der Tiermedizin zwischen immunologischen und nicht-immunologisch vermittelten Reaktionen auf Nahrungsmittel unterschieden. Zu den nicht-immunologisch bedingten Reaktionen gehören z.B. enzymatische Defizite oder Defizite beim Transport, wie z.B. Laktasemangel oder Glucose/ Galactose Malabsorption (Helm und Burks, 2000). Wenn in Folge von einer Nahrungsmittelallergie die Rede ist, ist eine immunologisch bedingte, IgE vermittelte Reaktion auf Nahrungsmittel gemeint.

Eine limitierte Anzahl an Nahrungsmitteln ist für die Mehrheit der durch Nahrungsmittel induzierten, allergischen Reaktionen beim Menschen verantwortlich. Dazu gehören Erdnüsse, Nüsse, Kuhmilch, Eier, Weizen, Fisch und Meeresfrüchte (Kimber und Dearman, 2002; Sampson, 1999). Bei kleinen Kindern sind Kuhmilch, Eier, Erdnüsse, Soja und Weizen für annähernd 90% der Überempfindlichkeitsreaktionen verantwortlich, bei Jugendlichen und Erwachsenen sind Erdnüsse, Nüsse, Fisch und Meeresfrüchte für 85% der Reaktionen verantwortlich (Sampson, 1999).

Geha meint, dass die Prävalenz für alle Formen der Allergie zu schnell zunimmt, um durch Änderungen im Genpool allein erklärbar zu sein und es wahrscheinlich ist, dass auch andere Faktoren einen Einfluss auf die Empfänglichkeit für eine Sensibilisierung haben (Geha, 2000). Da besonders in den westlichen Gesellschaften die Prävalenz von Nahrungsmittelallergien ständig zunimmt, werden Zusammenhänge zwischen der Hygiene-Hypothese und der steigenden Diversität des Lebensmittelkonsums gesehen (Helm und Burks, 2000).

Die epidemiologische Studie von von Mutius unterstützt die Hygiene-Hypothese im Hinblick auf die Entwicklung von allergischen Krankheiten (von Mutius, 2001). Die Hygiene-Hypothese besagt, dass das Fehlen einer Exposition zu infektiösen Erregern, symbiotischen Mikroorganismen (z.B. Darmflora) und

Parasiten während der frühen Kindheit die Empfänglichkeit für allergische Krankheiten durch Modulation der Entwicklung des Immunsystems erhöht. Die überzeugenden Argumente für einen solchen Effekt sind ein signifikant reduziertes Risiko für Atopie und Asthma bei frühkindlicher Teilnahme an einer Tagesbetreuung und der Zusammenhang zwischen der Geschwisterzahl und dem Auftreten von Atopie (von Mutius, 2001). Kinder, die in ländlicher Umgebung aufwachsen, leiden weniger häufig an Asthma und Allergien als Kinder aus städtischen Gegenden. Der Kontakt mit Bakterien oder deren Bestandteile, wie zum Beispiel Endotoxin während der Kindheit bewirkt möglicherweise, dass das Immunsystem Allergene besser toleriert, so dass es seltener zu allergischen Reaktionen kommt. Landkinder sind weit größeren Mengen von bakteriellem Endotoxin ausgesetzt als Stadtkinder (Braun-Fahrländer et al., 2002). Dafür sind in der ländlichen Umgebung eines Bauerhofes hauptsächlich der Kontakt mit Nutztieren und unpasteurisierter Milch verantwortlich (Weiss, 2002).

Durch Nahrungsmittel verursachte allergische Reaktionen sind verantwortlich für eine Reihe von Symptomen, welche die Haut, den Gastrointestinaltrakt und den Respirationstrakt betreffen (Sampson, 1999). Zu den gastrointestinalen Störungen gehören Übelkeit, Unterleibsschmerzen, Koliken, Erbrechen und/ oder Diarrhoe (Sampson, 1999). Akute Urtikaria und Angioödeme sind, die Haut betreffend, die am häufigsten zu beobachtenden Symptome der durch Lebensmittel ausgelösten allergischen Reaktionen, chronische Urticaria und Angioödeme sind dagegen selten (Sampson, 1999). AD ist eine Form des Ekzems, welche üblicherweise in der frühen Kindheit auftritt mit typischem Verteilungsmuster, extremen Juckreiz, chronisch rezidivierendem Verlauf und assoziiert mit Asthma und allergischer Rhinitis (Sampson, 1992). Die meisten Untersucher gehen davon aus, dass Nahrungsmittelallergene als Schubfaktoren bei atopischer Dermatitis vor allem im Kindesalter bedeutsam sind, da Nahrungsmittelallergien vom Soforttyp auch besonders im Kindesalter auftreten und sich im späteren Leben oft verlieren (Werfel et al., 2008). Etwa ein Drittel aller Kinder mit schwerer atopischer Dermatitis leidet unter einer Nahrungsmittelallergie (Johnston et al., 2004).

Nahrungsmittelallergie in der Humanmedizin ist hauptsächlich ein pediatisches Problem. Nach Robert erreicht die Prävalenz ihren Höhepunkt von ca. 6-8% im Alter von einem Jahr und nimmt dann bis in die späte Kindheit stetig ab, danach bleibt die Prävalenz bei 1-2% stabil (Robert, 2003). Helm und Burks berichten in

ihrer Studie von einer Inzidenz bei Erwachsenen zwischen 1-2% verglichen mit einer Inzidenz von 2-8% bei Säuglingen und kleinen Kindern (Helm und Burks, 2000). Mit dem Verlust von Nahrungsmittelallergien ist gemeint, dass ein Patient vollständig tolerant gegenüber einem Nahrungsmittel wird, welches vorher eine Reaktion ausgelöst hat. Dabei verschwindet die Allergie auf Kuhmilch und Hühnereier oft, die Allergie auf Nüsse dagegen bleibt meistens bestehen (Robert, 2003).

Wie Werfel in der Leitlinie der Arbeitsgruppe für Nahrungsmittelallergie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie schreibt, ist der "goldene" Standard für die Diagnostik der Nahrungsmittelallergie die doppelblind-placebokontrollierte orale Nahrungsmittelprovokation (DBPKNP). Gerade bei zeitlich verzögerten Reaktionen ist schwer zu entscheiden, ob es einen Zusammenhang zwischen der Aufnahme eines Lebensmittels und den Symptomen gibt. Bei der DBPKNP ist eine objektivere Diagnose gewährleistet, da weder der Betroffene noch der Arzt wissen, was der Betroffene mit der Testmahlzeit zu sich genommen hat. Für die Diagnosestellung können weiterhin positive Ergebnisse beim Intrakutantest, RAST (Radio-Allergen-Sorbent-Test) und der serologischen Nahrungsmittel-spezifischen IgE Bestimmung herangezogen werden (Werfel et al., 2008).

2. Pathogenese der Futterunverträglichkeit

In den meisten Artikeln zur Pathogenese der FU beziehen sich die Autoren auf Daten aus der Humanmedizin, da es wenig veterinärmedizinische Literatur zu diesem Thema gibt.

Wenn nicht anders beschrieben, beziehen sich die folgenden Angaben auch auf Artikel und Studien aus der Humanmedizin.

Die Entwicklung einer IgE-vermittelten Immunantwort auf ein Allergen ist das Resultat einer Reihe von molekularen und zellulären Interaktionen, bei denen Antigen-präsentierende Zellen (APZ), T-Zellen und B-Zellen, sowie zahlreiche Zytokine involviert sind.

Brandtzaeg schreibt in seinem Artikel zum Einsatz und Lokalisation der Immunzellen: Im Darm sind lymphatische Zellen in drei verschiedenen Kompartimenten lokalisiert: organisiertes Darm-assoziiertes Lymphgewebe (DALG), die Lamina propria und das Oberflächenepithel. Zum DALG gehören die Peyerschen Platten, der Blinddarm und viele solitäre Lymphknoten, besonders im Dickdarm. Die Lamina propria und das epitheliale Kompartiment bilden Effektorplätze, sind aber dennoch bedeutend für die zelluläre Expansion und Differenzierung innerhalb des mukosalen Immunsystems. DALG und andere Mukosa-assoziierte Lymphgewebe (MALT) sind mit charakteristischem Follikel-assoziiertem Epithel bedeckt, welches M-Zellen enthält. Diese spezialisierten dünnen Epithelzellen sind sehr effektiv in der Aufnahme von Antigenen aus dem Darmlumen (Brandtzaeg, 2002). Hathaway beschreibt in seiner Studie die Antigenaufnahme wie folgt. Viele Antigene, wie enteropathogene, infektiöse, bakterielle und virale Agenzien, nutzen die M-Zellen als Eintrittspforte. Die DALG Strukturen ähneln Lymphknoten mit B-Zell Arealen, dazwischenliegenden T-Zell Arealen und vielen APZ Untereinheiten, aber keinen Antigen transportierenden afferenten Lymphbahnen. Die exogenen Stimuli müssen also direkt aus dem Darmlumen kommen, hauptsächlich wahrscheinlich über die M-Zellen (Hathaway und Kraehenbuhl, 2000). B-Zellen aggregieren zusammen mit T-Zellen in den M-Zell Taschen und repräsentieren somit den ersten Kontakt zwischen Immunzellen und luminalem Antigen (Yamanka et al., 2001). Die B-Zellen können in diesem Kompartiment Antigen präsentierende Funktionen übernehmen, vielleicht unterstützen sie die Bildung diverser Antikörper und das immunologische Gedächtnis oder wirken an der oralen Toleranz mit (Brandtzaeg et al., 1999). Andere Arten von professionellen APZ, Makrophagen und dendritische Zellen, befinden sich unter dem Follikel-assoziiertem Epithel und zwischen den Follikeln (Brandtzaeg, 2002).

Prélaud beschreibt den Ablauf der Immunantwort folgendermaßen: APZ nehmen nach Antigenkontakt im Bereich der Schleimhaut oder Epidermis Antigen auf und migrieren dann in das Lymphsystem. Im regionalen Lymphknoten präsentieren sie das aufbereitete Antigen, gepaart mit Antigenen des MHC (englisch für Major Histocompatibility Complex, Haupthistokompatibilitätskomplex) der Klasse II, den T-Helferzellen. Die Antigen-Präsentation geht Hand in Hand mit einer Synthese von Zytokinen durch die APZ, insbesondere IL-1 und TNF- α . Sie

aktivieren so die T-Zellen, die ihrerseits andere Zytokine synthetisieren wie z.B. das IL-2, das die Vervielfältigung von antigenspezifischen T-Zell-Klonen bewirkt (Prélaud, 2002). Sampson bezeichnet die Antigenpräsentation als „erstes Signal“, welches neben der T-Zellproliferation und der ersten Generation von Zytokinen, zur Entstehung eines „zweiten Signals“ führt, der Th2 Zellaktivierung, welche die IgE Synthese unterstützt (Sampson, 1999).

T-Helfer-Lymphozyten (Th) sind Gedächtniszellen und steuern gleichzeitig die Immunantwort. Charakterisiert werden sie durch den Marker CD4, einem Element des TCR (T-cell receptor), der Antigene des MHC der Klasse II erkennt. Schematisch können die aktivierten Th zwei Arten von Zytokinen synthetisieren: diejenigen die dem Typ 1 zugeordnet werden (Th 1), bei denen an erster Stelle IL-2 und IFN- γ stehen, sowie die dem Typ 2 (Th2) zugeordneten, wobei die wichtigsten IL-4, IL-5 und IL-13 sind. Die Antwort vom Typ Th1 wird in erster Linie gegen intrazelluläre Parasiten aktiv, während Th2 sich gegen extrazelluläre Parasiten richtet (Romagnani, 1997). Bei Immunkrankheiten ist die Regulation gestört, bei Atopie besteht ein Ungleichgewicht zugunsten Th2 und bei Autoimmunerkrankungen zugunsten Th1. Diese Klassifizierung hat ihre Grenzen, ermöglicht aber ein einfaches Verständnis der Begriffe, die bei einem gestörten Gleichgewicht der Immunantwort gebräuchlich sind. Zu welchem der beiden Typen die Immunantwort tendiert, kann von genetischen Faktoren abhängen, aber auch von der Beschaffenheit des Antigens und davon, welchen Weg es beim Eindringen genommen hat und in welcher Menge es vorliegt (Prélaud, 2002).

Die B-Lymphozyten, welche für die humorale Immunantwort zuständig sind, interagieren mit den T-Zellen und ihren synthetisierten Produkten. Sie besitzen Antigen-spezifische Rezeptoren. Dieser B-Zell-Rezeptor (BZR) besteht aus einem membrangebundenen Antikörper (meist IgM) und zwei identischen Armen mit jeweils 2 membrangebundenen Proteinen (Ig α und Ig β). Ig α und Ig β werden bei einer Aktivierung im Zytoplasma phosphoryliert und lösen über eine Signaltransduktionskaskade eine Genaktivierung aus. Für die meisten Antigene braucht es noch eine Aktivierung und Bindung an eine spezifische T-Helferzelle, damit die B-Zelle aktiviert wird. Die darauf aktivierte T-Zelle schüttet Zytokine (Interleukine, Wachstumsfaktoren) aus und stimuliert zudem den CD40 Rezeptor der B-Zelle. Darauf folgt, neben einer Vermehrung der B-Zellen, ein Wechsel des Isotyps, eine Affinitätsreifung sowie die Bildung von B-Gedächtniszellen. Ein B-

Lymphozyt ist während der Immunantwort in der Lage verschiedene Isotypen zu exprimieren. Vor der Isotypen-Umschaltung exprimieren B-Zellen IgM oder IgD auf ihrer Oberfläche. Die Umschaltung zu IgA, IgE oder IgG resultiert aus Rekombinationsprozessen, die durch Gene gesteuert werden.

Nach ihrer Aktivierung wandert die B-Zelle zu den regionalen Lymphknoten oder zur Milz. Hier kommt es zu den oben beschriebenen Prozessen, der Proliferation und Ausdifferenzierung des B-Lymphozyten zu einer Plasmazelle, welche jetzt vermehrt Antikörper produziert und sezerniert. Diese Antikörper besitzen dieselbe Spezifität wie der B-Zell-Rezeptor der Zelle, das heißt, sie binden an dasselbe Antigen.

Das Antigen-spezifische IgE bindet beim nächsten Zusammentreffen mit diesem spezifischen Antigen an hochaffine Oberflächenrezeptoren, den FcεRI, von Effektorzellen der allergischen Entzündung, wie Mastzellen, eosinophile und basophile Granulozyten. Durch die Bindung eines bestimmten Allergens an sein spezifisches IgE wird die Freisetzung einer Vielfalt von chemischen Entzündungsmediatoren, wie Histamin, Leukotrine, Prostaglandine und Proteasen induziert, die wiederum für die Symptome der Überempfindlichkeitsreaktionen vom Soforttyp verantwortlich sind. Die IgE abhängige Stimulation der Effektorzellen vermittelt die Antwort des Immunsystems auf allergene Reize.

Für die Abwehrmechanismen der Schleimhäute sind auch IgM und IgA von besonderer Bedeutung. IgM sind große Pentamere, die sich in einem sehr frühen Stadium der Immunantwort zeigen. Durch ihre Pentamer-Form sind sie in der Lage zu agglutinieren. IgA sind Moleküle, welche in Form von Dimeren die Adhäsion von Mikroorganismen inhibieren und deren Vernichtung ermöglichen. Das IgA-Immundefizit ist das am häufigsten vorkommende einfache Immundefizit beim Hund (ebenso wie beim Menschen). Day hat das IgA-Immundefizit bei vielen Rassen (Cocker, Shar Pei, Beagle Deutscher Schäferhund, Irischer Wolfshund) beschrieben (Day, 1996). Es ist für Probleme im Verdauungstrakt und für Bronchial- oder Hautinfektionen sowie für Autoimmunerkrankungen charakteristisch (Prélaud, 2002).

2.1 Genetische Prädisposition

AD gehört zu der Gruppe von allergischen Störungen, die auch allergische Rhinitis und Asthma mit einschließt. Ein multifaktorieller Hintergrund mit genetischen sowie Umwelt-bedingten Faktoren, welche die Entwicklung der Krankheit beeinflussen, wird angenommen (Kiyohara et al., 2008).

AD hat einen komplexen genetischen Hintergrund, die sogenannte atopische Diathese. Epidemiologische Studien haben basierend auf der sogenannten linkage analysis (englisch, für verknüpfende Analyse), mit sowohl das ganze Genom absuchenden Strategien, als auch Assoziationsstudien und Fall-Kontroll-Studien, einige chromosomale Loci mit mutmaßlichen Genkandidaten aufgedeckt (Leung und Bieber, 2003). Diese unterscheiden sich deutlich von den aktuell identifizierten Loci für allergisches Asthma (Bieber, 2008). Durch genomweites Absuchen (Palmer und Cardon, 2005) wurden verschiedene mögliche atopische Dermatitis assoziierte Loci auf den Chromosomen 3q21, 11 1q21, 16q, 17q25, 20p12 and 3p26.13 gefunden. Die Region mit der stärksten Verknüpfung wurde auf Chromosom 1q21 identifiziert, welches eine Gruppe von Genen beherbergt, die das Epithel betreffen und epidermaler Differenzierungskomplex genannt werden (Cookson, 2004). Die meisten dieser genetischen Regionen überlappen mit Loci, welche identifiziert wurden und bei Psoriasis, der Schuppenflechte, eine Rolle spielen (Bieber, 2008; Wilsman-Theis et al., 2008).

Kiyohara et al. beschreiben in ihrer Studie die Assoziationen zwischen Polymorphismen von Einzelnukleotiden (SNP, englisch, für single nucleotide polymorphisms) in Chemokinen (chymase 1-1903A > G), Zytokinen (interleukin13 Arg144Gln), Zytokinrezeptoren (Interleukin 4 receptor 1727G > A) und SPINK 1258G > A. Diese SNPs könnten Identifizierung von Individuen mit einem erhöhten Risiko für AD erlauben. Auch SNPs, die nicht eng mit AD assoziiert sind, sollten nach Ansicht dieser Autoren als potentiell wichtig erachtet werden, da AD eine häufig anzutreffende Krankheit ist und selbst ein geringe Zunahme des Risikos zu einer großen Zahl von Fällen mit AD führen kann (Kiyohara et al., 2008).

Eine Mutation in einem Gen ist beschrieben, welches Filaggrin kodiert und sehr stark mit bestimmten Formen von AD assoziiert ist, bei denen der Ausbruch der

Krankheit zu einem besonders frühen Zeitpunkt erfolgt (Sandilands et al., 2007; Smith et al., 2006; Palmer et al., 2006; Weidinger et al., 2006; Marenholz et al., 2006). Das kann ein Hinweis zur Dysfunktion der epithelialen Barriere bei AD sein.

Durch die Komplexität der Pathogenese und den multifaktoriellen Hintergrund werden die zugrunde liegenden Prädispositionen für allergische Erkrankungen schwer nachvollziehbar (Bonness und Bieber, 2007). Das gilt sicherlich auch für die Fälle, bei denen AD durch Nahrungsmittel- und Futtermittelunverträglichkeit hervorgerufen wird.

In der Tiermedizin finden sich im Gegensatz zur Humanmedizin nur wenige Studien, die sich mit den genetisch bedingten Hintergründen von Allergien befassen. Beim Hund ist eine genetische Komponente bei atopischer Dermatitis, verursacht durch Umweltallergene beschrieben (Marsella und Olivry, 2003). Eine genetische Prädisposition für Futterunverträglichkeit ist bei einer Hundekolonie in den USA ebenfalls nachgewiesen worden (Jackson und Hammerberg, 2002).

Hunde mit atopischer Dermatitis, bedingt durch Umweltallergene, FU oder Flohspeichelallergie sind für sekundäre Staphylokokken- und/ oder Malassezieninfektionen der Haut prädisponiert (Deboer und Marsella, 2001; White, 1986).

2.2 Darmbarriere

Nach der Geburt wird der Gastrointestinaltrakt und das Darm assoziierte Lymphgewebe mit Fremdproteinen in Form von Bakterien und Nahrungsmittelantigenen konfrontiert. Das unausgereifte System muss verdaute Nahrungsmittel in eine Form umwandeln, in der sie absorbiert und für Zellwachstum und Energie genutzt werden können, muss des weiteren eine schnelle und potente Reaktion gegen verschiedene Pathogene bereitstellen, also Immunität entwickeln, und für die enorme Quantität von fremden Nahrungsantigenen unempfindlich und tolerant bleiben. Bei Säuglingen und Kleinkindern ist diese Effizienz der frühkindlichen, mucosalen Barriere anfänglich reduziert (Sampson, 1999). Die basale Säuresekretion ist während der

ersten Lebensmonate relativ gering (Hyman et al., 1985) und die intestinale, proteolytische Aktivität reicht ungefähr bis zum zweiten Lebensjahr nicht an das Niveau des voll entwickelten Organismus heran (Lebenthal und Lee, 1980). Bei neugeborenen Kaninchen findet man an intestinalen Membranen unreife Mikrovilli, was mit veränderter Antigenbindung und Transport durch die mukosalen Epithelzellen gegenüber adulten Tieren verbunden ist (Bresson et al., 1984). Ein Weg der Antigenvermeidung ist die Sekretion von Antikörpern der Klasse IgA (sIgA) und IgM (sIgM). Diese können die Besiedelung der Schleimhäute mit Mikroorganismen verhindern und die Penetration von potentiell gefährlichen Stoffen verringern. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass Neugeborene in der exokrinen Sekretion einen Mangel an IgA und IgM und in der Speichelkonzentration einen Mangel an sIgA haben (Burgio et al., 1980). Die relativ geringe Konzentration von sIgA im Intestinum von Kleinkindern und die relativ großen Mengen an verdauten Proteinen sind eine enorme Last für das unreife Darm-assoziierte Lymphgewebe (Sampson, 1999).

Die zunehmende Kompetenz des Immunsystems und das Ausreifen der intestinalen Organe könnte auch eine Erklärung für das Verschwinden vieler Nahrungsmittelallergien im frühen Kindesalter sein. In einer Studie traten 80% der Nahrungsmittelunverträglichkeiten im ersten Lebensjahr auf und die Mehrheit dieser Lebensmittel konnte neun bis zwölf Monate nach Auftreten der ersten Reaktionen wieder erfolgreich in die Diät eingeführt werden (Bock, 1987). Das „Entwachsen“ aus einer solchen Reaktion scheint auch vom Allergietyp selbst abzuhängen. In einer Studie entwickelte sich bei Kindern die Allergie auf Kuhmilch im ersten Lebensjahr und im Alter von drei Jahren waren die meisten der allergischen Kinder in der Lage, Milch zu tolerieren (Host und Halken, 1990 und 1997). Alle Kinder die eine nicht-IgE-vermittelte Allergie hatten, waren mit drei Jahren tolerant, verglichen mit 75% der Kinder mit IgE-vermittelter Allergie. Von den Kindern mit IgE-vermittelter Allergie hatten außerdem 35% weitere Nahrungsmittelallergien im Alter von drei Jahren und 25% im Alter von zehn Jahren. Bei diesen Kindern war auch die Entwicklung einer Allergie gegen Aeroallergene sehr viel wahrscheinlicher (Host und Halken, 1990 und 1997).

Die Einführung zahlreicher Nahrungsmittelantigene in die Diät zu einem frühen Lebenszeitpunkt, scheint für das unreife Immunsystem ebenfalls Auswirkungen zu haben. Taylor konnte in seiner Studie zeigen, dass durch

viele verschiedene Nahrungsmittel zu einem sehr frühen Lebenszeitpunkt die exzessive Produktion von IgE Antikörpern stimuliert wird (Taylor et al., 1973). In einer prospektiven Studie mit über 1200 nicht speziell ausgesuchten Kleinkindern wurde eine direkte lineare Beziehung zwischen der Anzahl der festen Nahrungsmittel, welche im Alter von 4 Monaten in die Diät eingeführt wurden und der späteren Entwicklung von AD, hergestellt. Kinder, welche vier oder mehr feste Nahrungsmittel vor dem Alter von 4 Monaten erhielten, hatten im Alter von zehn Jahren dreimal so häufig rezidivierende Ekzeme wie die Kontrollgruppe (Fergusson et al., 1990).

Die mukosale Barrierefunktion und das immunregulatorische Netzwerk sind für eine variable Periode nach der Geburt schlecht entwickelt (Brandtzaeg et al., 1999; Holt, 1995). Daher ist die neonatale Periode eine besonders kritische Zeit für die mukosale Abwehr, sowohl in Bezug auf Infektionen als auch allergische Krankheiten (Holt und Jones, 2000). Die postnatale Entwicklung eines mukosalen Immungleichgewichts scheint sowohl von der Etablierung einer normalen, kommensalen, mikrobiellen Flora abhängig, als auch vom richtigen Zeitpunkt und der Dosierung neu in die Diät eingeführter Nahrungsmittelantigene (Helgeland und Brandtzaeg, 2000). Die postnatale Kolonisation von kommensalen Bakterien spielt bei der Etablierung und Regulation einer gut funktionierenden epithelialen Barriere ebenfalls eine entscheidende Rolle (Hooper und Gordon, 2001; Neish et al., 2000).

Sampson schreibt den epithelialen Zellen möglicherweise eine zentrale Rolle bei der Bestimmung der Häufigkeit und Form der Aufnahme von verdauten Antigenen zu (Sampson 1999). Bei sensibilisierten Ratten läuft intestinaler Antigentransport in zwei Phasen ab (Berrin et al., 1997). In der ersten Phase der Antigenaufnahme findet der transepitheliale Transport durch die Endosomen statt, ist antigen-spezifisch und Mastzell-unabhängig und geschieht bei sensibilisierten Ratten zehnmal schneller als bei nicht sensibilisierten Kontrolltieren (Berrin et al., 1998). In der zweiten Phase überwiegt parazellulärer Transport, dieser ist Mastzell-abhängig, nicht Antigen-spezifisch und bei Antigenprovokation bei sensibilisierten Ratten im Vergleich zu sensibilisierten Ratten mit Mastzellmangel oder nicht sensibilisierten Ratten deutlich erhöht. Diese Studien demonstrieren, dass der Anteil und die Menge von aufgenommenem Antigen während IgE-vermittelten Reaktionen im Gastrointestinaltrakt deutlich erhöht sind. Es ist auch

anzunehmen, dass Antigen-spezifische und nicht spezifische Faktoren den Antigentransport durch das Epithel beschleunigen können. Der spezifische Weg involviert Antikörper, der nicht spezifische Weg sehr wahrscheinlich Zytokine. Übereinstimmend mit diesem Konzept, sind intestinale Epithelzellen mit einer großen Zahl von Rezeptoren für Zytokine ausgestattet (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, GM-CSF und IFN- γ) und intestinale Epithelzellen zeigten sich funktional verändert, wenn sie diesen Enzymen ausgesetzt werden (Sampson, 1999).

Eine schlecht entwickelte oder enzymatisch reduzierte mukosale Barrierefunktion, kombiniert mit einer genetischen und/ oder durch Zytokine ausgelösten IgE-vermittelten Überreaktion, ist vermutlich Bestandteil der Pathogenese von Nahrungsmittelunverträglichkeit beim Menschen (Brandtzaeg, 2002).

2.3 Änderung der Immuntoleranz

Die dominante Immunantwort im GALT ist Suppression oder Toleranz (Sampson, 1999). Unter Toleranz versteht man einen Zustand antigen-spezifischer immunologischer Unempfindlichkeit gegen potentielle Allergene in einem immunkompetenten Individuum (Akdis et al., 2005).

Das Verständnis dieser mukosal induzierten Herabregulation wird durch eine überwältigende mechanistische Komplexität erschwert (Brandtzaeg, 2002). Unter der Herabregulation versteht man einen negativen, regulatorischen Effekt von physiologischen Prozessen auf molekularer, zellulärer oder systemischer Ebene. Auf molekularer Ebene findet die Regulation hauptsächlich bei Membranrezeptoren, Genen (Regulation der Genexpression), mRNAs (Messenger RNA) und Proteinen statt. Dieser negative, regulatorische Prozess beinhaltet die Reduktion von Ligand-Rezeptor Interaktionen. Reduktion in der Rezeptorbindung nach Liganden Aufnahme, kann die Folge sein von der Verinnerlichung des Ligand-Rezeptor Komplexes, eines zunehmenden Abbaus von Rezeptoren und/ oder einer Abnahme der Genexpression mit Folge einer Abnahme der Biosynthese von Rezeptoren (Brandtzaeg, 2002).

Im ausgereiften Darm werden 2% der verdauten Nahrungsmittelantigene in einer

„immunologisch“ intakten Form absorbiert und durch den Körper transportiert (Husby et al., 1985). Bei Menschen ohne Nahrungsmittelallergie penetrieren diese intakten Antigene aus dem Gastrointestinaltrakt die Darmschleimhaut und erreichen die Blutbahn, ohne irgendein klinisches Symptom zu verursachen, weil die meisten Individuen eine Toleranz gegen verdaute Antigene entwickeln. Die Studie von Akdis unterstützt die These, dass periphere T-Zell Toleranz ein immunologischer Schlüsselmechanismus bei einer gesunden Immunantwort auf eigene Antigene und nichtinfektiöse Fremdartigene ist. Dabei scheinen Mechanismen wie Anergie, Toleranz und aktive Suppression eine Rolle zu spielen, welche miteinander verbundene Mechanismen repräsentieren, die möglicherweise dasselbe molekulare Ereignis zur Folge haben (Akdis et al., 2004). Klinische Anergie beschreibt den Mangel an T-Zell-abhängiger, kutaner, Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ auf alltäglichen Antigene (Akdis et al., 2005). Den regulatorischen T-Zellen (T_{reg}) wird eine bedeutende Rolle bei der Kontrolle der allergen-spezifischen Immunantwort zugeschrieben: 1.) Suppression von Antigen-präsentierenden Zellen, welche die Bildung von Th2 und Th1 unterstützen; 2.) Suppression von Th1 und Th2; 3.) regulatorische Funktion von B-Zellen durch Suppression von allergen-spezifischen IgE und Induktion von IgG4, IgA, oder beiden; 4.) Suppression von Mastzellen, Basophilen und Eosinophilen; und 5.) Interaktion mit ansässigen Gewebezellen und deren Umgestaltung (Akdis et al., 2005).

Studien an Nagetieren deuten darauf hin, dass auch die kommensale Mikroflora für die Entwicklung der oralen Toleranz und für ihre Erhaltung und Wiederherstellung bedeutend ist (Helgeland und Brandtzaeg, 2000). Dieser Effekt ist wahrscheinlich hauptsächlich durch die immunstimulierende Wirkung der kommensalen Mikroflora zu erklären (Brandtzaeg, 2002). Antikörperproduktion gegen Nahrungsmittelantigene ist ein universelles Phänomen bei Kindern und Erwachsenen, und ist nicht generell mit Hypersensibilität gegen das fragliche Antigen assoziiert (Johannsson et al., 1984). Die meisten „low-level“ Antikörper auf Nahrungsmittelantigene bei klinisch toleranten Individuen sind IgG, während hohe Konzentrationen von IgE Antikörpern oft ein Indikator für einen pathologischen Prozess sind (Sampson, 1999). Auch Barnes zufolge kann tatsächlich angenommen werden, dass eine IgG Antikörper Immunantwort die normale Konsequenz auf die Exposition von Nahrungsmittelproteinen bei Kindern

und Erwachsenen ist (Barnes, 1995). Nach Kimber und Dearmann ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass die IgG Immunantwort auf Nahrungsmittelantigene ein normaler und nützlicher Mechanismus zur Beseitigung von Proteinen und Peptiden ist, welche versehentlich aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert wurden (Kimber und Dearmann, 2002). Scott ist der Meinung, dass die systemische IgG-vermittelte Immunantwort auf Nahrungsmittelantigene beim Menschen mit zunehmendem Alter abzunehmen scheint (Scott et al., 1985).

In der Tiermedizin wurden hohe Konzentrationen von Antikörpern (IgG und IgE) gegen Futtermittel auch bei Hunden gemessen, die keine gastrointestinalen oder dermatologischen Symptome aufwiesen (Foster et al., 2003).

Entsprechende Informationen über orale Toleranz beim Hund liegen derzeit nicht vor, es wird aber von einer Ähnlichkeit der Wirkungsmechanismen ausgegangen. Allerdings ist FU bei Hunden jeden Alters anzutreffen und über einen „Verlust“ von FU mit zunehmendem Alter ist nichts bekannt.

Beschrieben ist eine dynamische Änderung der IgE-Serumkonzentration in Abhängigkeit der angebotenen Diät bei Hunden mit FU (Jackson und Hammerberg, 2002).

3. An Futterunverträglichkeit beteiligt Antigene

Prinzipiell ist jedes Futtermittel in der Lage, FU auszulösen, aber nur eine begrenzte Anzahl von Inhaltsstoffen ist bisher als Ursache identifiziert worden. Die Inhaltsstoffe variieren abhängig von den Fütterungsgewohnheiten in verschiedenen Ländern, dabei sind die Inhaltsstoffe mit dem anteilig größten Proteingehalt auch für die FU am relevantesten (Guaguere und Prelaud, 1988). In westlichen Ländern bilden Fleisch von Nutztieren und Produkte aus Kuhmilch die Hauptproteinquelle bei der Ernährung von Hunden und Katzen und eine Sensibilisierung gegenüber diesen Produkten ist bei einem großen Anteil der an FU leidenden Hunde und Katzen beschrieben (Martin et al., 2004). In einer kanadischen Studie (Denis und Paradis, 1994) waren Rindfleisch und Molkereiprodukte ebenso hauptverantwortlich für FU wie in einer französischen Studie (Carlotti et al., 1990). Auch in den USA waren Rindfleisch und

Molkereiprodukte zusammen mit Sojabohnen die Hauptgründe für FU (Jeffers et al., 1996; White, 1988).

In einer Studie von Jeffers aus den USA wurden 269 verschiedenen Hundefutter auf die am meisten vorkommenden Inhaltstoffe untersucht, die in ihrer Häufigkeit absteigend aufgelistet sind: Getreide, Huhn, Reis, Mais, Soja, Rindfleisch, Ei und Milch. Außer mit Reis, wurden mit allen anderen Inhaltsstoffen mehrere Provokationsdiäten durchgeführt. Dabei wurden Rindfleisch und Soja statistisch relevant, als die am meisten vorkommenden Futtermittelallergene identifiziert. Sie waren signifikant assoziiert mit einer > 50% Chance, klinische Symptome von FU bei Hunden mit FU zu verursachen. Alle sieben dieser häufig vorkommenden Futtermittel lösten in dieser Gruppe von fünfundzwanzig Hunden mit FU Pruritus aus. Die Anzahl der Futtermittelallergene, welche Pruritus induzierten, war bei jedem Hund determiniert. Neun Hunde reagierten auf nur ein Protein, elf Hunde auf zwei Proteine, zwei Hunde auf drei Proteine, ein Hund auf vier Proteine und zwei Hunde auf fünf Proteine. Keiner der Hunde reagierte auf alle sieben möglichen Allergene. Achtzig Prozent dieser Hunde mit FU reagierten auf ein oder zwei Proteine, während 64% der Hunde auf zwei oder mehr Proteine reagierten (Jeffers et al., 1996).

Futtermittelallergene sind normalerweise hitzestabile, wasserlösliche Glykoproteine mit einer Größe von 14 bis 40 kD, obwohl auch kleinere (10 kD) und größere (70 kD) Moleküle immunologisch wirksam sein können (Sampson, 1999; Guilford, 1996). In einer Studie von Martin war es das Ziel, die Proteine zu identifizieren, die für FU verantwortlich sind. Zehn Hunde mit allergenspezifischem Serum IgE auf Lammfleisch, Rindfleisch und Kuhmilch nahmen an dieser Studie teil. Alle Hunde hatten spezifisches IgE gegen bovines IgG und dieses war das einzige Protein im Kuhmilchextrakt, welches mit IgE in den untersuchten Seren reagierte. In den Lammfleisch- und Rindfleischextrakten hatten die vom spezifischen IgE der meisten Seren erkannten Allergene ein Molekulargewicht zwischen 51 und 58 kD, welche als Phosphoglucomutase und Schwerketten von Immunglobulin G identifiziert wurden. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass bovines IgG ein wichtiges Allergen in Kuhmilch ist und infolgedessen scheint es die Quelle für Kreuzreaktivität mit Rindfleisch und aufgrund der starken Homologie mit ovinen Immunglobulinen vielleicht auch mit Lammfleisch zu sein (Martin et al., 2004). In der Humanmedizin wurden die

allergenen Proteine vieler Nahrungsmittel identifiziert, isoliert, sequenziert und geklont. Auch die meisten der IgE- und IgG bindenden Epitope und T-Zell Epitope dieser Proteinfractionen sind bekannt (Sampson, 1999).

Welche immunochemischen und physikochemischen Eigenschaften allerdings ein Protein zum Allergen machen, ist immer noch ziemlich unklar (Kimber et al., 1999). Obwohl das nicht universal für alle Nahrungsmittelallergene gilt, korrelieren verschieden Faktoren mit Allergenität (Heymann, 1999): Proteolyseresistenz (führt zu Stabilität in simulierten Magen/Darm Flüssigkeiten), post-translationale Glykolisation (erhöht die Rezeptor-vermittelte Aufnahme) und enzymatische Aktivität (aktiviert die nichtspezifische Immunantwort).

Es gibt wenig Beweise, dass Fette, Kohlenhydrate oder nicht proteinhaltige Futtermittelzusätze in der Lage sind, Hypersensibilität beim Hund zu induzieren und eine Reaktivität gegenüber mehr als zwei Allergenen bei einem Individuum ist ungewöhnlich (Day, 2005).

4. Klinik

Beim Hund betreffen die beiden wichtigsten klinischen Manifestationen der FU die Haut und den Verdauungstrakt. Andere Organe sind nur in Ausnahmefällen betroffen (Prélaud, 2002). Kutane Manifestationen sind im Gegensatz zu gastrointestinalen Störungen, die bei etwa 10-15% der Fälle auftraten, sehr viel häufiger beschrieben (Day, 2005).

Beständiger, nicht saisonaler Pruritus ist das auffälligste Symptom der FU (White, 1986 und 1988). Der Juckreiz ist oft sehr intensiv und manchmal resistent gegen symptomatische Therapie, selbst die mit Glukokortikoiden. Juckreiz und Hautläsionen können generalisiert auftreten, sind jedoch häufig im Gesicht und an den Pfoten, perianal und ventral (axillar und inguinal) lokalisiert (White, 1986; Rosser 1993). Otitis externa kommt bei der Hälfte der Patienten mit FU vor, bei einigen Hunden ist sie sogar das einzige klinische Symptom (Carlotti et al., 1990; Rosser, 1993; Verlinden et al., 2006). Ein mit der Entzündung verbundenes Erythem ist die dominierende Primärläsion. In den meisten Fällen dominieren die Sekundärläsionen, zu denen Hautabschürfungen, Krusten, Lichenifikation,

Alopezie und Hyperpigmentierung gehören. In Folge kommt es nicht selten zu sekundären Dermatitiden, wie Pyodermie und *Malassezia* Dermatitis (Jackson, 2001). Papeln und Pusteln treten häufig bei bakteriellen Sekundärinfektionen auf. Erbrechen und Diarrhoe sollen bei 10–15 % der Fälle auftreten (Scott et al., 2001) und sind manchmal die einzigen klinischen Symptome. Auftretende Colitis ist ebenfalls beschrieben (Paterson, 1995). Nach Prélaud sind auch chronische Gastritiden, chronischer Dünndarmdurchfall und chronisch entzündliche Darmerkrankungen in Einzelfällen möglich (Prélaud, 2002). Hinweisend für FU können auch leichte gastrointestinale Störungen wie häufiger Kotabsatz und/ oder Flatulenz sein (Loeffler et al., 2004).

In einer Studie von Ermel beschäftigt sich dieser unter anderem mit dem Zeitpunkt des Auftretens klinischer Symptome von FU nach Gabe des Allergie auslösenden Futters. Dazu wurde eine Hundekolonie von Hunden mit AD als Model für Futtermittelallergie genutzt. Diese Hunde, welche vermehrt IgE produzieren, wurden subkutan mit Futtermittelantigenextrakt in Alaun immunisiert und erhielten periodisch orale Provokationsdiäten mit Futtermittelantigenen in Haferschleim. Die immunisierten Welpen reagierten auf die Provokation mit klinischen Symptomen von FU, die allerdings auf die gastrointestinalen Symptome begrenzt waren. Symptome von Übelkeit und Erbrechen waren üblicherweise akut und konnten eine Stunde nach Antigenexposition beobachtet werden. Die zu beobachtende Diarrhoe, welche von mild bis stark variierte, begann gewöhnlich zwölf Stunden nach Antigenexposition und dauerte drei bis vier Tage (Ermel et al., 1997).

5. Diagnose

Klinisch können CAD bedingt durch Umweltallergene und CAD bedingt durch Futterunverträglichkeit nicht von einander unterschieden werden, da ihre Phänotypen sich oft überschneiden (Picco et al., 2008; Favrot et al., 2010). Lediglich gehäufte gastrointestinale Probleme können hinweisend für FU sein (siehe dazu auch Kapitel 1.2). Grundsätzlich ist zur Diagnose eine ausführliche Anamnese und klinische Untersuchung unbedingt notwendig. Die Anamnese

beinhaltet Fragen zur Geschichte der Krankheit, Diät und dem Auftreten von klinischen Symptomen. Auszuschließen sind parasitäre Erkrankungen wie Flohbefall, Sarkoptesräude, Demodikose, Leishmaniose, Dermatophytose, Malasseziendermatitis und idiopathische, bakterielle Follikulitis durch die entsprechenden diagnostischen Tests (Mueller, 2006; Mueller und Jackson, 2003; Scott et al., 2001). Hormonelle Erkrankungen, wie z.B. Hypothyreose oder Hyperadrenokortizismus, welche bei rezidivierenden Infektionen insbesondere bei Hunden im mittleren Alter auch differentialdiagnostisch in Frage kommen können, sind durch entsprechende Labortests auszuschließen.

Die klinische Diagnose von AD ist bei einem einzelnen Patienten wahrscheinlich sehr viel zuverlässiger als die Anwendung von diagnostischen Kriterien (Wollenberg und Bieber, 2000).

Leider gibt es in der Tiermedizin kein standardisiertes Diagnoseverfahren für FU. Das einzige zu Zeit zuverlässige Diagnoseverfahren basiert auf einer Eliminationsdiät mit anschließender Provokation und ist in den nächsten Kapiteln ausführlich beschrieben.

In der Humanmedizin ist der Gold-Standard DBPCFC. Vorher erfolgt eine ausführliche Untersuchung und Anamnese. Ziel dieser Untersuchung ist die Feststellung, ob ein immunologischer Mechanismus involviert ist. Wenn eine allergische Reaktion vermutet wird, ist es sinnvoll, diese in IgE-vermittelt und nicht-IgE-vermittelt zu kategorisieren, da die Bewertungen der nachfolgenden Laborergebnisse und oralen Provokationen sich bei den verschiedenen zu Grunde liegenden Mechanismen unterscheiden (Sampson, 1999). Sampson zitiert in seinem Artikel mehrere publizierte Studien, bei denen nur bei 40% der Patienten, welche Krankengeschichten von allergischen Reaktionen auf Nahrungsmittel hatten, diese durch DBPCFCs bestätigt werden konnten (May, 1976; Bock und Atkins, 1990; Sampson, 1988). Auch in der Tiermedizin ist von häufigen Ungenauigkeiten in den Berichten der Patientenbesitzer auszugehen. Allerdings ist es in der Praxis selten möglich, verblindete und Placebo-kontrollierte Provokationsdiäten durchzuführen. Da CAD bedingt durch Umweltallergene und CAD bedingt durch Futterunverträglichkeit auch gemeinsam bei einem Patienten auftreten können, sollte bei unzureichender Besserung nach Diät und Ausschluss von Differentialdiagnosen wie Ektoparasiten oder Infektionen eine gleichzeitige, durch Umweltantigene verursachte atopische Dermatitis in Betracht gezogen

werden.

5.1 Eliminationsdiät

Um FU zu diagnostizieren, ist der Gold-Standard die Eliminationsdiät mit anschließender Provokation. Dazu wird der Hund mindestens 8 Wochen ausschließlich mit einer einzigen, ihm bis dahin unbekanntem Protein- und Kohlenhydratquelle gefüttert. Eine ausführliche Anamnese stellt dabei sicher, dass der Hund zuvor keine solche Nahrungsquellen beinhaltendes Futter bekommen hat. Die Zeit von Beginn der Eliminationsdiät bis zur klinischen Besserung wird in der Literatur unterschiedlich angegeben. Während bei Rosser (Rosser, 1993) 75 % der Hunde in den ersten 3 Wochen nur unzureichende oder keine Besserung zeigten, verbesserte sich bei Groh und Moser die Symptomatik bei 95 % aller Hunde innerhalb von 3 Wochen (Groh und Moser, 1998). Meistens besserte sich der Zustand der Tiere deutlich im zweiten Monat. Es kann aber in Ausnahmefällen auch erst nach 10–12 Wochen zur Remission kommen (Rosser, 1993). Sollte der Hund zwischendurch anderes Futter aufgenommen haben, muss unter Umständen mit der Diät wieder von vorn begonnen werden. Während der Diät sollten sich die bisherigen Fütterungsgewohnheiten des Tieres nicht drastisch ändern und auch dieselben Zeiten und Mengen sollten beibehalten werden. Es muss unbedingt sichergestellt werden, dass dem Hund keine andere Nahrungsquelle als die Eliminationsdiät zur Verfügung steht. Dazu sind alle Mitglieder des Haushaltes, der Familie, sowie Freunde, Nachbarn etc. gründlich zu informieren. Zusätzliche "Leckerlis" dürfen in dieser Zeit grundsätzlich nicht gegeben werden, es sei denn, sie bestehen aus den der Eliminationsdiät entsprechenden Inhaltsstoffen. Auch Medikamente können für die Diät nicht geeignete Geschmacksverstärker oder Zusatzstoffe enthalten. Solche Medikamente dürfen während der Diät nicht verabreicht werden. Lässt der Juckreiz nach oder treten die Symptome einer Störung im gastrointestinalen System nicht mehr auf, wird dies als Besserung betrachtet. Wenn nach acht Wochen strikter Diäteinhaltung und individuell angepasster Futterauswahl keine Veränderung der Symptome zu beobachten ist, kann eine FU als Ursache ausgeschlossen werden.

5.1.1 Arten der Eliminationsdiät

Hypoallergene Diäten müssen für jeden Patienten einzeln auf der Basis seiner bisherigen Fütterung zusammengestellt werden (Paterson, 1995). Eine ideale Diät sollte eine Protein- und Kohlenhydratquelle enthalten, die das Tier normalerweise nicht zu sich nimmt und sollte keine Futterzusatzstoffe, Geschmacksverstärker und Konservierungsstoffe beinhalten. Selbstgekochte Diäten erfüllen alle dieser Kriterien und sind daher mit Sicherheit das zuverlässigste diagnostische Mittel (Leistra et al., 2001; Paterson, 1995). Zu empfehlen sind in Deutschland z.B. Pferde- oder Kängurufleisch mit Kartoffeln, Spinat oder Kürbis. Wild oder Kaninchen mit Kidneybohnen oder Süßkartoffeln sind weitere, möglicherweise geeignete Kohlenhydrat- und Eiweißquellen. Ernährungsphysiologisch ist eine Eliminationsdiät und damit verbundene einseitige Ernährung für den angegebenen Zeitraum der diagnostischen Eliminationsdiät beim ausgewachsenen Hund akzeptabel.

Falls eine selbst gekochte Diät für die Besitzer nicht in Frage kommen sollte, oder das Diätfutter nicht akzeptiert wird, ist es auch möglich, eine kommerzielle Diät mit ungewöhnlichen Protein- und Kohlenhydratquellen (die der Hund vorher nie erhielt) zu füttern. In einer Studie von Leistra et al. konnten auf diese Art und Weise 38 von 40 (95%) Hunden mit FU identifiziert werden, deren Diagnose vorher durch eine selbstgekochte Diät gestellt wurde (Leistra et al., 2001). Allerdings mussten bei diesen Hunden häufig mehrere kommerzielle Diäten nacheinander durchgeführt werden, um eine Besserung zu erzielen.

Die kommerziellen Diäten sollten auf jeden Fall frei von Rind, Schwein, Huhn, Truthahn, Eiern, Weizen-, Soja-, Reis- und Milchprodukten sein, da diese in den meisten Futtermitteln zumindest in geringen Mengen vorhanden sind. Es sind auch kommerzielle Diäten mit hypoallergenem Futter auf der Grundlage von hydrolysierten Proteinen beschrieben (Biourge et al., 2004; Loeffler et al., 2004). Dabei liegt die durchschnittliche Größe der Moleküle bei 3000–6000 Dalton. Die Proteinhydrolysate wirken durch ihre geringe Größe kaum allergen und sind außerdem hochverdaulich. Dieser Punkt ist wahrscheinlich von großer Bedeutung, weil das Immunsystem nicht aktiviert wird, wenn ein aufgenommenes Protein verdaut wird, bevor es Kontakt mit der gastrointestinalen Mukosa hat (Biourge et al., 2004). Antikörper, welche intaktes Sojaprotein erkennen, können bei *in-vitro*-

Untersuchungen hydrolisierte Sojaproteinquellen deutlich weniger gut binden (McNell et al., 2001). Bei der Auswahl einer individuell geeigneten Eliminationsdiät sind die Größe des Hundes und damit der Preis durch den Verbrauch an Futter, die Verfügbarkeit von ungewöhnlichen Protein- und Kohlenhydratquellen, die dem Besitzer zur Verfügung stehende Zeit und Möglichkeit der Futterbesorgung und -zubereitung und die Verträglichkeit des Futters für das Tier selbst, die entscheidenden Kriterien.

5.1.2 Provokation

Bei deutlicher Besserung der Symptome während der Eliminationsdiät wird anschließend die ursprüngliche Diät gefüttert. Die Symptome können sich schon innerhalb von Stunden oder wenigen Tagen wieder verschlechtern. Es kann aber auch bis zu 14 Tage dauern, bis eine Veränderung eintritt (Harvey, 1993). Sobald eine Verschlechterung bemerkt wird, sollte sofort wieder auf die Eliminationsdiät umgestellt werden. Wenn in den ersten 14 Tagen der Provokation keine Veränderung der Symptome eintritt, ist davon auszugehen, dass die ursprüngliche Besserung durch andere Faktoren als die Diät verursacht wurde und keine FU vorliegt. Alle Autoren sind sich darüber einig, dass eine deutliche Besserung während der Eliminationsdiät und ein Rezidiv nach Provokation für FU mit nachfolgender erneuter Besserung auf Diät diagnostisch sind (Chesney, 2002; Jackson, 2001; Rosser, 1993). Den meisten Tierbesitzern wird diese Diagnose ausreichen, wenn der Hund eine deutliche Besserung der Krankheitssymptome zeigt und das Diätfutter ausreichend gut akzeptiert. Um allerdings das FU auslösende Futter zu identifizieren, müssen nach Stellung der Diagnose einzelne Futtermittelkomponenten bei weiterführender Eliminationsdiät in die Diät eingebracht werden (Chesney, 2002; Mueller und Tsohalis, 1998). Wenn sich die Symptome nach 14 Tagen nicht verschlechtern, kann dieses Futtermittel als Ursache für FU ausgeschlossen werden und eine weitere Futtermittelkomponente eingeführt werden, solange bis das FU auslösende Futtermittel durch Verschlechterung der Symptome identifiziert ist. Wenn dies geschehen ist, muss dieses Futtermittel sofort wieder aus der Diät eliminiert werden und darf für dieses Tier nicht mehr zugänglich gemacht werden.

5.2 Patientenbetreuung

Während der Diät sind eine regelmäßige Kontrolle der Patienten und eine enge Zusammenarbeit mit dem Besitzer notwendig, um den diagnostischen Erfolg zu gewährleisten. Die Befolgung der Fütterungsanweisung durch den Tierbesitzer während der Diät ist das größte Problem bei der Erstellung einer akkuraten Diagnose von FU bei Hunden. Von 28 Hunden mit Verdacht auf FU, die an einem diagnostischen Fütterungsversuch mit selbstgekochter Diät für 6-8 Wochen teilnahmen, konnten 10 dieser Hunde den Fütterungsversuch nicht beenden (Tapp et al., 2002). Die Gründe für einen Abbruch der Diät können vielfältig sein. Dazu gehören zum Beispiel die zusätzlichen Kosten für die Diät, die zusätzliche Zeit für die Nahrungsvorbereitung, die Ablehnung oder ungenügende Toleranz des Diätfutters durch das Tier, das Unvermögen des Besitzers, das Angebot an anderen zur Verfügung stehenden Futtermitteln zu limitieren, Frustration über den klinischen Zustand des Hundes, schlechte Verständigung zwischen Arzt und Klient, oder ein Klient der nicht glaubt, dass Futter ein möglicher Grund für das Auftreten der klinische Symptome ist (Kennis, 2006). Die Studie von Tapp et al. scheint bezüglich der Dokumentation über die Abbrüche der Diät eine Ausnahme zu sein. Chesney schreibt in seiner quantitativen Studie über die Sensibilität gegenüber Futtermitteln bei Hunden, dass es kaum Studien gibt, die beschreiben, welche Anzahl von Tieren die Eliminations- oder Provokationsdiät nicht beendet haben, oder die aufführen, welche Gründe zu diesem Abbruch geführt haben. Er selbst konnte die unerwartet hohe Rate an Aussteigern in seiner Klinik innerhalb von zwei Jahren signifikant verringern und die Kooperation mit den Klienten verbessern. Dazu wurde das Bemühen verstärkt, die Tierbesitzer und ihren Enthusiasmus einzubeziehen. Es wurden visuelle Hilfen für das Verständnis der Krankheit und die Zusammenhänge geschaffen und diese auch an die Patientenbesitzer verteilt. Die Besitzer wurden verstärkt darüber aufgeklärt, dass, wenn Futtermittelsensibilität bestimmten Futtermittel gegenüber besteht und diese identifiziert werden können, deren Vermeidung einfach ist und somit die Kontrolle über den Juckreiz auch einfach ist. Diese Art der Aufklärung ist bei einer wahrscheinlich lebenslangen Krankheit von großer Bedeutung (Chesney, 2002).

In der Praxis sind außerdem engmaschige Wiederholungsbesuche (mindestens alle

3–4 Wochen) und Telefonanrufe zwischen den Besuchen eine gute Möglichkeit den Besitzer zu motivieren, Fragen zu beantworten, eventuelle Unklarheiten zu beseitigen und die genaue Einhaltung der Diät zu erfragen. Oft macht es auch Sinn, den Besitzer eine Liste zur Darstellung der täglichen Veränderungen des Juckreizes und des Kotabsatzes, sowie sonstiger Auffälligkeiten führen zu lassen.

5.3 Serologische Tests

Derzeitige serologische Tests sind zur Diagnose von FU sicher nicht geeignet und sie ersetzen auf keinen Fall eine Eliminationsdiät. Die Messung von allergenspezifischem IgE für Futterantigene im Serum durch monoklonale Antikörper hat sich in der Vergangenheit als nicht zuverlässig erwiesen (Mueller und Tsohalis, 1998). Der Nachweis von IgG mittels eines Fc-spezifischen polyklonalen Anti-IgG-Antikörpers und der Nachweis von IgE mittels eines monoklonalen Anti-IgE-Antikörpers zeigte wenig reproduzierbare Resultate (Wilhelm und Favrot, 2005). Außerdem wurden auch bei Hunden ohne gastrointestinale oder dermatologische Symptome hohe Konzentrationen von Antikörpern (IgG und IgE) gegen Futtermittel gemessen (Foster et al., 2003). In einer Studie von Jackson misst diese die dynamischen Änderung von allergen-spezifischem IgE in Serum und Fäces in Abhängigkeit zur Antigenexposition durch Nachweis von IgE mittels eines monoklonalen Anti-IgE-Antikörpers für Serum IgE durch ELISA und mittels eines monoklonalen Mausantikörpers für fäkales IgE. Die Messung erfolgte bei einer homogenen Gruppe an Malteser x Beagle Hunden mit nachgewiesener FU und einer inhomogenen Kontrollgruppe, in der keiner der Hunde jemals Symptome von FU zeigte. Die Ergebnisse zeigen, dass es keine Unterschiede in der Konzentration von fäkalem IgE bei beiden Gruppen gibt, allerdings war die totale Serumkonzentration an IgE bei der Gruppe mit den Maltese x Beagle Hunden signifikant größer als bei der Kontrollgruppe (Jackson und Hammerberg, 2002).

Selbstverständlich sind Serumtests für Antigen-spezifisches IgE und IgG überhaupt nicht in der Lage, Tiere mit zell-mediiertes, toxischer, pharmakologischer oder idiosynkratischer Futterreaktion zu identifizieren, da bei diesen Patienten IgE keine Rolle in der Pathogenese spielt. Nur eine geeignete

Eliminationsdiät wird bei der Diagnose solcher Patienten hilfreich sein.

Eine aktuelle Studie (Schaefer et al., 2011) beschäftigt sich mit den positiven und negativen Vorhersagewerten des Epikutan-Tests (Patch-Test) und des Serumtests. Dabei deutet die hohe Sensitivität und der hohe negative Vorhersagewert des Epikutan-Tests und zu einem geringeren Grad auch des serologischen Tests für Futtermittel-spezifische Antikörper darauf hin, dass wenn ein Antigen keine Reaktion bei diesen Tests zeigt, dieses Antigen eine gute Wahl für eine Eliminationsdiät ist (Schaefer et al., 2011). Somit können auf der Grundlage dieser Studie Bestandteile der Eliminationsdiät nach den Ergebnissen des Epikutan-Test und des serologischen Test ausgewählt werden.

6. Therapie/ Medikation

Tiere, bei denen FU diagnostiziert wurde, müssen lebenslang mit einer speziellen Diät ernährt werden, die allerdings auf jedes Tier individuell abgestimmt werden kann. Die Prognose für FU ist gut, wenn es möglich ist, die beteiligten Antigene zu eliminieren. Allergische Reaktionen auf bestimmte Bestandteile des Futters können sich eventuell im Laufe des Lebens verändern. Einige Hunde können innerhalb von ein bis drei Jahren neue Sensibilitäten gegenüber Futtermitteln entwickeln (White, 1988). Somit ist bei plötzlicher Verschlechterung der Symptome auch an eine Überprüfung der bestehenden Diät zu denken. Eine selbstgekochte Eliminationsdiät ist auf Dauer in der Regel ernährungsphysiologisch nicht ausgewogen (Roudebush und Crowell, 1992). Es muss in solchen Fällen eine entsprechende Vitamin- und Mineralstofffuttermischung zugefüttert werden. Weitere eventuell im Haushalt lebende Tiere müssen separat gefüttert werden. Wenn das nicht gewährleistet werden kann, ist es sinnvoll, alle zum Haushalt gehörenden Tiere mit der Eliminationsdiät zu füttern. Hunde, die dazu neigen, unkontrolliert Futter aufzunehmen, müssen unter strenger Aufsicht, eventuell sogar ausschließlich mit Leine und/ oder Maulkorb ausgeführt werden. In seltenen Fällen kann es auch zu einer Sensibilisierung gegenüber der neuen Diät kommen. Dann muss erneut ein passendes Futter gefunden werden. Es wurde die These aufgestellt, dass es für

Hunde ein immunologisches Fenster gibt, in welchem sich die Wahrscheinlichkeit der Sensibilisierung gegenüber Futtermitteln, vergrößert (White, 1986). Somit wäre es möglich, Hunde, bei denen von einer genetischen Prädisposition ausgegangen werden kann, in ihrer Kindheit und Jugend mit nur einer bestimmten Proteinquelle zu füttern, welche sich im späteren Leben leicht aus dem Nahrungsangebot eliminieren lässt (Kennis, 2002). Analog zur Humanmedizin, wo Kinder mit Neigung zur Atopie hydrolysierte Nahrung bekommen (Dahlgren et al., 2001), wäre es auch möglich, junge Hunde mit bekannter Prädisposition für AD mit hydrolysierte Diät zu ernähren (Kennis, 2006). Es sollte aber langfristig in Betracht gezogen werden, von FU betroffene Tiere von der Zucht auszuschließen.

Hunde mit AD bedingt durch Umweltallergene, FU oder Flohspeichelallergie sind für sekundäre Staphylokokken- und/ oder Malassezieninfektionen der Haut prädisponiert (DeBoer und Marsella, 2001; White, 1986).

Bei Verschlimmerung der allergisch bedingten Hautläsionen beim Menschen können Staphylokokken von den meisten dieser Hautläsionen kultiviert werden und viele dieser Staphylokokkenstämme sind potente Produzenten von Staphylokokkensuperantigenen (Leung und Bieber, 2003). Diese Superantigene verbinden den MHC Rezeptor der Antigen-präsentierenden Zellen mit dem T-Zellrezeptor nicht nur durch Bindung in der normalerweise für das Antigen spezifischen Lokalisation, sondern auch weniger spezifisch. Durch diesen Prozess erfolgt sowohl antigen-spezifische, als auch antigen-unspezifische T-Zell Aktivierung. Dieser synergistische Mechanismus führt zu proinflammatorischen Signalen im Immunsystem der Haut und aktiviert bis zu 10000mal so viele T-Zellen wie antigen-spezifische Aktivierung (Leung und Bieber, 2003). Die therapeutische Eliminierung von Staphylokokken erklärt den Steroid-sparenden Effekt, welcher bei oraler Antibiose oder topischer antiseptischer Behandlung von AD auftritt (Wollenberg und Bieber, 2000). Es ist davon auszugehen, dass Staphylokokkensuperantigene auch beim Hund eine Rolle spielen (Morales et al., 1994). Die antimikrobielle Therapie von Infektionen der Haut mit *Malassezia* oder Staphylococci ist auch deswegen besonders wichtig, da auch beim Hund, mikrobiologische Virulenz und die Reaktion des Wirt-Organismus eine entscheidende Rolle bei der Genesis der klinischen Symptome zu spielen scheinen (Olivry et al., 2010). Die International Task Force on Canine Atopic Dermatitis

hat aktuell eine Richtlinie für die Behandlung der caninen atopischen Dermatitis veröffentlicht, in der eine individuell abgestimmte Therapie für jeden einzelnen Patienten empfohlen wird (Olivry et al., 2010). Für Hunde mit FU ist neben der antimikrobiellen Therapie (topisch oder oral) auch der Einsatz topischer und/ oder oraler Glucokortikoide, sowie eventuell die Verwendung von Shampoos zur Fellpflege und –hygiene, geeignet. Dies kann gerade zu Beginn der Krankheit, oder aber beim erneuten Ausbruch der Symptome sinnvoll sein.

III FOOD ALLERGEN-SPECIFIC IGG AND IGE BEFORE AND AFTER ELIMINATION DIETS IN ALLERGIC DOGS

Anja Zimmer^a, Jennifer Bexley^b, Richard E.W. Halliwell^c, Ralf S. Mueller^d

^a Kleintierpraxis Pedot, Karl-Marx Str. 55, 12529 Berlin, Germany

^b Avacta Animal Health, Biocentre, York Science Park, York, YO10 5NY, United Kingdom

^c University of Edinburgh, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, Easter Bush Veterinary Centre, Roslin, Midlothian, EH25 9RG, UK

^d Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig Maximilian University Munich, Veterinaerestr. 13, 80539 Munich, Germany

Veterinary Immunology and Immunopathology 2011, 144: 442-447

Abstract

Serum food allergen-specific antibody testing is widely offered to identify suitable ingredients for diets to diagnose adverse food reaction (AFR) in dogs with allergic skin disease. Antibody concentrations in blood samples obtained during an unsuccessful diet to help in the choice of diet changes may be influenced by the previous diet. The objective of this paper was to measure food antigen-specific IgE and IgG for the most commonly used 16 food antigens before and after an elimination diet. Levels of food-specific serum IgE and IgG antibodies were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Dogs had detectable IgE antibodies to beef, pork, lamb and cows' milk; and detectable IgG antibodies to beef, pork, lamb, cows' milk, chicken and turkey. Of 19 dogs with complete data sets, 14 dogs showed clear improvement during diet and in 7 dogs AFR could be diagnosed by deterioration on rechallenge and subsequent improvement on refeeding the diet. Serum was obtained before and 6-8 weeks after beginning such a diet. There was no significant difference in pre- and post-diet levels for any of the individual allergens nor for the total IgE and IgG concentrations of all antigens ($P=0.55$ and $P=0.53$ respectively). In these 19 dogs in which an elimination diet was used for the diagnosis of food allergy and in which 14 were probably food allergic and 7 were proven food allergic there were no significant differences in food-specific antibodies before and after an elimination diet of 6-8 weeks.

Key words

allergic skin disease – food allergy – adverse food reaction – serum antibodies – serum testing – elimination diet

1. Introduction

Adverse food reaction (AFR) is defined as any clinically abnormal response attributed to the ingestion of a food or food additive. AFRs are categorized as either food allergy or food intolerance reactions. Food allergy/ food hypersensitivity is immunologically mediated in contrast to non-immunologically mediated food intolerance reactions such as food poisoning, pharmacological, metabolic reaction or idiosyncratic reactions (Hillier and Griffin, 2001). Various studies reported different incidences of cutaneous AFRs in veterinary practice (Loeffler, et al., 2004; Chesney, 2002; Wilhelm and Favrot, 2005).

Atopic disease (AD) is a common problem in small animal practice and atopic disease caused by food antigens versus AD caused by environmental antigens may be difficult to distinguish clinically (Picco, et al., 2008). Historical information such as diet changes, non-seasonal clinical signs or gastrointestinal abnormalities such as vomiting or diarrhoea may increase the index of suspicion for a diagnosis of AFR (Hillier and Griffin, 2001). The gold-standard of diagnosis for AFR in dogs is response to a strict elimination diet fed for up to a minimum of 6-8 weeks followed by a relapse following provocation challenge with the previous diet for up to 14 days (Rosser, 1993). Dietary trials with home-cooked elimination diets (Rosser, 1993; Chesney, 2002), hydrolysed protein diets (Loeffler, et al., 2004; Biourge, et al., 2004) and commercial diets with unusual protein and carbohydrate sources (Leistra, et al., 2001) are all reported to be useful. A significant improvement during an elimination diet and a recurrence of clinical signs after challenge is strongly supportive of a diagnosis of AFR. If improvement is again observed upon feeding the elimination diet, the diagnosis is confirmed. Serological testing is offered for antibodies against a variety of food antigens. However, many food ingredients provoke IgE and IgG antibodies in patients who do not show any cutaneous or gastrointestinal signs (Foster, et al., 2003). In one study, increases in soy and corn-specific serum IgE concentrations were observed in sera from individual dogs post-challenge when measured by ELISA (Jackson, et al., 2003). In another study, corn-specific serum IgE decreased in five dogs with suspected food hypersensitivity to corn in response to elimination of corn protein from the diet (Jackson and Hammerberg, 2002). The positive and negative predictability of a patch test and serum test was tested in a recently presented study (Schaefer, et al., 2011). The high sensitivity and negative

predictability of the patch test and to a lesser degree of serum testing for food antigen-specific antibodies indicates, that if an antigen does not show a reaction on this test, it is a good choice for an elimination diet (Schaefer et al., 2011). A clinician may consider serum testing during or directly after an elimination diet due the lack of response to this diet, to identify suitable allergens for a diet change. However it is not known if serum antibodies against foodstuffs will decrease during an elimination diet rendering results of serum testing difficult to interpret.

The aim of this paper was to investigate whether an elimination diet of 6-8 weeks influences the serum levels food antigen-specific serum IgE and IgG antibodies.

2. Materials and methods

2.1. Study objects

Dogs suspected to have an AFR or AD caused by environmental allergens based on their history, clinical signs and exclusion of differential diagnoses such as cutaneous infections or ectoparasites were included in the study. Other differential diagnoses were excluded by ectoparasite control, results of cutaneous cytology, response to antibiotic therapy, results of fungal cultures, blood biochemistry, measurements of thyroid hormones and others tests as appropriate. The dogs were presented to the Dermatology Service of the Centre for Clinical Veterinary Medicine of the Ludwig Maximilian University Munich and two small animal practices in Berlin. Systemic glucocorticoids were not permitted for three weeks before and during the diet trial. Other anti-inflammatory therapy (fatty acid supplementation or antihistamines) was discontinued two weeks prior to the trial. Bacterial and yeast dermatitis or otitis was treated as appropriate and ectoparasite control was achieved with monthly application of a topical spot-on (Stronghold[®], Pfizer, Berlin, Germany). Long-term therapies, such thyroxine supplementation or treatment for epilepsy, were continued throughout the trial if dogs had received these treatments for at least four weeks prior to the trial and they were not flavoured with proteins such as beef or pork.

2.2. Elimination diet

Each dog was fed a home-cooked elimination diet consisting of a mixture of a carbohydrate and a protein not previously fed or a commercial diet with hydrolysed proteins for 8-10 weeks. Details of the diet are given in Table 1. If the dogs improved on the diet, they were fed with the previous original diet for 10-14 days. There was intensive counselling of owners to ensure that no other food or food-flavoured supplements were administered during the diet trial. The owners used a diary to record defecation, pruritus or any gastrointestinal signs.

2.3. Evaluation of serum IgG and IgE antibodies

Blood samples for serologic testing were obtained before the diet trial and in dogs improving on the diet a second sample was taken directly at the end of trial. Fifty-seven specimens were obtained, 27 samples before and after diet and 3 samples after the rechallenge. Serum was separated by centrifugation and stored at -20°C prior to analysis. Food allergen-specific IgG and IgE in canine sera were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at Avacta Animal Health, York, UK. Allergen-specific IgE and IgG against beef, pork, lamb, duck, chicken, turkey, wheat, soybean, barley, rice, potato, corn, oat, cows' milk, egg, and white fish were measured. Allergen-specific IgE and IgG against bean, deer and horse could not be measured, because ELISA testing for those antigens was not available for measurement.

2.3.1 Antisera

Polyclonal goat anti-dog IgG (gamma-specific)-peroxidase conjugate (Kirkegaard and Perry Laboratories [KPL], Gaithersburg, MD, USA) was used for the detection of IgG.

Monoclonal biotinylated anti-canine IgE (5.91; Bruce Hammerberg, North Carolina State University, Raleigh, USA) was used for the detection of IgE.

2.3.2 Allergen Extracts

All allergen extracts were purchased from Greer Laboratories (Greer Laboratories, Lenoir, NC, USA), except duck extract which was purchased from Squarix Biotechnology (Squarix Biotechnology, Marl, Germany).

2.3.3 Food-specific IgE and IgG ELISAs

Levels of allergen-specific serum IgE and IgG antibodies were measured by ELISA using modified protocols of previously described assays (Bexley et al., 2009; Foster et al., 2003). Briefly, polystyrene microtitre plates were coated with food antigens (Greer Laboratories Inc., Lenoir, NC, USA) diluted in 0.05 M carbonate/bicarbonate buffer. Wells were then blocked with 0.2% fish gelatin. Samples were assayed in duplicate at dilutions of 1/10 (IgE) and 1/400 (IgG). Each plate contained a five-point standard curve prepared by assaying serial two-fold dilutions of a dog serum sample with high levels of beef-specific IgE or IgG, as appropriate. Food-specific serum IgE and IgG antibodies were detected using biotinylated monoclonal 5.91 (Bruce Hammerberg, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA) and polyclonal goat anti-dog IgG peroxidase (Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA), respectively. Absorbances were determined at 450 nm using an ELISA plate reader (Molecular Devices Co, Sunnyvale, CA, USA), with subtraction of mean blank (un-coated) well optical density (OD). Results were expressed as arbitrary units (AUs) by reference to the standard curve.

2.4. Statistics

Pre- and post-diet serum concentrations of allergens not fed during the elimination diet trial were compared with a Wilcoxon matched pairs test. In addition to comparing the antibody concentrations against individual allergens, scores for antibodies against all individual antigens were added up to form a total antibody score for each dog. The total scores before the diet and those after the diet were also compared with a Wilcoxon matched pairs test. IgE and IgG concentrations of dogs on a home-cooked diet were compared with those on a commercial diet with a Kruskal Wallis test and Dunn's post test. Graphpad Instat

3.01 (Graphpad, San Diego, CA, USA) was used and a two-tailed P-value of 0.05 was considered significant.

3. Results and Discussion

3.1. Study objects

Of the 98 dogs initially included in this study, only 19 dogs were evaluated with complete data sets. In most of the other dogs, there was no improvement at all during the elimination diet, in some dogs owner compliance prevented an evaluation, whilst in others it was impossible to obtain a complete set of blood samples. Fourteen of the dogs, who participated in this study showed a good response to the diet and in a further five dogs the response was questionable or only very subtle. Of the 14 dogs with a good response deterioration upon rechallenge was seen in seven dogs, in one dog the reaction was not clear, but the owner refused a further rechallenge after returning to the diet. In six dogs the owner refused to perform a rechallenge altogether and in the five dogs with no significant improvement during the elimination diet a provocation did not change the clinical signs. In addition, blood samples could only be obtained from three dogs after a positive rechallenge with the previous diet, because the owners of the other dogs either refused further sampling or lived a long way from the clinic, did not come back for a reevaluation, but were contacted by telephone instead and were thus lost to follow up.

The age, gender and breed of the dogs and the diets used are listed in Table 1.

3.2. Concentrations of serum food-specific IgE

IgE against duck, egg and white fish could not be detected, and only one dog had IgE against chicken and turkey, respectively. Only two of the blood samples contained IgE against wheat, soybean, barley, rice, potato, oat and corn; both were post-diet and from the same two dogs. None of these allergens were included in the statistical evaluation due to the low number of reactions. For the remaining allergens (beef, pork, lamb and milk), the mean IgE concentrations before and

after the diet are listed in Table 2, the individual values in Table 3. There was no significant difference between the serum food specific antibodies before and after the diet for any of the individual allergens nor for the grouped IgE concentrations of all antigens ($P=0.55$). Similarly, there was no difference between the IgE concentrations of dogs on a commercial diet compared to those on a home-cooked diet.

3.3. Concentrations of serum food-specific IgG

IgG against white fish could not be detected, and only one dog had IgG against potato and egg, respectively. Only two of the blood samples contained IgG against wheat and barley, and four dogs reacted against soybean. None of these allergens were included in the statistical evaluation due to the low number of reactions. For the remaining allergens (beef, pork, lamb, milk, chicken and turkey), the IgG concentrations before and after the diet are listed in Table 4 and the individual concentrations of the four allergens against which antibodies were most commonly found, in Table 5. There was no significant difference between the serum food specific antibodies before and after the diet for any of the individual allergens nor for the grouped IgG concentrations of all antigens ($P=0.53$). Similarly, there was no difference between the IgG concentrations of dogs on a commercial diet compared to those on a home-cooked diet.

Many authors describe specific IgE and IgG serum concentration for detection of AFRs as not acceptable. Testing with a polyclonal IgE antibody was not considered to be reproducible (Wilhelm and Favrot, 2005), and measurement of serum allergen-specific IgE to food allergens with a monoclonal ELISA test was reported unreliable (Mueller and Tsohalis, 1998). Many food ingredients provoke antibodies (IgE and IgG) in patients who do not show any dermatological or gastrointestinal symptoms (Foster, et al., 2003). However, a recent study showed a reasonable sensitivity and negative predictability of serum testing for food antigens and recommended the use of serum testing as a helpful tool to select an elimination diet (Schaefer, et al., 2011). The current study was not designed to detect AFRs. The purpose was to evaluate the change in antibodies during an elimination diet where the patients were not exposed to the antigens tested. It

would have been interesting to test the allergens fed during the elimination diet. Unfortunately there does not exist a serological test against bean, deer or horse to the authors knowledge. One dog was fed a diet based on hydrolyzed soybean and showed a mild positive reaction after, but not before the diet, indicating that antibody production to soy may be possible while being fed a hydrolyzed soy diet. Few studies exist that evaluate the change in serum concentration of food specific antibodies depending on the offered diet (Jackson and Hammerberg, 2002; Jackson, et al., 2003). In these studies, clinically relevant parameters could not be seen with changes of specific antibody serum concentration and concentrations could not be used to predict clinical hypersensitivity. Although we saw significant clinical improvement with the elimination diets and could measure food-specific IgE and IgG, the serum concentration of these antibodies did not change during the diet despite a lack of allergen exposure during that time. In most patients, a lack of response to an elimination diet is due to the fact that clinical signs are caused by environmental rather than food antigens. In some patients however, a lack of response to the diet may be due to a cross-reactivity of the dietary antigen with previously fed antigens rather than an absence of an adverse food reaction. Based on this study, serum test results for food specific antibodies are not changed by an elimination diet. This means that a clinician can choose the ingredients of a new elimination diet based on testing of serum obtained at the end of or during the first diet.

Many of the dogs participating in this study may have been dogs allergic to environmental allergens as well. Dogs with atopic dermatitis due to environmental allergens have higher serum concentrations of food specific IgE than healthy dogs and dogs with gastrointestinal disease (Foster, et al., 2003; Halliwell, et al., 2005). In many studies (White, 1986; Carlotti, 1990; Rosser, 1993; Harvey, 1993) a variable number of patients with AFRs had clinical signs of atopic dermatitis. A clinical differentiation between AD caused by food antigens and AD caused by environmental allergens is not possible (Picco, et al., 2008; Favrot, et al., 2010). Olivry, et al. (2007) recommended that all dogs with atopic dermatitis should be assessed for the possible contribution of food antigens to their manifestations of AD. Clinical improvement of a dog with environmentally induced atopic dermatitis on an elimination diet may be due to either a change in the environmental load of the offending allergens or a concurrent AFR characterised

by signs of clinical dermatitis resolving because of the diet or both. Currently, the role of IgE-mediated mediated hypersensitivity in canine AFRs has not been clearly established (Hillier and Griffin, 2001). Furthermore, variations in serum concentration of food specific IgE and IgG can be measured even in clinically normal dogs independent of diet (Foster, et al., 2003). In human medicine, antibody production against ingested foods is a universal phenomenon in both children and adults, and is not associated generally with hypersensitivity against the ingested antigen (Johansson, 1984).

Alternatively, it could be possible that some dogs in this study had non-immunologically mediated AFRs such as food poisoning, pharmacological, metabolic reaction or idiosyncratic reactions (Hillier and Griffin, 2001). In these dogs, one would not expect a change in antibody concentrations with the positive clinical response to the exclusion diet. In humans, most of the AFRs are non-immunologically mediated (Sampson, 1999). In dogs, the prevalence and ratio of immunologically and non-immunologically mediated AFRs are unknown (Chesney, 2001).

In this study, some dogs showed very high high pre- and/ or post-diet serum concentrations of food-specific antibodies, whilst in other dogs, no changes could be measured. However, the results of the serum concentration of food-specific antibodies did not correlate to changes in diet.

A variety of factors may influence antigen-specific serum IgE production. These include possible genetic variation within and between breeds, the type of antigen, and the dose, route, frequency and interval of administration and concurrent other hypersensitivities (Foster, et al., 2003). The immune response may also be influenced by previous or concurrent gastrointestinal parasitic and microbial infections (Olsen, et al., 2000). Furthermore, adjuvants administered with vaccines, and the vaccines themselves may influence the serological responses (HogenEsch, et al., 2002; Tater, KC et al., 2005). Unfortunately, it was not recorded when the dogs participating in this study were vaccinated.

In conclusion, serum concentration of food-specific antibodies did not change during the elimination diet indicating that an elimination diet does not influence the results of serum testing for food-specific antigens.

Conflict of Interest

This study was self-funded. Jennifer Bexley is employed by the laboratory running the IgE and IgG assays, but was not informed of the specimen details prior to running the assays.

Acknowledgements

The authors would like to thank Drs. Sandra Tretter, Lisa Specht, and Martina Ley for help in gathering the blood specimens.

Table 1: Age, gender, breed and utilised diets of dogs with AFRs

<i>Dog No.</i>	<i>Age</i>	<i>Gender</i>	<i>Breed</i>	<i>Utilised diet</i>
1	< 1	M	Mix	Hills z/d Ultra dry food
2	6	M	Mix	Horse, Potatoes
3	< 1	FS	WHWT	Royal Canin, Hypoallergenic dry food
4	< 1	F	Giant Schnauzer	Royal Canin, Hypoallergenic dry food, Horse
5	< 1	M	French Bulldog	Royal Canin, Hypoallergenic dry food
6	2	F	WHWT	Ostrich, Potatoes
7	< 1	M	Beagle	Royal Canin, Hypoallergenic dry food
8	2	F	Labrador Retriever	Royal Canin, Hypoallergenic dry food
9	3	FS	Mix	Kangaroo, Potatoes, Buckwheat
10	1	MN	Golden Retriever	Horse, White Beans
11	1	MN	WHWT	Royal Canin, Hypoallergenic dry food
12	2	M	Tibet Terrier	Royal Canin, Sensitivity Control dry food
13	5	M	Tibet Terrier	Horse, Potatoes
14	4	M	Golden Retriever	Beans, Potatoes

15	1	M	WHWT	Deer, Potatoes
16	10	FS	WHWT	Horse, Potatoes, Beans
17	< 1	FS	Doberman	Horse, Potatoes
18	5	FS	Cocker Spaniel	Horse, Potatoes
19	2	F	Boxer	Horse, Potatoes

WHWT - West Highland White Terrier

Table 2: Mean (\pm SD) serum IgE concentrations (in Arbitrary Units) against food antigens before and after an elimination diet in dogs (n = 19) with AFRs.

	Pre-diet concentrations	Post-diet concentrations	P-value comparing pre- and post-IgE concentrations (Wilcoxon matched pairs test)
Beef	2.37 \pm 1.78	2.13 \pm 1.6	0.67
Pork	0.53 \pm 0.82	0.26 \pm 0.42	0,26
Lamb	1.13 \pm 1.46	1.05 \pm 1.2	0,78
Cows' Milk	1.84 \pm 1.63	1.79 \pm 1.8	0,92

Table 3: Pre-and post-diet IgE antibody concentration in AU (arbitrary units) against selected food antigens in allergic dogs

Dog No.	beef-specific	pork-specific	lamb-specific	milk-specific
	pre IgE - post IgE	pre IgE - post IgE	pre IgE - post IgE	pre IgE - post IgE
1	2 - 1.5	0 - 0.5	0 - 0.5	2 - 1
2	5 - 0	0 - 0	2 - 0	4 - 0
3	0 - 2	0 - 0	1 - 2	0 - 4
4	2.5 - 0.5	1 - 0	0.5 - 0	2 - 0.5
5	2 - 2.5	0.5 - 0	0.5 - 2	1 - 2
6	4 - 0	0 - 0	0 - 0	3 - 0
7	0 - 2	0 - 0	0 - 0	0 - 2
8	3 - 2.5	0 - 1	2 - 3.5	2 - 3.5
9	3 - 2	0.5 - 0	0 - 0	1.5 - 0
10	0 - 2	0 - 0	0 - 0	0 - 0
11	0 - 1	0 - 0.5	0 - 0.5	0 - 0
12	1 - 1	1 - 0	2 - 0	0 - 1
13	4 - 0	1 - 0	1 - 0	2 - 0
14	5 - 4.5	2 - 1	5 - 0	5 - 4
15	5 - 4	3 - 0	4 - 3	5 - 5
16	2 - 1	0 - 1	0 - 1	2 - 0
17	1.5 - 4	0 - 0	1 - 1	1 - 4
18	4 - 3	1 - 1	2.5 - 1.5	3.5 - 3
19	1 - 5	0 - 0	0 - 2	1 - 4

Table 4: Mean (\pm SD) serum IgG concentrations (in Arbitrary Units) against food antigens before and after an elimination diet in dogs (n = 19) with AFRs.

	Pre-diet concentrations	Post-diet concentrations	P-value comparing pre- and post-IgG concentrations (Wilcoxon matched pairs test)
Beef	1.76 \pm 1.18	1.6 \pm 1.1	0,66
Pork	0.66 \pm 0.67	0.61 \pm 0.51	0,79
Lamb	1.53 \pm 0.75	1.5 \pm 0.76	0,98
Cows' Milk	0.89 \pm 1.08	0.76 \pm 1	0,48
Chicken	0.26 \pm 0.45	0.11 \pm 0.31	0,23
Turkey	0.71 \pm 0.65	0.66 \pm 0.58	0,78

Table 5: Pre-and post-diet IgG antibody concentration in AU (arbitrary units) against selected food antigens in allergic dogs

Dog No.	beef-specific	pork-specific	lamb-specific	milk-specific
	pre IgG - post IgG	pre IgG - post IgG	pre IgG - post IgG	pre IgG - post IgG
1	1 - 1	0.5 - 0.5	2 - 0.5	0 - 0.5
2	1 - 1	0 - 0	1 - 2	0 - 1
3	1 - 1	1 - 1	1 - 1	0 - 0
4	1.5 - 0.5	1.5 - 0	2 - 0.5	1 - 0
5	1.5 - 2.5	0.5 - 1	2 - 2	1.5 - 1
6	1 - 5	0 - 0	0 - 2	0 - 4
7	0 - 1	0 - 0	0 - 1	0 - 0
8	2 - 2	0 - 1	1 - 1	0 - 0.5
9	1.5 - 2	1 - 1	2 - 3	1.5 - 0
10	1 - 1	2 - 0.5	2 - 1.5	0 - 1.5
11	2 - 1	1 - 1	3 - 2	1 - 0.5
12	4 - 0	1 - 1	1 - 1	0 - 2
13	5 - 2	1 - 0	2 - 1	2 - 0
14	3 - 2	0 - 1.5	2 - 1	4 - 1.5
15	2 - 2	0 - 1	1 - 3	2 - 1
16	1.5 - 1	0 - 1	1.5 - 1	0 - 0
17	2.5 - 3	0.5 - 0	1.5 - 2.5	1.5 - 0
18	1 - 0	0.5 - 1	2 - 1	1.5 - 1
19	1 - 1.5	2 - 0	2 - 1.5	1 - 0

References

- Bexley, J., Hogg, J.E., Hammerberg, B., Halliwell, R.E., 2009. Levels of house dust mite-specific serum immunoglobulin E (IgE) in different cat populations using a monoclonal based anti-IgE enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Dermatol.* 20, 562-568.
- Biourge, V.C., Fontaine, J., Vroom, M.W., 2004. Diagnosis of adverse reactions to food in dogs: Efficacy of a soy-isolate hydrolyzate-based diet. *J. Nutr.* 134, 2062S-2064S.
- Carlotti, D.N., Remy, I., Prost, C., 1990. Food allergy in dogs and cats. A review and report of 43 cases. *Vet. Dermatol.* 1: 55–62.
- Chesney, C.J., 2001. Systematic review of evidence for the prevalence of food sensitivity in dogs. *Vet. Rec.* 148, 445-448.
- Chesney, C.J., 2002. Food sensitivity in the dog: a quantitative study. *J. Sm. Anim. Pract.* 43, 203-207.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W., Picco, F., 2010. A prospective study of the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet. Dermatol.* 21: 23-31.
- Foster, A. P., Knowles, T.G., Moore, A.H., Cousins, P.D.G., Day, M.J., Hall, E.J., 2003. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 92, 113-124.
- Halliwell REW, Gordon CM, Horvath C et al., 2005. IgE and IgG antibodies to food antigens in sera from normal dogs, dogs with atopic dermatitis and dogs with adverse food reactions. In: Hillier A, Foster AP, Kwochka KW, eds *Advances in Vet. Dermatol.* 2005 Vol.5. Oxford, UK: Blackwell Publishing , 28-35.
- Harvey, R.G., 1993. Food allergy and dietary intolerance in dogs. A report of 25 cases. *J. Sm. Anim. Pract.* 34, 175–179.
- Hillier, A., Griffin C.E., 2001. 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.* 81, 227-231.

HogenEsch, H., Dunham, A.D., Scott-Moncrieff, C., Glickman, L.T., DeBoer, D.J., 2002. Effect of vaccination on serum concentrations of total and antigen-specific immunoglobulin E in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 63: 611-616.

Jackson, H.A., Jackson, M.W., Coblenz, L., Hammerberg, B., 2003. Evaluation of the clinical and allergen-specific serum immunological IgE responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy, and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Vet. Dermatol.* 14, 181-187.

Jackson, H.A., Hammerberg, B., 2002. Evaluation of a spontaneous canine model of immunoglobulin E-mediated food hypersensitivity: dynamic changes in serum and fecal allergen-specific immunoglobulin E values relative to dietary change. *Comp. Med.* 52, 316-321.

Johannsson, S., Dannaeus, A., Lilja, G., 1984. The relevance of anti-food antibodies for the diagnosis of food allergy. *Ann. Allergy* 53, 665-672.

Leistra, M.H., Markwell, P.J., Willemse, T., 2001. Evaluation of selected-protein-source diets for management of dogs with adverse reactions to foods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219, 1411-1414.

Loeffler, A., Lloyd, D.H., Bond, R., Kim, J.Y., Pfeiffer, D.U., 2004. Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs. *Vet. Rec.* 154, 519-522.

Mueller, R., Tsohalis, J., 1998. Evaluation of serum allergen specific IgE for the diagnosis of food adverse reactions in the dog. *Vet. Dermatol.* 9, 167-171.

Olivry, T., Deboer, D.J., Prélaud, P., Bensignor, E., 2007. International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *Vet. Dermatol.* 18, 390-391.

Olsen, M.E., Hardin, J.A., Buret, A.G., Gal, D.G., Hayek, M.G., 2000. Hypersensitivity reactions to dietary antigens in atopic dogs. In: Davenport, M.G., Hayek, M.G., Lepine, A.J., Sunvold, G.D., Tetrick, M.A. (Eds.), *Proceeding of the 2000 Iams International Nutritional Symposium on Recent Advances in Canine and Feline Nutritional Research*. Orange Frazer Press, Wilmington, pp. 69-77.

Picco, F., Zini, E., Nett, C., Naegeli, C., Bigler, B., Rüfenacht, S., Roosje, P., Gutzwiler, M.E., Wilhelm, S., Pfister, J., Meng, E., Favrot, C., 2008. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Vet. Dermatol.* 19, 150-155.

Rosser, E. J., 1993. Diagnosis of food allergy in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203, 259-262.

Sampson, H.A., 1999. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103, 717-728.

Schaefer, S., Bexley, J., Mueller, R.S., 2011. Patch testing in the evaluation of adverse food reactions in the dog. Proceedings of the 26. North American Veterinary Dermatology Forum, Galveston, Texas. *Vet. Dermatol.* 22: 292.

Tater, KC et al., 2005. Effects of routine prophylactic vaccination or administration of aluminum adjuvant alone on allergen-specific serum IgE and IgG responses in allergic dogs. *Am. J. Vet. Res.* 66:1572-1577.

White, S.D., 1986. Food hypersensitivity in 30 dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 695-698.

Wilhelm, S., Pfister, J., Meng, E., Favrot, C., 2008. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Vet. Dermatol.* 19, 150-155.

Wilhelm S., Favrot C., 2005. Futtermittelhypersensitivitäts-Dermatitis beim Hund: Möglichkeiten der Diagnose. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 147, 165-171.

IV DISKUSSION

1. Änderung der Serumkonzentration von futtermittelspezifischem IgG und IgE in Abhängigkeit von der angebotenen Diät

Bei keinem der getesteten Futtermittelantigene konnte eine Änderung in der Serumkonzentration von antigen-spezifischen Antikörpern IgG und IgE vor und nach der Eliminationsdiät festgestellt werden, was darauf schließen lässt, dass die Eliminationsdiät keinen Einfluß auf die Ergebnisse des serologischen Tests zur Bestimmung der Futtermittel-spezifischen Antikörper hat. Die Rolle von allergenspezifischem IgE in der Entwicklung von FAR ist nicht schlüssig demonstriert (Favrot, 2010), trotzdem sind dynamische Änderungen in der Serumkonzentration abhängig vom angebotenen Futter in einigen Studien beschrieben (Jackson and Hammerberg, 2002; Jackson, 2003). In der Studie von Jackson und Hammerberg konnte bei einer der studierten Hundegruppe ein Absinken des Mais-spezifischen IgE nach Elimination von Mais aus der Diät beobachtet werden. Gleichzeitig verbesserten sich die klinischen Symptome. Drei Tage nach Beginn der Provokationsdiät stiegen die Mais-spezifischen IgE und Pruritus erschien erneut. In der Kontrollgruppe derselben Studie konnte keine Änderung der spezifischen Serumkonzentration in Abhängigkeit von der Diät beobachtet werden und nur jeweils fünf Hunde gehörten zu einer Gruppe, so dass sich daraus keine relevanten Ergebnisse ableiten lassen (Jackson and Hammerberg, 2002). In der Studie von Jackson 2003 an vierzehn Hunden mit bekannter Hypersensitivität auf Soja und Mais waren die Ergebnisse der Messungen von Mais- und Soja-spezifischem IgE während der Eliminationsdiät sehr widersprüchlich. Obwohl es bei einigen Hunden eindeutige Erhöhungen der spezifischen IgE nach der Provokationsdiät gab, waren diese Ergebnisse nicht statistisch relevant. Bei anderen Hunden dagegen kam es zu einem Anstieg der spezifischen IgE während der Eliminationsdiät. Insgesamt konnten die Ergebnisse nicht dazu verwendet werden, von einer Änderung der IgE während der Diät auf klinische Hypersensitivität zu schließen (Jackson, 2003).

Auch in unserer Studie waren die Ergebnisse der im Serum gemessenen spezifischen Antikörper sehr widersprüchlich. In den meisten Fällen kam es zu einer klinischen Verbesserung der Symptome und es gab Hunde, die auf die Diät mit einem Absinken der spezifischen IgE Antikörper reagierten, aber genauso auch Tiere, deren spezifische IgE Werte gleich blieben oder sogar stiegen. Auf jeden Fall dienen die Ergebnisse nicht der Diagnose klinischer Allergie oder lassen auf einen möglichen direkten zeitlichen Zusammenhang zwischen angebotenen Futter und dessen spezifische Antikörper schließen.

In der Humanmedizin gibt es Studien, die diesen Zusammenhang darstellen. In einer Studie von Agata et al. werden Patienten mit atopischer Dermatitis und bekannter Sensitivität der peripheren mononuklearen Blutzellen (peripheral blood mononuclear cells - PBMC) auf Hühnereier oder Kuhmilch auf Eliminationsdiät gesetzt. Bei Patienten mit positivem Radioallergosorbent Test (RAST) und proliferativer Antwort der PBMCs auf Nahrungsmittelantigene sinken die spezifischen Antikörper während der Eliminationsdiät und können so als Index für den Effekt der Diät bei eben diesen Patienten genutzt werden (Agata et al., 1993).

In der Tiermedizin wird der auch in dieser Studie verwendete ELISA Test zur Bestimmung der IgE nicht als geeignet angesehen, um allergische Futtermittelreaktionen zu diagnostizieren. Die Messungen von futtermittelspezifischem IgE mit einem monoklonalen ELISA Test erwiesen sich als unzuverlässig, was dazu führte, dass eben dieser Test in Australien nicht für die Diagnose von FAR vermarktet wird (Mueller und Tsohalis, 1998). Der auf der Basis des in der Literaturübersicht beschriebenen FcEpsilon Rezeptors bestehende polyklonale FcEpsilon Rezeptor Test zur Messung von allergen-spezifischem IgE und der monoklonale ELISA Test zur Messung von allergen-spezifischem IgE können aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit zur Diagnosestellung nicht empfohlen werden (Wilhelm 2005). Bekannt ist, dass auch bei Hunden, welche weder dermatologische noch gastrointestinale Symptome zeigen, viele Futtermittelingredienten zur Bildung von spezifischen Antikörpern führen, wobei allerdings die Hunde mit AD höhere Antikörperkonzentrationen aufwiesen als die Hunde der Kontrollgruppen (Foster, 2003).

Diese Studie wurde aber nicht durchgeführt, um FAR zu diagnostizieren oder die daran beteiligten Antigene zu identifizieren. Vielmehr ging es darum, die Serumkonzentration der Antikörper vor und nach der Eliminationsdiät zu

bewerten, bei der die Patienten den Antigenen der gemessenen Antikörper nicht ausgesetzt waren. Erwartet wurde eine dynamische Änderung der Serumkonzentration der Futtermittel-spezifischen Antikörper in Abhängigkeit der angebotenen Diät, aber obwohl die klinischen Symptome sich während der Diät bei vielen Patienten oft deutlich verbesserten, konnte eine Änderung der Serumkonzentration der spezifischen IgG und IgE nicht beobachtet werden. Die Ergebnisse zeigten weder statistisch relevante Änderungen, noch konnte ein Trend beobachtet werden. Dafür kann es verschiedene Gründe geben. Weiterhin gilt es der Frage nachzugehen, warum in einigen Seren nach acht Wochen Eliminationsdiät immer noch teilweise sehr hohe Konzentrationen von spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden konnten, obwohl die dazu gehörenden Antigene als Futtermittel eliminiert wurden.

2. Atopische Dermatitis und Futtermittelreaktionen

Eine klinische Unterscheidung anhand der vorhandenen Symptome zwischen AD verursacht durch Umweltallergene und AD verursacht durch Futtermittel ist nicht möglich (Picco et al. 2008, Favrot et al. 2010). Picco et al. konnte in seiner Studie nachweisen, dass es nur geringfügige Unterschiede zwischen AD und FAR gibt. Die Studie konnte bestätigen, dass Hunde mit FAR beim Ausbruch der Krankheit in der Regel jünger sind als Hunde mit AD verursacht durch Umweltallergene. Hunde mit FAR sind außerdem anfälliger für Hefeinfektionen und gastrointestinale Symptome und die Saisonalität spielt bei Hunden mit FAR kaum eine Rolle (Picco et al. 2008). Favrot kann in seiner Studie demonstrieren, dass für AD verursacht durch Umweltallergene und für AD verursacht durch Futtermittel, welche klinisch nicht zu unterscheiden sind, auch dieselben diagnostischen Kriterien gelten (Favrot et al. 2010).

Für diese Studie gilt somit, dass die Hunde, die daran teilgenommen haben, möglicherweise zusätzlich zu FAR auch an durch Umweltallergene verursachte AD leiden. Eine Verbesserung der klinischen Symptome könnte sowohl durch die Veränderung der Exposition der Umweltallergene als auch durch die Änderung der Diät oder durch beides gleichzeitig verursacht worden sein. Bekannt ist

außerdem, dass Hunde mit AD verursacht durch Umweltallergene höhere Serumkonzentrationen von futtermittelspezifischem IgE aufweisen als die klinisch gesunden Hunde und Hunde mit gastrointestinalen Krankheiten (Foster, 2003). Dies reflektiert möglicherweise eine unspezifische Erhöhung der Antikörperproduktion auf eine Vielzahl von Antigenen bei Hunden mit AD, wobei die meisten Antikörper wahrscheinlich keine klinische Bedeutung haben (Foster, 2003; Halliwell und DeBoer, 2001).

3. Nicht-immunologisch verursachte Futtermittelreaktionen

Einer der Gründe für die inkonsistenten Ergebnisse bei der Messung der Serumkonzentrationen von IgE und IgG kann natürlich darin liegen, dass viele der an dieser Studie teilnehmenden Hunde unter einer nicht immunologisch bedingten FAR litten und daher die Aussagekraft der Serumkonzentration von IgG und IgE bei diesen Patienten sehr gering war. Nicht immunologisch bedingte Futtermittelreaktionen, wie Futtermittelintoxikation, pharmakologische, metabolische, oder idiosynkratische Reaktionen (Hillier and Griffin, 2001) können dieselben klinischen Symptome hervorrufen wie immunologisch bedingte Futtermittelreaktionen. Im Jahr 2001 schreibt Chesney in seiner systematischen Übersicht über den Nachweis der Prävalenz von Futtermittelhypersensitivität, dass sowohl die Prävalenz, als auch das Verhältnis von immunologisch und nicht-immunologisch bedingten Futtermittelreaktionen beim Hund nicht bekannt ist (Chesney, 2001). Nach meinem Wissen hat sich an dieser Aussage bis zum jetzigen Zeitpunkt nichts geändert.

In der Humanmedizin gibt es dazu unterschiedliche Angaben. In einer Studie von Sampson sind die meisten der Nahrungsmittelreaktionen beim Menschen nicht immunologisch bedingt (Sampson, 1999). In einer anderen Studie sind es ungefähr 20% der Patienten welche an einer Hautkrankheit leiden, die klinisch den Hautläsionen und dem Verteilungsmuster von AD ähnelt, aber nicht mit erhöhten Serum IgE Konzentrationen assoziiert ist und keine Sensibilisierung auf Umwelt- oder Nahrungsmittelallergene aufweist (Wollenberg 2000).

4. Rolle der spezifischen Antikörper bei der Pathogenese von FAR

Die Rolle der allergen-spezifischen Antikörper IgG und IgE bei der caninen Futtermittelreaktion ist nicht eindeutig beschrieben (Hillier and Griffin, 2001; Favrot et al. 2010). Verschiedene Untersuchungen kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen, die aber alle nahe legen, dass das Auftreten der Krankheit nicht besonders eng mit dem Vorhandensein von allergen-spezifischem IgE korreliert.

Das passt zu den Ergebnissen dieser Studie, bei der auch keine Korrelation zwischen dem Vorhandensein der spezifischen Antikörper im Serum und dem Futterangebot nachgewiesen werden konnte.

In der Humanmedizin ist die Antikörperproduktion ein universelles Phänomen bei Kindern und Erwachsenen und ist nicht generell mit einer Hypersensitivität gegen das vermutete Antigen assoziiert (Johansson, 1984). Das scheint auch für die Tiermedizin zu gelten.

In der schon erwähnten Studie von Foster treten auch Variationen in der Serumkonzentration von futtermittelspezifischem IgE und IgG unabhängig von der Diät bei klinisch unauffälligen Hunden auf (Foster, 2003). Studien, welche sich mit CAD befassen kommen zu dem Ergebnis, dass erhöhte Werte von allergen-spezifischem IgE nicht sicher Krankheiten verursachen und dass zusätzliche Faktoren, welche die Freisetzung von Mediatoren beeinflussen, involviert sein können (Peters, 1982; Jackson 1996).

Lian und Halliwell haben allergen-spezifisches IgE und IgGd Antikörper bei atopischen und klinisch unauffälligen Hunden untersucht. Bei gesunden Hunden ohne AD, die dem Allergen ausgesetzt waren, war zirkulierendes IgE nachweisbar, ohne dass diese Hunde jedoch klinische Symptome entwickelten (Lian und Halliwell, 1998). Andererseits können Hunde mit klassischen klinischen Symptomen von AD in umgekehrter Weise einen negativen Intrakutantest und/ oder allergen-spezifischen IgE Wert im Serum aufweisen (Marsella, 2003).

Bei Hunden mit AD wird von einer ähnlichen Th2-Lymphozyten Reaktion ausgegangen wie bei der humanen AD (Hill and Olivry, 2001; Hayashiya et al,

2002), welche eine signifikante IgE Erhöhung auf verschiedene Antigene einschließt, was aber nicht zwangsläufig klinische Bedeutung hat (Halliwell und DeBoer, 2001).

5. IgG und IgE Produktion beeinflussende Faktoren

Die antigen-spezifische Produktion von IgG und IgE wird möglicherweise von sehr vielen unterschiedlichen Faktoren beeinflusst. Das können eventuelle genetische Variationen innerhalb und zwischen den Rassen sein, die Art des Antigens und die Dosis, Richtung, Häufigkeit und Intervall der Verabreichung und konkurrierende AD bedingt durch Umweltallergene (Foster et al, 2003). Sogar Alter und Geschlecht können mit Variationen in der totalen IgE Serumkonzentration assoziiert sein (Raccine et al. 1999). Beschrieben ist die Zunahme der IgE Produktion gegen andere Umweltallergene bei Parasitenbefall (Halliwell, 1990). Verschiedene Autoren (Tada, 1975; Hill et al., 1995; Olsen et al., 2000) berichten von möglicher Beeinflussung der Immunantwort durch vorherige oder zusammenwirkende gastrointestinale, parasitäre und mikrobielle Infektionen. In einer Studie von Hammerberg geht dieser auf die mögliche Beeinflussung der IgE Serumkonzentration durch vorhandenes IgG anti-IgE ein, welches bei Hunden mit AD und Demodikose vermehrt im Serum gemessen werden konnte (Hammerberg et al., 1997). Auch virale Infektionen oder Vakzination mit modifizierten, lebenden Viren führen zu einer erhöhten Produktion von IgE gegen Umweltallergene (Frick, 1983). Die meisten Studien, die sich mit Messungen von Futtermittel-spezifischem IgE befassen, nutzen dazu Hunde, welche gezielt sensibilisiert werden. Sowohl die Adjuvantien, wie auch die Impfstoffe selber können profunde Effekte auf die Immunantwort haben (Ermel et al., 1997; Olsen et al., 2000; HogenEsch et al., 2002).

In dieser Studie war der Impfstatus der teilnehmenden Hunde leider nicht bekannt.

6. Kreuzreaktionen

Eine mögliche Erklärung, warum in dieser Studie auch nach mindestens acht Wochen Diät immer noch teilweise sehr hohe Antikörpertiter gemessen werden konnten, teilweise höher als zu Beginn der Diät, und dass, obwohl die Tiere diesen Antigenen nicht mehr ausgesetzt waren, ist eine Kreuzreaktion zwischen verschiedenen Antigenen. Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen Nahrungs- bzw. Futtermitteln und Kreuzreaktionen zwischen Nahrungsmitteln und Umweltallergenen sind bekannt.

In der Humanmedizin sind Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Nahrungsmittelkomponenten und zwischen Nahrungsmittel- und Umweltallergenen oft beschrieben und die Epitope, welche für diese Art von Kreuzreaktionen verantwortlich sind, sind oft bekannt (Rougé, 2010; Roberts, 2005; Sten, 2002; Vieths, 2002). Als Ergebnis dieser Studien wird den Patienten, die an einer Tierhaarallergie leiden, empfohlen, sich auch auf allergische Reaktionen gegen Fleisch und Milch untersuchen zu lassen. Patienten mit bekannter allergischer Reaktion auf Milch sollten auch Rind- und Schweinefleisch vermeiden (Mamikoglu 2005). Nahrungsmittelallergien, deren Ursache pflanzlich hergestellte Lebensmittel sind, korrelieren oft mit einer Hypersensitivität zu Pollen und in Nordeuropa mit den am meisten vorkommenden Birken-, Gras- und Beifußpollen (Calkhoven, 1987). Bis zu 70 % der Pollenallergiker leiden an Allergien gegen eine Vielzahl von rohen Früchten, Gemüsen und Nüssen (Deviller, 1997) und die meisten dieser allergischen Reaktionen beruhen auf kreuzreaktivem IgE durch Teilen von gemeinsamen Epitopen (Sten, 2002). Bei der humanen Nahrungsmittelallergie gegen Rind ist bovines IgG das bedeutendste kreuzreaktive Allergen mit anderen Fleischarten wie Lamm und Wild (Ayuso et al., 2000).

In der Tiermedizin existieren einige Studien über Kreuzreaktionen, wobei die meisten sich mit Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Nahrungsmittelkomponenten beschäftigen. Die Beziehungen zwischen Lamm- und Rindfleisch sowie zwischen Rindfleisch und Kuhmilch sind beschrieben (Martin et al., 2004).

Martin et al. fanden heraus, dass im Serum von Hunden die IgE bindende Struktur

zu Lamm- und Rindfleisch, sehr starke Ähnlichkeiten aufwies und in dieser Studie schien es, dass die Sensibilisierung auf ein einzelnes Protein bovinen Ursprungs eine Sensibilisierung auf ein homologes ovines Protein hervorrufen kann und umgekehrt (Martin et al., 2004). In der Tiermedizin besteht im Gegensatz zur Humanmedizin auch die Möglichkeit, Tiere frühzeitig gegen bestimmte Nahrungsmittel zu immunisieren und dann zu studieren. Einige Studien beinhalten Kolonien von Hunden, bei denen die immunologische Hypersensitivität experimentell induziert wurde. Wenn diese Hunde mit Casein, Hühnerleber und Sojabohnen immunisiert wurden, entwickelten sie anschließend spezifisches Serum IgE für Milchprotein zusammen mit klinisch bewiesener Hypersensitivität, die sich in gastrointestinalen und dermatologischen Symptomen manifestierte (Olsen et al., 2000).

Serologische Kreuzreaktionen sind jedoch nicht immer identisch mit klinischen Kreuzreaktionen. Jeffers et al. konnte die Hypothese von Kreuzreaktionen zu einzelnen Nahrungsmittelingredienzen, welche entweder aus einer einzigen tierischen Quelle oder von verschiedenen pflanzlichen Produkten stammen, nicht unterstützen (Jeffers et al., 1996).

In unserer Studie wären Kreuzreaktionen zwischen Umweltallergenen und Futtermittelallergenen eine sehr gute Erklärung für die bestehenden Antikörpertiter der Futtermittel-spezifischen IgG und IgE trotz Elimination der Antigene. Nach meinem Wissen ist aber nur in einem einzigen Fall in der Tiermedizin eine Kreuzreaktion zwischen einem Futtermittelantigen und einem Umweltallergen beschrieben, zwischen Tomate und japanischer Zeder. In diesem Fall entwickelte der Hund nach dem Verzehr von frischen Tomaten deutlich allergische Symptome und spezifische Antikörper auf beide Allergene, japanische Zeder und Tomate, konnten nachgewiesen werden (Fujimura, 2002).

7. Halbwertszeit von IgE

Eine andere Erklärung für die Ergebnisse dieser Studie könnte die Halbwertszeit von IgE im Serum sein. Verschiedene Studien in der Humanmedizin lassen starke Schwankungen in der Konzentration von allergenspezifischem IgE im Serum

erkennen (Marine, 2006; Tee, 1998; Steinsvik, 1997; Negrão-Corrêa et al., 1996; Salonen et al., 1985). In einer Studie von Marine verringerte sich die Hauttestreaktivität zu *Rizinus communis* zunehmend und war nach 20 Jahren vollständig verschwunden. Die spezifische IgE Konzentration zeigte ein fast exponentiales Verschwinden mit einer Halbwertszeit von 4,7 Jahren. Trotz der Abwesenheit jeglicher Stimulation durch ein Antigen, entweder direkt durch den Wunderbaum oder indirekt durch Kreuzreaktion mit anderen Euphorbiaceae, speziell den Kautschukbaum, verschwindet die IgE Sensibilisierung sehr langsam (Marine, 2006). In einer anderen Studie wurden die spezifischen IgE Antikörper gegen Toluol Diisocyanat gemessen und aufeinanderfolgende Messungen deuten darauf hin, dass die Halbwertszeit der IgE Antikörper ungefähr 6 Monate betrug (Tee, 1998). Total und Birkenpollen spezifisches humanes IgE von Mäusen mit kombinierter schwerer Immundefizienz wurde gemessen, nachdem es in Lymphozyten des peripheren Blutes transplantiert wurde. Die Halbwertszeit von passiv übertragenem humanem IgE betrug 24 Stunden, beziehungsweise 23,4 Stunden für totales und Birkenpollen spezifisches IgE (Steinsvik, 1997). Auch das Niveau des Gesamt- IgE hat einen starken Effekt auf das Niveau des spezifischen Serum IgE (Ono, 1997). Außerdem hat Urbanek beschrieben, dass das Serum Gesamt-IgE Niveau bei Kindern altersabhängig ist, zusammen mit bedeutenden Unterschieden zwischen verschiedenen Altersgruppen (Urbanek, 1978).

In unser Studie wurde bei fünf Hunden die Zweitprobe nach der Eliminationsdiät ein Jahr nach der letzten Exposition zu Rindfleisch genommen und es fanden sich in diesen Proben teilweise noch hohe Rindfleisch spezifische IgE Antikörper. Diese verlängerte Halbwertszeit von IgE bei Hunden jenseits der 8 bis 12 Wochen, welche für eine Eliminationsdiät typischerweise bestimmt ist, ist eine mögliche Erklärung für die Ergebnisse dieser Studie.

8. Klinische Relevanz

In einer aktuellen Studie von (Schaefer et al., 2011) wurden die positiven und negativen Vorhersagewerte des Epikutan-Test (Patch-Test) und des Serum Test getestet. Die hohe Sensitivität und negative Vorhersage des Epikutan-Test und zu einem geringeren Grad auch des serologischen Test für Futtermittel-spezifische Antikörper deuten darauf hin, daß wenn ein Antigen keine Reaktion bei diesen Tests zeigt, dieses Antigen eine gute Wahl für eine Eliminationsdiät ist (Schaefer et al., 2011).

Wenn der behandelnde Arzt die Bestandteile der Diät ändern und eine neue Eliminationsdiät beginnen möchte, basierend auf den negativen Resultaten des serologischen Tests, kann auf der Grundlage dieser Studie Serum am Ende der vorangegangenen Diät gewonnen werden.

Weiterhin ist ein Erfolg einer Diät durch eine Änderung der Antikörper im Serum, entnommen am Ende der Diät, nicht nachzuweisen.

V ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie wurden die Futtermittel-spezifischen Antikörper IgG und IgE von 16 in Hundefutter üblichen Futtermittelantigenen vor und nach der Eliminationsdiät bei allergischen Hunden gemessen. Dazu wurde bei 19 Hunden, welche entsprechend ihrer Anamnese und den klinischen Symptomen an atopischer Dermatitis litten, eine Eliminationsdiät durchgeführt. Die Diät dauerte 6-8 Wochen und bestand entweder aus einem kommerziellen Hundefutter basierend auf hydrolisiertem Protein, oder aber einer Diät bestehend aus einer dem Hund bis dahin unbekanntem Protein- und Kohlenhydratquelle.

Vor und nach der Diät wurde den Patienten Blut abgenommen und das Serum wurde mit Hilfe des ELISA auf Futtermittel-spezifische Antikörper getestet. Während der Diät wurden die Hunde regelmäßig klinisch untersucht und ein standardisierter Läsionscore bestimmt (CADESI). Die Besitzer bewerteten täglich eigenständig den Juckreiz, Defäkation und sonstige gastrointestinale Symptome.

Spezifische IgE Antikörper gegen Rind, Schwein, Lamm und Kuhmilch, sowie spezifische Antikörper IgG gegen Rind, Schwein, Lamm, Kuhmilch, Huhn und Pute konnten gemessen werden. Ein signifikanter Unterschied in den Werten vor und nach der Diät für jedes der individuellen Allergene sowie für die gesamten IgE und IgG Konzentrationen aller Antigene ($P=0.55$ und $P=0.53$ respektive) konnte nicht ermittelt werden.

Von den 19 Hunden, welche an der Studie teilnahmen und eine Eliminationsdiät bekamen, um Futtermittelunverträglichkeit zu diagnostizieren, zeigten 14 Hunde eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome während der Eliminationsdiät. Aus dieser Gruppe konnte bei sieben Hunden Futtermittelunverträglichkeit durch Verschlechterung der klinischen Symptome bei Fütterung des ursprünglichen Futters und wiederholte Besserung nach erneuter Fütterung der Diät nachgewiesen werden. Signifikante Änderungen in den Serumkonzentrationen der futtermittelspezifischen Antikörper IgG und IgE vor und nach einer Eliminationsdiät von 6-8 Wochen konnten nicht nachgewiesen werden.

VI SUMMARY

As a prospective clinical study, food specific antibodies IgE and IgG of 16 commonly used food antigens were measured before and after an elimination diet in allergic dogs. Nineteen dogs, diagnosed with atopic dermatitis based on their clinical signs and history were fed an elimination diet. Each dog was fed a home-cooked elimination diet consisting of a carbohydrate and a protein not previously fed or a commercial diet with hydrolysed proteins for 6-8 weeks.

Blood samples of the patients were obtained before and after the diet and food-specific antibodies were measured by ELISA. The dogs regularly were clinically examined, and lesions evaluated by a standardized lesion score (CADESI). The owners used a diary to record defecation, pruritus or any gastrointestinal signs.

Dogs had detectable IgE antibodies to beef, pork, lamb and cows' milk, and detectable IgG antibodies to beef, pork, lamb, cows' milk, chicken and turkey. There was no significant difference in pre- and post-diet levels for any of the individual allergens nor for the total IgE and IgG concentrations of all antigens ($P=0.55$ and $P=0.53$ respectively).

Of 19 dogs who participated on the study, 14 dogs showed clear improvement during diet and 7 dogs of this group were proven food allergic by deterioration on rechallenge and subsequent improvement on refeeding the diet. There were no significant differences in serum concentration of food-specific antibodies IgG and IgE before and after an elimination diet of 6-8 weeks.

VII LITERATURVERZEICHNIS

Agata H, Kondo N, Fukutomi O, Shinoda S, Orii T. Effect of elimination diets on food-specific IgE antibodies and lymphocyte proliferative responses to food antigens in atopic dermatitis patients exhibiting sensitivity to food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* **1993** Feb; 91(2): 668-79.

Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T regulatory cells in allergy: Novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* **2005** Nov; 116(5): 961-8.

Akdis CA, Blaser K, Akdis M. Genes of Tolerance. *Allergy.* **2004**; 59: 897-913.

Ayuso R, Lehrer SB, Lopez M, Reese G, Ibañez MD, Esteban MM, Ownby DR, Schwartz H. Identification of bovine IgG as a major cross-reactive vertebrate meat allergen. *Allergy.* **2000** Apr; 55(4): 348-54.

Barnes RM. IgG and IgA antibodies to dietary antigens in food allergy and intolerance. *Clin Exp Allergy.* **1995**; 25 Suppl 1: 7-9.

Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* **2008** Apr 3; 358(14): 1483-94.

Bock SA, Atkins FM. Patterns of food hypersensitivity during sixteen years of double-blind, placebo-controlled food challenges. *J Pediatr.* **1990**; 117: 561-7.

Bock SA. Prospective appraisal of complaints of adverse food reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics.* **1987**; 79: 683-8.

Bonness S, Bieber T. Molecular basis of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* **2007** Oct; 7(5): 382-6.

Berrin MC, Kiliaan AJ, Yang PC, Groot JA, Kitamura Y, Perdue MH. The influence of mast cells on pathway of transepithelial antigen transport in rat intestine. *J Immunol.* **1998**; 161: 2561-6.

Berrin MC, Kiliaan AJ, Yang PC, Groot JA, Taniniau JAJM, Perdue MH. Rapid transepithelial antigen transport in rat jejunum: impact of sensitization and the hypersensitivity reaction. *Gastroenterology.* **1997**; 113: 856-64.

Brandtzaeg PE. Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. *Ann N Y Acad Sci.* **2002**; 964: 13–45.

Brandtzaeg PE, Baekkevold ES, Farstad IN et al. Regional specialization in the mucosal immune system: what happens in the microcompartments? *Immunol Today.* **1999**; 20: 141-51.

Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, et al.: Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med.* **2002**, Sept 19; 347(12): 869-77.

Bresson JL, Pang KY, Walker WA. Microvillus membrane differentiation: quantitative difference in cholera toxin binding to the intestinal surface of newborn and adult rabbits. *Pediatr Res.* **1984**; 18: 984-7.

Burgio GR, Lanzavecchia A, Plebani A, et al. Ontogeny of secretory immunity: levels of secretory IgA and natural antibodies in saliva. *Pediatr Res.* **1980**; 14: 1111-4.

- Calkhoven PG**, Aalbers M, Koshte VL, Pos O, Oei HD, Aalberse RC. Cross-reactivity among birch pollen, vegetables and fruits as detected by IgE antibodies is due to at least three distinct cross-reactive structures. *Allergy*. **1987** Jul; 42(5): 382-90.
- Carlotti DN**, Remy I, Prost C. Food allergy in dogs and cats. A review and report of 43 cases. *Vet Dermatol*. **1990**; 1: 55–62.
- Chesney CJ**. Food sensitivity in the dog: a quantitative study. *J Sm Anim Pract*. **2002**; 43: 203-7.
- Chesney CJ**. Systematic review of evidence for the prevalence of food sensitivity in dogs. *Vet Rec*. **2001** Apr 7; 148(14): 445-8. Review.
- Cookson W**. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol*. **2004**; 4: 978-88.
- Dahlgren UI**, Hanson LA, Telemo E. Maturation of immunocompetence in breast-fed vs. formula-fed infants. *Adv Nutr Res* **2001**; 10:311-25
- Day MJ**. The canine model of dietary hypersensitivity. *Proc Nutr Soc*. **2005**; 64: 458-64.
- Day MJ**. Inheritance of serum autoantibody, reduced serum IgA and autoimmune disease in a canine breeding colony. *Vet Immunol Immunopathol*. **1996**; 53: 207-19.

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

Denis S, Paradis M. L'allergie alimentaire chez le chien et le chat. II: Étude rétrospective. *Méd Vét Québec.* **1994**; 24: 15-7.

Deviller P, Pauli G. Crossreactions involving plant allergens. *Clin Rev Allergy Immunol.* **1997** Winter; 15(4): 405-13. Review.

Ermel RW, Kock M, Griffey SM, Reinhart GA, Frick OL. The atopic dog: a model for food allergy. *Lab Anim Sci.* **1997**; 47: 40-9.

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** Feb; 21(1): 23-31.

Fergusson DM, Horwood LJ, Shannon FT. Early solid feeding and recurrent eczema: a 10-year longitudinal study. *Pediatrics.* **1990**; 86: 541-6.

Foster AP, Knowles TG, Moore AH, Cousins PD, Day MJ, Hall EJ. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet Immunol Immunopathol.* **2003**; 92: 113-24.

Fraser MA, McNeil PE, Gettinby G. Studies of serum total immunoglobulin E concentrations in atopic and non-atopic dogs. *Vet Rec.* **2003**; 152, 159-63.

Frick OL, Brooks DL. Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccines. *Am J Vet Res.* **1983** Mar; 44(3): 440-5.

Fujimura M, Ohmori K, Masuda K, Tsujimoto H, Sakaguchi M. Oral allergy syndrome induced by tomato in a dog with Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollinosis. *J Vet Med Sci.* **2002** Nov;64(11):1069-70.

Geha RS. Allergy, a disease of the internal and external environments. *Curr Opin Immunol.* **2000** Dec; 12(6): 615-7.

Guaguere E, Prélaud P. Les intolerances alimentaires. *Allergologie Clinique* **1988**; <<33: 389–407.

Guilford WG. Adverse reactions to food. In: *Strombeck's Small Animal Gastroenterology* (Guilford WG, Center SA, Strombeck DR, Williams DA, Meyer DJ eds), pp.436-50. W.B. Saunders, Philadelphia, PA**1996**.

Groh M, Moser E. Diagnosis of food allergy in the non-seasonally symptomatic dog using a novel antigen, low molecular weight diet: a prospective study of 29 cases. *Veterinary Allergy and Clinical Immunology.* **1998**; 6: 5-6.

Halliwell REW, Gordon CM, Horvath C et al. IgE and IgG antibodies to food antigens in sera from normal dogs, dogs with atopic dermatitis and dogs with adverse food reactions. In: Hillier A, Foster AP, Kwochka KW, eds *Advances in Vet Dermatol.* **2005** Vol.5. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 28-35.

Halliwell RE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* **2001** Sep 20; 81(3-4): 159-67.

Halliwell REW. Clinical and immunological aspects of allergic skin disease in domestic animals. In: von Tschärner C, Halliwell REW, editors. *Advances in Veterinary Dermatology I*. Philadelphia, Balliere-Tindall. **1990**: 91.

Hammerberg B, Bevier D, DeBoer DJ, Olivry T, Orton SM, Gebhard D, Vaden SL. Auto IgG anti-IgE and IgG x IgE immune complex presence and effects on ELISA-based quantitation of IgE in canine atopic dermatitis, demodectic acariasis and helminthiasis. *Vet Immunol Immunopathol.* **1997** Dec 12; 60(1-2): 33-46.

Harvey RG. Food allergy and dietary intolerance in dogs. A report of 25 cases. *J Sm Anim Pract.* **1993**; 34: 175–9.

Hathaway LJ, Kraehenbuhl JP. The role of M-cells in mucosal immunity. *Cell Mol Life Sci.* **2000**; 57: 323-32.

Hayashiya S, Tani K, Morimoto M, Hayashi T, Hayasaki M, Nomura T, Une S, Nakaichi M, Taura Y. Expression of T helper 1 and T helper 2 cytokine mRNAs in freshly isolated peripheral blood mononuclear cells from dogs with atopic dermatitis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* **2002** Feb; 49(1): 27-31.

Helgeland L, Brandtzaeg PE. Development and function of intestinal B and T cells. *Microbiol Ecol Health Dis Suppl.* **2000**; 2: 110–27.

Helm RM, Burks AW. Mechanisms of food allergy. *Curr Opin Immunol.* **2000** Dec; 12(6): 647-53.

Henneveld K, Beck W, Mueller RS. Evaluierung von Vorratsmilben in kommerziellem Hundetrockenfutter und in der Umgebung sowie ihre Bedeutung in der Tiermedizin. *Tierärztliche Praxis.* **2007**; 35: 325-332.

Heymann M. Evaluation of the impact of food technology on the allergenicity of cow's milk proteins. *Proc Nutri Soc.* **1999**; 58: 587-92.

Hill PB, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (V): biology and role of inflammatory cells in cutaneous allergic reactions. *Vet Immunol Immunopathol.* **2001** Sep 20; 81(3-4): 187-98.

Hill PB, Moriello KA, DeBoer DJ. Concentrations of total serum IgE, IgA and IgG in atopic and parasitized dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* **1995** Jan; 44(2): 105-13.

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.* **2001**; 81: 227–31.

HogenEsch H, Dunham AD, Scott-Moncrieff C, Glickman LT, DeBoer DJ. Effect of vaccination on serum concentrations of total and antigen-specific immunoglobulin E in dogs. *Am J Vet Res.* **2002** Apr; 63(4): 611-6.

Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science.* **2001**; 292: 1115–8.

Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy.* **2000**; 55: 688-97.

Holt PG. Postnatal maturation of immune competence during infancy and childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* **1995**; 6: 59-70.

Host A, Halken S, Jacobsen HP, Eastmann A, Mortensen S, Mygil S. The natural course of cow's milk protein allergy / intolerance. *J Allergy Clin Immunol.* **1997**; 99: S490 (abstr).

Host A, Halken S. A prospective study of cow milk allergy in Danish infants during the first 3 years of life. Clinical course in relation to clinical and immunological type of hypersensitivity reaction. *Allergy.* **1990**; 45: 587-96.

Husby S, Jensenius J, Svehag S. Passage of undegraded dietary antigen into the blood of healthy adults. Quantification, estimation of size distribution and relation of uptake to levels of specific antibodies. *Scand J Immunol.* **1985**; 22: 83-92.

Hymann PE, Clarke DD, Everett SL, et al. Gastric acid secretory function in pre-term infants. *J Pediatr.* **1985**; 106: 467-71.

Jackson HA, Murphy KM, Tater KC et al. The pattern of allergen hypersensitivity (dietary or environmental) of dogs with nonseasonal atopic dermatitis cannot be differentiated on the basis of historical or clinical information: a prospective evaluation 2003-04 (Abstract). *Vet Dermatol.* **2005**; 16: 200.

Jackson HA, Jackson MW, Coblenz L, Hammerberg B. Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Vet Dermatol.* **2003**, Aug; 14(4): 181-7.

Jackson HA, Hammerberg B. Evaluation of a spontaneous canine model of immunoglobulin E-mediated food hypersensitivity: dynamic changes in serum and fecal allergen-specific immunoglobulin E values relative to dietary change. *Comp Med.* **2002**; 52: 316-21.

Jackson HA. Diagnostic Techniques in Dermatology: The Investigation and Diagnosis of Adverse Food Reactions in Dogs and Cats. *Clin Tech Small Anim Pract.* **2001**; 16 (4): 233-5.

Jackson HA, Miller HR, Halliwell RE. Canine leucocyte histamine release: response to antigen and to anti-IgE. *Vet Immunol Immunopathol.* **1996** Oct; 53(3-4): 195-206.

Jeffers JG, Shanley KJ, Meyer K. Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity. *J Am Vet Med Assoc.* **1991** Jan 15; 198(2): 245-50.

Jeffers JG, Meyer EK, Sosis EJ. Responses of dogs with food allergies to single-ingredient dietary provocation. *J Am Vet Med Assoc.* **1996**; 209: 608–611.

Johannsson S, Dannaeus A, Lilja G. The relevance of anti-food antibodies for the diagnosis of food allergy. *Ann Allergy.* **1984**; 53: 665-72.

Johnston GA, Bilbao RM, Graham-Brown RA. The use of dietary manipulation by parents of children with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* **2004**; 150: 1186–91

Kennis RA. Food Allergies: Update of Pathogenesis, Diagnoses, and Management. *Vet Clin Small Anim.* **2006**; 36: 175-84.

Kennis RA. Use of atopic dogs to investigate adverse reactions to food. *JAVAM.* **2002**; 221(5): 638-40.

Kimber I, Dearmann RJ, Factors affecting the development of food allergy, *Proc Nutr Soc.* **2002**; 61: 435-9.

Kimber I, Kerkvliet NI, Taylor SL, Astwood JD, Sarlo K, Dearmann RJ. Toxicology of protein allergenicity: prediction and characterization. *Toxicol Sci.* **1999**; 48: 157-62.

Kiyohara C, Tanaka K, Miyake Y. Genetic Susceptibility to Atopic Dermatitis. *Allergol Int.* **2008** Mar 1; 57(1): 39-56.

Lebenthal E, Lee PC. Development of functional responses in human exocrine pancreas. *Pediatrics.* **1980**; 66: 556-60.

Leistra MHG, Markwell PJ, Willemse T. Evaluation of selected-protein-source diets for management of dogs with adverse reactions to food. *JAVMA.* **2001**; 219(10): 1411-4.

Leung DY, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet.* **2003** Jan 11; 361(9352): 151-60.

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

Loeffler A, Lloyd DH, Bond R, Kim JY, Pfeiffer DU. Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs. *Vet Rec.* **2004**; 154: 519–522.

Mamikoglu B. Beef, pork, and milk allergy (cross reactivity with each other and pet allergies). *Otolaryngol Head Neck Surg.* **2005** Oct; 133(4): 534-7.

Marenholz I, Nickel R, Rüschemdorf F, et al. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol.* **2006**; 118: 866-71.

Marin V, Saraga J, Ariano R, Chouquet D, Dispard M, Bongrand P, Panzani RC. Allergic memory of patients sensitized to castor bean after a long stimulation-free period. *J Asthma*. **2006** Apr; 43(3): 193-8.

Marsella R, Nicklin C, Lopez J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Vet Dermatol*. **2006**; 17(5): 306-12.

Marsella R, Olivry T. Animal models of atopic dermatitis. *Clin Dermatol*. **2003**; 21: 122–133.

Martin A, Sierra MP, Gonzalez JL, Arevalo MA. Identification of allergens responsible for canine cutaneous adverse food reactions to lamb, beef and cow's milk. *Vet Dermatol*. **2004**; 15: 349–356.

May CD. Objective clinical and laboratory studies of immediate hypersensitivity reactions to food in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol*. **1976**; 58: 500-15.

McNell L, Butterwick RF, Rolfe V, Batt R. Hydrolisierte Proteine: hypoallergen oder hype. *Waltham Focus*. **2001**; 11: 32–3.

Morales CA, Schultz KT, DeBoer DJ. Antistaphylococcal antibodies in dogs with recurrent staphylococcal pyoderma. *Vet Immunol Immunopathol*. **1994** Aug; 42(2): 137-47.

Mueller RS. Dermatologie für den Kleintierpraktiker. **2006**. Beate Egner VetVerlag, Babenhausen, 46–48.

Mueller RS, Jackson H. Atopic Dermatitis and food adverse reactions in Foster A, Foil C, eds. *Manual of Small Animal Dermatology* **2003**, British Small Animal Veterinary Association 2003, 125–36.

Mueller RS, Tsohalis J. Evaluation of serum allergen-specific IgE for the diagnosis of food adverse reactions in the dog. *Vet Dermatol.* **1998**; 9: 167–71.

Negrão-Corrêa D, Adams LS, Bell RG. Intestinal transport and catabolism of IgE: a major blood-independent pathway of IgE dissemination during a *Trichinella spiralis* infection of rats. *J Immunol.* **1996** Nov 1;157(9):4037-44.

Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, Young AN, Hobert ME, Karmali V, Raoas, Madara JL. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of I kappa B- alpha ubiquitination. *Science.* **2000**; 289: 1560–3.

Niggemann B, Sielaff B, Beyer K et al. Outcome of double-blind, placebo-controlled food challenge test in 107 children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy.* **1999**; 2: 91-6.

Nickel R, Kulig M, Forster J, et al. Sensitization to hen's egg at the age of 12 months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of 3 years. *J Allergy Clin Immunol.* **1997**; 99: 613– 17.

Ono T, Yoshida M, Nakazono N. Change in venom-specific IgE levels during 2-year follow-up in five cases with a history of Hymenoptera sting. *Arerugi* **1997** Nov; 46(11): 1163-9.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P; International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* **2010** Jun; 21(3): 233-48.

Olivry T, Deboer DJ, Prélaud P, Bensignor E. International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *Vet Dermatol.* **2007** Dec; 18(6): 390-1.

Olsen ME, Hardin JA, Buret AG, Gal DG, Hayek MG. Hypersensitivity reactions to dietary antigens in atopic dogs. In: Davenport MG, Hayek MG, Lepine AJ, Sunvold GD, Tetrick MA (Eds.), **2000**. Proceeding of the 2000 Iams International Nutritional Symposium on Recent Advances in Canine and Feline Nutritional Research. Orange Frazer Press, Wilmington, pp. 69-77.

Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet.* **2006**; 38: 441-6.

Palmer LJ, Cardon LR. Shaking the tree: mapping complex disease genes with linkage disequilibrium. *Lancet.* **2005**; 366: 1223-34.

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

Peters JE, Hirshman CA, Malley A. The Basenji-Greyhound dog model of asthma: leukocyte histamine release, serum IgE, and airway response to inhaled antigen. *J Immunol.* **1982** Sep; 129(3): 1245-9.

Picco F, Zini E, Nett C, Naegeli C, Bigler B, Rüfenacht S, Roosje P, Gutzwiller ME, Wilhelm S, Pfister J, Meng E, Favrot C. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Vet Dermatol.* **2008** Jun; 19(3): 150-5.

Pourpack Z, Farhoudi A, Mahmoudi M, Movahedi M, Ghargozlou M, Kazemnejad A, Eslamnoor B. The role of cow milk allergy in increasing the severity of atopic dermatitis. *Immunol Invest.* **2004** Feb; 33(1): 69-79.

Prélaud P. Allergologie beim Hund, Blackwell Verlag. **2002**; 9-15, 126-34.

Racine BP, Marti E, Busato A, Weilenmann R, Lazary S, Griot-Wenk ME. Influence of sex and age on serum total immunoglobulin E concentration in Beagles. *Am J Vet Res.* **1999** Jan; 60(1): 93-7.

Robert A. The Natural History of Food Allergy. *Pediatrics.* **2003**; 111: 1631-7.

Roberts G, Peckitt C, Northstone K, Strachan D, Lack G, Henderson J, Golding J; ALSPAC Study Team. Relationship between aeroallergen and food allergen sensitization in childhood. *Clin Exp Allergy.* **2005** Jul; 35(7): 933-40.

Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today.* **1997**; 18: 263-6.

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

Roudebush P, Crowell CS. Results of a hypoallergenic diet survey of veterinarians in North America with a nutritional evaluation of homemade diet prescriptions. *Vet Dermatol.* **1992**; 3: 23-8

Rougé P, Culerrier R, Granier C, Rancé F, Barre A. Characterization of IgE-binding epitopes of peanut (*Arachis hypogaea*) PNA lectin allergen cross-reacting with other structurally related legume lectins. *Mol Immunol.* **2010** Aug; 47(14): 2359-66.

Salonen EM, Hovi T, Meurman O, Vesikari T, Vaheri A. Kinetics of specific IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM antibody responses in rubella. *J Med Virol.* **1985** May; 16(1): 1-9.

Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol.* **1999** May; 103(5 Pt 1): 717-28.

Sampson HA. Atopic dermatitis. *Ann Allergy.* **1992**; 69: 469-79.

Sampson HA. Immunologically mediated food allergy: the importance of food challenge procedures. *Ann Allergy.* **1988**; 60: 262-9.

Sandilands A, Terron-Kwiatkowski A, Hull PR, et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat Genet.* **2007**; 39: 650-4.

Schaefer, S., Bexley, J., Mueller, R.S. Patch testing in the evaluation of adverse food reactions in the dog. Proceedings of the 26. North American Veterinary Dermatology Forum, Galveston, Texas. *Vet Dermatol.* **2011**; 22: 292.

Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Small animal dermatology. W B Saunders, Philadelphia **2001**, 615–624.

Scott DW. Immunologic skin disorders in the dog and in the cat. *Vet Clin North Am.* **1978**; 8: 641-4

Scott H, Rognum TO, Midtvedt T, Brandtzaeg PE. Age-related changes of human serum antibodies to dietary and colonic bacterial antigen measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scan.* **1985**; 93: 65-70.

Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet.* **2006**; 38: 337-42.

Steinsvik TE, Aaberge IS, Gaarder PI, Bjønness U, Løvik M. Total and birch pollen-specific human IgE in mice with severe combined immunodeficiency transplanted with human peripheral blood lymphocytes: donor dependence, seasonal variation and in vivo half-life. *Int Arch Allergy Immunol.* **1997** Feb; 112(2): 175-83.

Sten E, Stahl Skov P, Andersen SB, Torp AM, Olesen A, Bindslev-Jensen U, Poulsen LK, Bindslev-Jensen C. Allergenic components of a novel food, Micronesian nut Nangai (*Canarium indicum*), shows IgE cross-reactivity in pollen allergic patients. *Allergy.* **2002** May; 57(5): 398-404.

Tada T. Regulation of reaginic antibody formation in animals. *Prog Allergy.* **1975**; 19: 122-94.

Tapp T, Griffin C, Rosenkrantz W, et al. Comparison of a commercial limited-antigen diet versus home-prepared diets in the diagnosis of canine adverse food reaction. *Vet Ther.* **2002**; 3(3): 244-51.

Tater KC, et al. Effects of routine prophylactic vaccination or administration of aluminum adjuvant alone on allergen-specific serum IgE and IgG responses in allergic dogs. *Am J Vet Res.* **2005**; 66: 1572-1577.

Taylor B, Norman AP, Orgel HA, Stokes CR, Turner MW, Soothill JF. Transient IgA deficiency and pathogenesis of infantile atopy. *Lancet.* **1973**; 2: 111-13.

Tee RD, Cullinan P, Welch J, Burge PS, Newman-Taylor AJ. Specific IgE to isocyanates: a useful diagnostic role in occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol.* **1998** May; 101(5): 709-15.

Urbanek R, Karitzky D, Künzer W. Serum IgE in skin diseases of children. *Dtsch Med Wochenschr.* **1978** Mar 24; 103(12): 503-8.

Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens GP. Food allergy in dogs and cats; a review. *Crit rev Food Sci Nutr.* **2006**; 46(3): 259-73. Review

Vieths S, Scheurer S, Ballmer-Weber B. Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. *Ann N Y Acad Sci.* **2002** May; 964: 47-68.

Von Mutius E. Infection: friend or foe in the development of atopy and asthma? The epidemiological evidence. *Eur Respir J.* **2001** Nov; 18(5): 872-81.

Weidinger S, Illig T, Baurecht H, et al. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol.* **2006**; 118: 214-9.

Weiss ST. Eat dirt-the hygiene hypothesis and allergic diseases. *N Engl J Med.* **2002** Sep 19; 347(12): 930-1.

Werfel T, Erdmann S, Fuchs T, Henzgen M, Kleine-Tebbe J, Lepp U, Niggemann B, Raithel M, Reese I, Saloga J, Vieths S, Worm M, Zuberbier T. Vorgehen bei vermuteter Nahrungsmittelallergie bei atopischer Dermatitis. Leitlinie der Arbeitsgruppe Nahrungsmittelallergie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), des Ärzteverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA) und der Gesellschaft für Pädiatrische Allergologie und Umweltmedizin (GPA). *Allergo J.* **2008**; 17: 476-83

Werfel T, Kapp A. What do we know about the etiopathology of the intrinsic type of atopic dermatitis? *Curr Probl Dermatol.* **1999**; 28: 29-36.

White SD. Food hypersensitivity. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* **1988**; 18: 1043–8.

White SD. Food hypersensitivity in 30 dogs. *J Am Vet Med Assoc.* **1986**; 188(7): 695-8.

Wilhelm S, Favrot C. Futterunverträglichkeit beim Hund: Diagnostische Möglichkeiten. *Schweiz Arch Tierheilkd.* **2005**; 147: 165–71.

Wilsmann-Theis D, Hagemann T, Jordan J, Bieber T, Novak N. Facing psoriasis and atopic dermatitis: are there more similarities or more differences? *Eur J Dermatol.* **2008**; 18 (2): 172-80

Wollenberg A, Bieber T. Atopic Dermatitis: from the genes to skin lesion. *Allergy.* **2000**; 55: 205-13.

Yamanka T, Staumfors A, Morten H, et al. M-cell pockets of human Peyer's patches are specialized extensions of germinal centers. *Eur J Immunol.* **2001**; 31: 107-17.

Yunginger JW, Ahlstedt S, Eggleston PA, Homburger HA, Nelson HS, Ownby DR, Platts-Mills TAE, Sampson HA, Sichere SH, Weinstein AM, Williams PB, Wood RA, Zeiger RS. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J Allergy clin Immunol.* **2000**; 105: 1077-84.

Anhang 2: **Bewertung Besitzer Formular****Tagebuch – Eliminationsdiät**

Name: _____ Datum: _____

Tag	Juckreiz (0-10)	Hautrötung (0-10)	Andere Probleme	Kotbeschaffenheit
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
13.				
14.				
15.				
16.				
17.				
18.				
19.				
20.				
21.				
22.				
23.				
24.				
25.				
26.				
27.				
28.				
29.				
30.				
31.				
32.				
33.				
34.				
35.				
36.				
37.				
38.				
39.				
40.				
41.				
42.				

IX DANKSAGUNG

Mein größter Dank gilt Prof. Dr. Ralf Müller, der mit seiner Hilfe und uneingeschränkter Unterstützung diese Arbeit erst möglich gemacht hat. Die herausragend gute und sehr freundliche Zusammenarbeit hat mir wirklich Spaß gemacht und mein Interesse an der Veterinärdermatologie sehr gefördert.

Bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre liebevolle, ausdauernde und jederzeit gewährte Unterstützung, sowie bei meinem Bruder Ulf und meiner Freundin Karin für ihr wirklich echtes Interesse an dieser Arbeit.

Ein herzliches Dankeschön an Dr. Ursula Mayer, an alle Doktoranden und Mitarbeiter der Dermatologischen Abteilung der Medizinischen Kleintierklinik der LMU, sowie an alle Mitarbeiter von Avacta Animal Health und an alle Tierbesitzer, sowie an alle, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein tiefer und besonderer Dank gilt meinem Mann Timm, der mich während der Abfassung dieser Arbeit stets motivierte und mich liebevoll und geduldig dabei unterstützt hat.