



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Stafylokokktoxiners betydelse vid pyodermi hos hund

Malin Kånåhols

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:67

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Stafylokocktoxiners betydelse vid pyodermi hos hund

Staphylococcal toxins importance to pyoderma in dogs

Malin Kånåhols

Handledare:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Anna Birgersson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:67
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: *Staphylococcus pseudintermedius*, toxiner, pyodermi, hund, exfolierande toxiner.

Key words: *Staphylococcus pseudintermedius*, toxins, pyoderma, dog, exfoliative toxins.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	5
Litteraturoversikt.....	5
Exfolierande toxiner.....	5
Exi	6
ExpB.....	7
SIET	7
Övriga stafylokocktoxiner.....	8
Leukotoxin	8
Enterotoxiner.....	8
Hemolysin	9
Övriga virulensfaktorer	9
Cellväggsassocierade proteiner	9
Protein A	10
Proteaser	10
Koagulas.....	10
Diskussion	11
Acknowledgement.....	12
Referenser.....	13

SAMMANFATTNING

Pyodermi är en hudsjukdom hos hundar som orsakas av *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*), tidigare benämndes den *S. intermedius*. Pyodermi kan ge många olika symptom såsom klåda, håravfall, rodnad, varigt och blodigt exsudat, papler, pustler, sårskorpor och nekrotiserad hud. Ofta finns det bakomliggande orsaker och sjukdomar hos hunden som tillåter stafylokockerna att kolonisera huden.

Staphylococcus pseudintermedius är en Grampositiv kock, den är koagulas-, DNas-, katalas- och ureaspositiv och ger dubbelhemolys på blodagar.

Patogenesen vid pyodermi är ännu inte helt kartlagd. *Staphylococcus pseudintermedius* uttrycker ett stort antal virulensfaktorer men vilka som har betydelse vid utvecklingen av pyodermi är oklart. De viktigaste är exfolierande toxiner. De har visats ge symptom vid pyodermi när renat toxin har injicerats i försöksdjur. Även andra virulensfaktorer som till exempel leukotoxin, enterotoxiner, cellväggsassocierade proteiner, koagulas, proteas och protein A kan spela en viktig roll i utvecklingen av pyodermi.

Slutsatsen är att pyodermi är en multifaktoriell sjukdom där många virulensfaktorer från bakterien och inre faktorer hos djuret samverkar.

SUMMARY

Pyoderma is a skin condition contracted by dogs that is caused by *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*), previously renamed from *Staphylococcus intermedius*. The symptoms of pyoderma are many such as itching, alopecia, redness, hemorrhagic and purulent exudate, papules, pustules, crusts and necrotic skin. Pyoderma is most often a secondary infection and there are underlying causes or other diseases that allow the staphylococci to grow.

Staphylococcus pseudintermedius is a Grampositive cocci, that is positive for coagulase, DNAs, catalase and ureas. Dubbelhemolysis can be seen on bloodagar.

The pathogenesis for pyoderma is not clear. *Staphylococcs pseudintermedius* express a large number of virulence factors but it is not determined which of these are significant in pyoderma. The most important are exfoliative toxins. These have shown to give symptoms of pyoderma when refined toxins have been injected in laboratory animals. Other virulence factors as leukotoxin, enterotoxins, cellwallassociated proteins, coagulase, proteas and protein A can have an important role in pyoderma.

The conclusion is that pyoderma is a disease with many factors, both virulence factors from the bacteria and factors in the animal, and they can together give rise to pyoderma.

INLEDNING

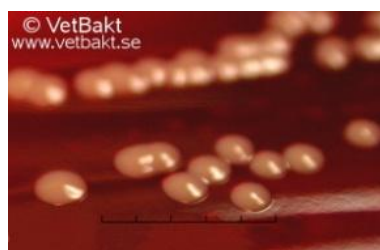
Pyodermi är en vanligt förekommande bakteriell hudsjukdom hos hund som orsakar stora problem både för djur och för djurägare (Scott & Paradis, 1990)

Sjukdomen orsakar varansamlingar med neutrofiler (Greene C.E., 2011). Det är inte alltid varet kan ses makroskopisk utan en histologisk undersökning är ofta nödvändig. Pyodermi kan också orsaka många olika hudsymptom, därför sker det ofta en feldiagnosticering. Sjukdomen orsakas främst av bakterien *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) (Bannoehr et al., 2007) men kan också orsakas av *S. intermedius*, *S. aureus*, *Streptococcus* species (spp.), *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* och *Pseudomonas* spp., *S. schleiferi* (Greene C.E., 2011). För några år sedan upptäcktes det att *S. pseudintermedius* och *S. intermedius* inte var samma bakterieart (Devriese et al., 2005) och vid studier av vilken av bakterierearterna som var huvudorsaken till pyodermi så fastställdes det att det var *S. pseudintermedius* (Bannoehr, 2007). Den gällande nomenklaturen är *S. pseudintermedius* och är det namn som kommer användas i den här uppsatsen men i många av referenserna används *S. intermedius*.

Staphylococcus pseudintermedius är en Grampositiv kock som på blodagar ger en dubbelhemolys, se Figur 1. Koloniernas utseende visas i Figur 2. Bakterien är koagulas-, DNAs-, katalas- och ureaspositiv, den fermenterar också vissa kolhydrater (Devriese et al., 2005), men den är negativ för ”clumping-factor”.



Figur 1, *S. pseudintermedius* dubbelhemolys. Bild: Karl-Erik Johansson (BVF, SLU & SVA) & Lise-Lotte Fernström (BVF, SLU).

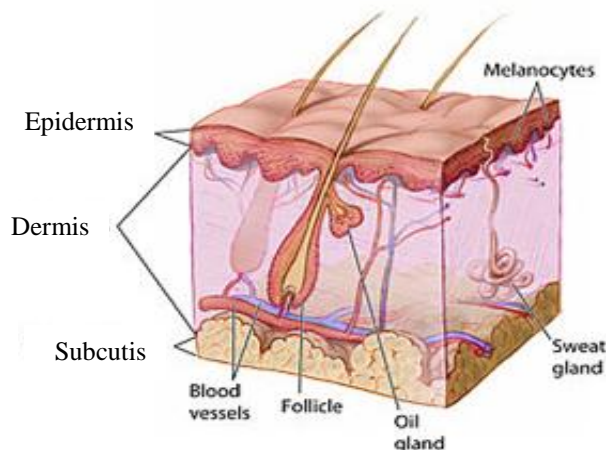


Figur 2, kolonier från *S. pseudintermedius*. Bild: Karl-Erik Johansson (BVF, SLU & SVA) & Lise-Lotte Fernström (BVF, SLU).

Pyodermi delas upp i tre klasser beroende på hur djup infektionen är. Dessa är ytpyodermi, ytlig pyodermi och djup pyodermi (Greene C.E., 2011). Om infektionerna inte behandlas kan de utvecklas och bli djupare och därmed allvarligare. Symptom, orsaker och hur allvarliga infektionerna är kan skilja sig mellan de olika klasserna och därför tas dessa upp var för sig.

Ytpyodermi

Intertrigo eller hudveckspyodermi är ett exempel på ytpyodermi. Den yttrar sig som en illaluktande klåda med håravfall och rodnad. Som namnet antyder så stannar infektionen i de allra yttersta hudlagren, epidermis, oftast i de yttersta delarna med döda hudceller (Figur 3). Infektionen ses på kroppen där huden bildar veck där fukt, smuts och döda celler lätt ansamlas.



Figur 3, hudlager. Källa: www.wikipedia.org.

Ytlig pyodermi

Detta är den vanligaste formen av pyodermi och det finns många olika sjukdomar inom denna kategori. Några exempel är ytlig folliculit, impetigo, hotspot/våteksem. Skadorna från dessa sjukdomar ses i epidermis och ibland även i hårfolliklar (Figur 3).

Ytlig folliculit är den som ses oftast och kan ge upphov till varierande symptom. Hundarna kan få papler, pustler, collarettor, håravfall och krustor. De kan även drabbas av klåda. Våteksem är också vanligt, det första man märker är att pälsen är fuktig, tovar ihop sig och att hunden har ont och kliar sig. När pälsen har rakats av kan en röd och vätskande hud ses.

Djup pyodermi

Dessa pyodermier är oftast allvarligare och skadorna går ner i dermis och även i subcutis (Figur 3). Exempel på sjukdomar är furunkulos, callus pyodermi och cellulit. Djup pyodermi ses ofta som röda eller lila upphöjda knölar, fistlar, med blodigt och varigt exsudat och krustor som täcker nekrotiserad och varig hud.

(Greene C.E., 2011)

Ofta kommer pyodermier som en sekundär infektion och det är då viktigt att man hittar den bakomliggande orsaken annars är det svårt att bli av med hudproblemet. Här följer exempel på bakomliggande orsaker (Greene C.E., 2011):

- Allergi
- Sjukdomar som kan ge effekt på huden, direkt och indirekt, t.ex. hypothyroidism, svamp och virusinfektioner
- Ektoparasiter
- Immunosupprimerande behandlingar med t.ex. kortison
- Anatomiska och fysiologiska faktorer
- Miljöfaktorer
- Hypersensivitet mot stafylokokker
- Trauma
- Iatrogen, då vården orsakar sjukdomen

- Idiopatisk – ovanligt, där det inte finns någon bakomliggande orsak
- Ras

Vid avel på hundar har några raser fått problem med att de har större benägenhet att få hudsjukdomar. Det kan bero på avel inriktad på olika utseenden men det finns även vissa gener som predisponerar för hudsjukdomar. I en studie visade sig några raser ha allmän ökad risk för att få hudsjukdomar, dessa var boxer, bichon frisé och tax. I samma studie kunde de även se newfoundland, golden retriever och collie löpte en större risk att få follikulit och furunkulos. Schäfer har en genetisk defekt som ger dem en speciell typ av återkommande pyodermi och en tredjedel av fallen med återkommande problem i den här studien var schäfrar (Scott & Paradis, 1990).

Även om pyodermi är en så pass vanlig sjukdom så är inte patogenesen klarlagd och för att behandlingen av hundarna ska bli bra är det viktigt att sjukdomens patogenes undersöks.

Syftet med litteraturstudien var att få svar på följande frågeställningar:

- Hur kan stafylokocker påverka patogenesen för pyodermi hos hund?
- Vilka toxiner uttrycker *S. pseudintermedius* och vilken roll har de i pyodermin?
- Hur påverkar exfolierande toxiner?
- Vad uttrycker *S. pseudintermedius* för övriga virulensfaktorer som kan vara viktiga för pyodermi?

MATERIAL OCH METODER

Vid denna litteraturstudie har sökmotorerna Web of Knowledge och PubMed använts. Sökord som har använts är bl. a.: ”staphylococcus AND pyoderma AND (dog OR canine)”, ”canine bacterial pyoderma”, ”canine staphylococcal pyoderma”, ”toxin AND pyoderma AND staphylococcus”, ”pyoderma”, ”exfoliative toxin AND canine”. Efter genomgång av relevanta artiklar så har referenser i dessa artiklar också använts. Avgränsningar på denna studie har varit att inte gå in på MRSP eller behandlingar.

LITTERATURÖVERSIKT

Exfolierande toxiner

Exfolierande toxiner har påvisats hos *S. aureus*-isolat från människa och hos *S. hyicus*-isolat från gris där de orsakar sjukdomar som liknar pyodermi hos hund (Nishifuji et al, 2008, Futagawa-Saito et al., 2009). Dessa toxiner påverkar keratinocyterna i huden så att de förlorar sin cellkontakt vilket leder till de kliniska symptomen med blåsor som spricker och bildandet av sårskorpor samt flagnande hud (Nishifuji et al., 2008).

Då dessa sjukdomar har många likheter med pyodermi hos hund har man börjat fundera på om exfolierande toxiner även här har betydelse för patogenesen (Futagawa-Saito et al., 2009) Tre potentiella exfolierande toxiner har hittills beskrivits hos hund. Dessa är ”exfoliative toxin

of *pseudintermedius*” (Exi) (Futagawa-Saito et al., 2009) som nu är föreslagen att byta namn till ExpA (Iyori et al., 2010), ExpB (föreslaget namn) som är det mest nyfunna toxinet (Iyori et al., 2010) och ”*S. intermedius* exfoliative toxin” (SIET) (Terauchi et al., 2003).

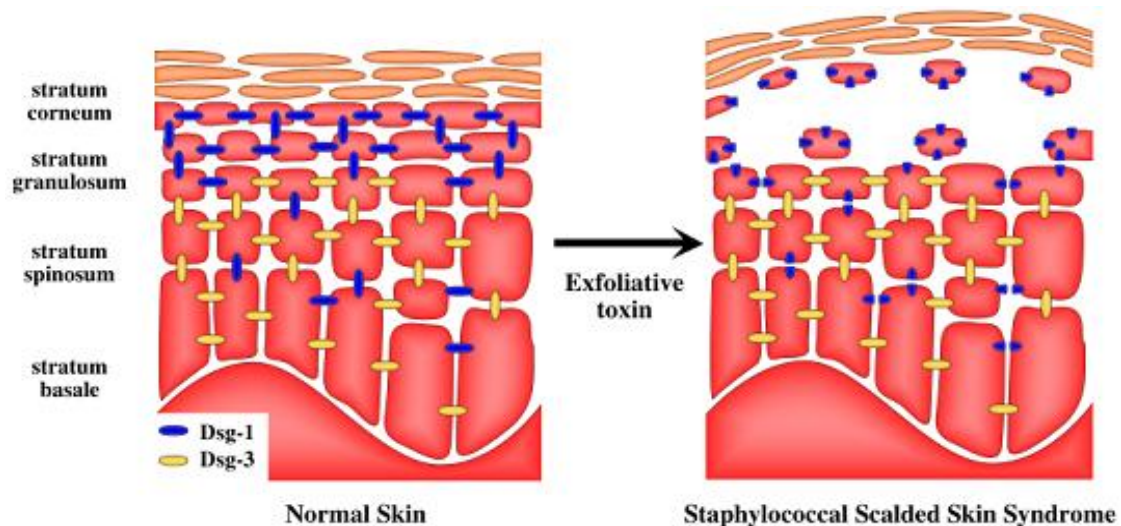
Exi

När isolat av *S. pseudintermedius* analyserades med Polymerase Chain Reaction (PCR) med primrar riktade mot konserverade strukturer som återfinns hos människans och grisens exfolierande toxiner hos andra stafylokocker (*S. aureus* respektive *S. hyicus*), hittades ett nytt toxin hos *S. pseudintermedius* som kom att kallas Exi (Futagawa-Saito et al., 2009). I aminosyrasekvensen hos Exi hittades en region som uttrycker en katalytisk triad vilket är den aktiva platsen för trypsinliknande serinproteas (Futagawa-Saito et al., 2009). Triaden klyver bindningarna mellan keratinocyterna och orsakar en klyvning/exfoliering av huden.

I studien av Futagawa-Saito et al. (2009) undersöktes hundar med pyodermi. Författarna fann att 23,3 % av *S. pseudintermedius*-isolaten uttryckte Exi. Prevalensen av *S. aureus*-isolat som uttrycker exfolierande toxiner har studerats hos människa. De påträffade då betydligt fler *S. aureus* som uttrycker exfolierande toxiner hos de undersökta patienter som uttryckte just de specifika symptomen som dessa toxiner orsakar. Jämfört med när de undersökte patienter med allmänna dermatologiska symptom. Futagawa-Saito et al. (2009) föreslår att så också skulle kunna vara fallet hos hundar, men det krävs ytterligare studier för att fastställa det.

Vid försök då neonatala möss injicerades med Exi uppstod stora blåsor och/eller exfoliering av huden efter bara några timmar, medan mössen som hade injicerats med en substans som inte innehöll Exi inte uppvisade några tecken på sjukdom. På histologiska snitt visades hur epidermis hade separerat från resten av huden (exfolierat) (Futagawa-Saito et al., 2009). Iyori et al. (2011) gjorde även försök på hundar med en kontrollgrupp. De hundar som injicerats med Exi uppvisade rodnad av huden, blåsor och erosioner medan kontrollgruppen inte uppvisade några symptom på pyodermi. Histopatologiskt syntes en intraepidermal klyvning av huden.

Det som händer när exfolierande toxiner klyver huden är att ett trypsinliknande serinproteas klyver en peptidbindning i desmoglein-1 (Dsg1) hos korneocyterna (Iyori et al., 2011). Desmoglein är en desmosomal adhesionsmolekyl som sitter mellan keratinocyterna. När peptidbindningen klyvs släpper cellerna från varandra och det bildas en intraepidermal klyvning (Figur 4). Iyori et al. (2011) studerade vilka desmoglein som Exi påverkar genom att studera det med hjälp av immunofluorescens. De testade Dsg1 och Dsg3 men Exi spjälkade bara Dsg1. Studien visade också att Exi specifikt spjälkade Dsg1 från hund, men även Dsg1 från svin och Dsg1 α från mus (mus har tre varianter av Dsg1, α , β och γ). Exi spjälkade däremot inte humant Dsg1 eller Dsg1 β och Dsg1 γ från mus (Iyori et al., 2011).



Figur 4, Exfolierande toxiner klyver desmoglein-1 och huden exfolierar.
Publiceras med medgivande från Bukowski et al., 2010.

De olika desmogleinen finns på olika ställen i hudlagrena. Dsg1 uttrycks hos hunden i hela epidermis medan Dsg3 bara uttrycks i de lägre epidermala lagrena (Iyori et al., 2011).

ExpB

Iyori et al. (2010) upptäckte ett nytt protein från *S. pseudintermedius* som visade sig vara homologt med andra exfolierande toxiner och även det här proteinet, ExpB, innehöll en katalytisk triad, precis som Exi.

För att undersöka om ExpB hade någon exfolierande toxicitet injicerades tre hundar med proteinet. Makroskopiskt syntes exfoliering av huden och histologiskt kunde en intraepidermal klyvning ses. När forskarna sedan gjorde en immunofluorescens analys kunde de se att även ExpB spjälkade Dsg1 men inte Dsg3 (Iyori et al., 2010).

Iyori et al (2010) undersökte även prevalensen av ExpB hos *S. pseudintermedius* från friska hundar och hos hundar med pyodermi. Prevalensen hos kliniskt friska hundar var 6,1 % och hos hundar med pyodermi var prevalensen 23,2 % vilket är en signifikant skillnad. De registrerade också vilka symptom de sjuka hundarna som var positiva för ExpB uppvisade. Det var främst pustler men även rodnad av huden, collaretter och krustor.

SIET

SIET är ett toxin som är omdiskuterat om det är exfolierande eller inte (Terauchi et al., 2003, Iyori et al., 2011). Vid injektion av toxinet på kycklingar och hamsterungar kunde forskarna se en exfoliering av huden. När de i ett senare skede även injicerade hundar med toxinet uppstod rodnad och "Nikolsky signs" vilket är när huden exfolierar då man gnider på den (Terauchi et al., 2003). Iyori et al. (2011) kunde däremot inte i sin studie påvisa några exfolierande effekter av SIET. De såg inga symptom vid injektionsstället på hunden, på de

histologiska snitten syntes inga förändringar så som exfoliering av huden och toxinet bröt inte ner Dsg1 vilket andra exfolierande toxiner har visats göra. När de undersökte SIET närmare visade det sig att det hade en annan aminosyrasekvens än tidigare kända exfolierande toxin. SIET saknar också den aminosyrasekvens som kodar för den katalytiska triaden och som är den struktur som klyver Dsg1 (Iyori et al., 2011).

I en studie av Youn et al. (2011) påvisades *siet*-genen från *S. pseudintermedius* i 93,3% av alla isolat, men de flesta individer som bakterierna var isolerade ifrån visade inga tecken på pyodermi. I en annan studie av Yoon et al. (2010) påvisades genen i alla isolaten. Alla bakterieproverna var tagna från hundar med pyodermi.

Övriga stafylokocktoxiner

Leukotoxin

Leukotoxin är ett synergohymenotropiskt toxin vilket betyder att det är två proteiner som samverkar (synergi) för att få toxisk effekt, om ett av de två proteinerna inte är närvarande så blir det ingen toxisk verkan (Prevost et al., 1995). *Staphylococcus pseudintermedius* uttrycker ett leukotoxin kallat Luk-I där de två komponenterna kallas LukS-I och LukF-I. I studien visades det att leukotoxinet från *S. pseudintermedius* är likt det från *S. aureus* även om de inte är identiska. Toxinets funktion kan då även antas likna det från *S. aureus* (Prevost et al., 1996).

Toxinets målceller är immunförsvarsceller såsom neutrofiler, makrofager och monocytter och ibland även erythrocyter. När båda proteinerna i toxinet har bundit kan de utöva sin aktivitet genom att bilda porer i cellmembranet. Detta orsakar nekros och aktiverar neutrofilerna (Prevost et al., 1996).

Leukotoxiners cytotoxicitet är mycket hög och prevalensen av leukotoxiner hos *S. pseudintermedius* isolerade från hundar är hög. I en annan studie producerade alla isolat från friska djur och djur med pyodermi LukI (Futagawa-Saito et al., 2004a). Ingen skillnad påvisades mellan toxinerna som uttrycktes hos sjuka respektive friska djur.

När toxinet injicerades i kaniner uppvisade de symptom som rodnad, skorpor och nekros av vävnaden. Författarna kunde också se histologiska förändringar som vasodilatation, perivaskulär infiltration, diapedes (blodkroppar som passerat en oskadad kärlvägg), karyorhexi av leukocyterna (kärnan fragmenteras, ett steg i nekrosen) samt vaskulär- och vävnadsnekros runt området för injektionen (Prevost et al., 2004).

Enterotoxiner

Enterotoxiner producerade av stafylokokker förknippas oftast med matförgiftning. De enterotoxiner som produceras av *S. aureus* har även visats orsaka pyodermi hos människa (Burkett & Frank, 1998). Enterotoxiner delas in i olika grupper. Hos hund är det en form av *S. aureus* kategori C, den gavs då namnet stafylokock enterotoxin C canine (SEC_{canine}) (Edwards et al., 1997)

Prevalensen av enterotoxiner hos *S. pseudintermedius* har studerats och visar på tvetydiga resultat. I en studie av Yoon et al (2010) så bar 23.3 % av bakterieisolaten på *sec*-genen. Men när Youn et al (2011) gjorde en studie på både patienter, personal och omgivning på ett djursjukhus i Korea kunde de bara identifiera enterotoxin från ett av isolaten taget från personalen. Futagawa-Saito et al. (2004b) påvisade också bara ett bakterieisolat som uttryckte SEC. Som en följd av detta föreslog de att det kan finnas geografiska skillnader över vilka virulensfaktorer *S. pseudintermedius* uttrycker.

Hos människa har det påvisats att enterotoxiner kan fungera som superantigener och därmed orsaka andra sjukdomar än matförgiftning (Edwards et al., 1997). Enterotoxiner kan binda till ”major histocompatibility class II” (MHC II) men utanför den antigenbindande platsen. Bindningarna leder till stimulering av T-cells proliferation via en mekanism där de interagerar med T-cells receptorn. Även SEC_{canine} ledde till T-cells proliferationen på det här specifika sättet och det kunde fastställas att även det kunde fungera som superantigen (Edwards et al., 1997). Betydelsen av superantigener är inte studerad hos levande djur och därmed vet man i dagsläget inte vad de kan orsaka för symptom och sjukdomar.

Burkett & Frank (1998) undersökte om förekomst av enterotoxiner hängde ihop med något speciellt symptom. De påvisade inget samband och de misstänker att enterotoxiner inte spelar så stor roll i patogenesen vid pyodermi.

När Futagawa-Saito et al. (2004b) skulle undersöka prevalensen av SEC_{canine} hos hundar upptäckte de ett nytt enterotoxin-liknande protein som alla isolat från hundarna uttryckte. Proteinet gavs namnet SE-int (*S.pseudintermedius* enterotoxin). Vid undersökning av aminosyrasekvensen hos SE-int påvisades de regionerna som ger enterotoxinerna deras superantigenicitet. Författarna föreslår att SE-int är det andra enterotoxinet hos hund med superantigenicitet och att ytterligare studier behöver göras för att fastställa om så verkligen är fallet.

Hemolysin

Staphylococcus pseudintermedius producerar två hemolysiner, alfa och beta. Dessa ger dubbelhemolys på blodagarplatta (Quinn et al., 2011). Båda toxinerna är virulensfaktorer men det är osäkert exakt vilken roll de har i kroppen. Även dess roll för utvecklingen av pyodermi är oklar och har inte studerats ingående i något arbete än.

Övriga virulensfaktorer

Cellväggsassocierade proteiner

Bakterier uttrycker många proteiner på sin yta som kan påverka patogenesen av många sjukdomar, så kallade cellväggsassocierade proteiner (CVA). Dessa proteiner är också intressanta ur behandlingssynpunkt då de här strukturerna kan vara bra målstrukturer för vaccin och andra behandlingar för att hantera stafylokock sjukdomar (Bannoehr et al., 2011).

De studerade proteinerna visade sig binda till fibrinogen, fibronectin och cytokeratin 10 i det extracellulära matrixet. Detta är viktigt att veta då bindningar till det extracellulära matrixet (ECM) är viktig för utvecklingen av sjukdomar. Författarna upptäckte också att bakterierna binder olika starkt till olika ECM beroende på var i tillväxtfasen bakterierna finner sig, vilket kan betyda att funktionen och hur de binder sig till cellerna i kroppen kan ändras över tid vid en infektion (Bannoehr et al., 2011).

För att se om CVA hade någon betydelse *in vivo* undersöktes om hundar med pyodermi hade utvecklat några antikroppar mot CVA. Alla undersökta proteiner gav upphov till antikroppsproduktion och därmed hade CVA orsakat ett immunsvaret hos hundarna när dessa infekterades med *S. pseudintermedius*.

Protein A

Protein A uttrycks på ytan av bakterien och kan binda till immunoglobuliner och då främst IgG (Quinn et al., 2011). När Protein A binder IgG så binder det till Fc-delen, den tunga delen. Fc-delen är egentligen den del som ska binda till de fagocyterande cellerna men binder i det här fallet till bakterien istället. Antikropparna är till för att markera bakterierna för destruktions och hjälpa de fagocyterande cellerna att binda intill bakterien, även kallat opsonisering. När bakterien binder till Fc-delen kan inte opsoniseringen ske. Protein A fungerar därmed som ett skydd för bakterierna så att immunsvaret inte kan eliminera dem.

I en studie gjord av Futagawa-Saito et al. (2006) undersöktes prevalensen av protein A hos *S. pseudintermedius* isolerade från hund. Protein A påvisades hos 54,5 % av isolaten.

Proteaser

Proteaser är enzymer som bryter ner proteiner och som kan genom att bryta ner kroppens egna proteiner, fungera som en virulensfaktor. Proteasaktiviteten kan variera mycket mellan olika isolat av *S. pseudintermedius*. Författarna anser att det kan tyda på att det är en faktor som kan vara med att avgöra hur allvarliga symptomen på pyodermi blir (Allaker et al., 1991).

Futagawa-Saito et al. (2006) undersökte förekomsten av proteas i isolat av *S. pseudintermedius* och 54,5 % av isolaten uttryckte detta.

Koagulas

Koagulas omvandlar fibrinogen till fibrin, fibrinet kan då fungera som ett skydd för bakterien mot fagocyterande celler (Quinn et al., 2011).

Koagulas produceras främst av de patogena arterna av stafylokokker och är därmed en viktig indikator för patogenicitet (Quinn et al., 2011). När Allaker et al. (1991) undersökte olika *S. pseudintermedius*stammar med avseende på koagulasproduktion var alla prover positiva när hundplasma användes. Det är viktigt att skilja koagulas från ”clumping factor” som är ett

koagulerande protein bundet till bakterien. Koagulas däremot är ett fritt protein som bakterien utsöndrar (Quinn et al., 2011).

DISKUSSION

Stafylokokker kan påverka patogenesen vid pyodermi på många olika sätt då bakterien uttrycker ett flertal virulensfaktorer. Toxiner som uttrycks är viktiga virulensfaktorer men det finns även andra faktorer som man inte är helt säker på hur de påverkar patogenesen vid pyodermi. Många av dessa virulensfaktorer verkar skyddande för bakterien. Det som är värt att diskutera är de exfolierande toxinernas viktiga roll, om SIET verkligen är ett exfolierande toxin, om enterotoxiner kan ge pyodermi och om det då är via deras superantigenicitet samt om leukotoxiner kan inducera pyodermi.

De exfolierande toxinerna är de enda av de toxiner i den här litteraturstudien som bara har påvisats i pyodermisammanhang och som dessutom ger tydliga pyodermisymptom. De symptom som kunde ses var rodnad, blåsor, pustler, collaretter och krustor (Iyori et al., 2010, Iyori et al., 2011). Dessa symptom överensstämmer bra med de vanligaste symptomen på pyodermi (Greene C.E., 2011). Eftersom deras påverkan på huden påvisats tydligt och symptomen stämmer så är de exfolierande toxinerna den enda faktorn som man med säkerhet kan säga påverkar och som bör studeras mer i samband med pyodermi. De exfolierande toxinerna hos *S. aureus* från människa har påvisats i betydligt högre grad hos patienter med en specifik form av hudinfektion än hos dermatologiska patienter i allmänhet (Futagawa-Saito et al., 2009). Så kan även vara fallet hos hundar. Uttrycket av olika virulensfaktorer hos *S. pseudintermedius* kan variera mellan olika bakteriestammar och därmed skulle de olika bakteriestammarna kunna orsaka olika varianter av pyodermi, vilket skulle kunna resultera i olika symptom. Men eftersom ingen forskning på hundar har gjorts inom detta område så är det svårt att dra några slutsatser.

När det gäller SIET så är det omdiskuterat vad det är för toxin och protein. Den slutsats man kan dra är att det inte är ett exfolierande toxin som Exi och ExpB. DNA-sekvensen skiljer sig mycket mellan SIET och de andra exfolierande toxinerna och de aktiva enzymatiska delarna är helt annorlunda (Iyori et al., 2011). SIET klyver till exempel inte Dsg1 eller Dsg3 vilket Exi och ExpB gör. Däremot så har SIET identifierats i nästan alla isolat av *S. pseudintermedius* så någon funktion har det även om det inte är exfolierande (Yoon et al., 2010, Youn et al., 2011). Eftersom resultaten från undersökningarna har varit så varierande går det inte att dra några riktiga slutsatser om SIETs funktion vid pyodermi utan fler studier behöver göras. Terauchi et al. 2003 kunde till exempel påvisa tydliga tecken på pyodermi medan Iyori et al (2011) inte kunde påvisa någon förändring alls.

Enterotoxiner ger främst matförgiftning och den toxigeniciteten är inte viktig för pyodermi. Däremot har vissa enterotoxiner påvisats ha superantigenicitet vilket kan påverka utvecklingen av många sjukdomar eftersom samma specificitet inte krävs. Det är påvisat att enterotoxiner som är superantigena har orsakat pyodermi hos människa men fler studier krävs för att se hur just superantigeniciteten påverkar pyodermi hos hundar. SEC_{canine} har påvisats i

varierande grad (Futagawa-Saito et al., 2004b, Yoon et al., 2010, Youn et al., 2011) och frågan är om det är SEC_{canine} eller det nyfunna enterotoxinet SE-int (Futagawa-Saito et al., 2004b) som är av störst betydelse.

Leukotoxiner har mycket hög cytotoxicitet och vid en studie orsakade dessa många symptom på pyodermi (Prevost et al., 2004). Prevalensen av leukotoxiner hos *S. pseudintermedius* är mycket hög, hos både hundar med pyodermi och friska hundar. Trots att immunceller är leukotoxinernas primära mål så har studier visat att de även kan ge pyodermi när toxinet injicerades i huden. Men eftersom prevalensen är densamma hos sjuka och friska djur och inga studier har gjorts på naturligt infekterade djur så går det inte att dra någon slutsats om leukotoxinernas medverkan i patogenesen vid pyodermi.

Stafylokockinfektioner är komplexa då bakterierna uttrycker många olika virulensfaktorer och flera virulensfaktorer samarbetar för att orsaka sjukdom. Pyodermi är en komplex multifaktoriell sjukdom. De exfolierande toxinerna är dock de som ger tydligast symptom på pyodermi och dessutom är det de toxiner som går specifikt på huden.

Det är viktigt att komma ihåg att det inte bara är virulensfaktorerna hos bakterien som är av betydelse för patogenesen utan det är även yttre faktorer och egenskaper hos djuret som är viktiga. I varje individs specifika fall behöver det inte vara samma faktorer som utlöser sjukdomen. Värt att tänka på är hur vi med vår avel har avlat fram hundraser som är mer benägna att få hudsjukdomar. Är det etiskt rätt att avla vidare på fysiologiska förändringar hos hundar som gör så att de får allvarliga problem, kanske för hela livet? Det är alltid viktigt att i avel tänka på hundarnas välbefinnande och inte avla på sjuka djur.

Det man alltid ska ha i bakhuvudet när man får in en hund med pyodermi är att det är mycket ovanligt med idiopatisk pyodermi. Det finns nästan alltid en bakomliggande orsak till sjukdomen. För att hunden ska kunna bli fri från sina problem måste man hitta den bakomliggande orsaken och även behandla den för att inte pyodermin ska återkomma.

Acknowledgement

I acknowledge Michal Bukowski, Benedykt Wladyka, Grzegorz Dubin and the journal Toxins for kindly letting me use Figur 4 in my work.

REFERENSER

- Allaker, R.P., Lamport, A.I., Lloyd, D.H. & Noble, W.C. (1991). Production of virulence factors by staphylococcus-intermedius isolates from cases of canine pyoderma and healthy carriers. *Microbial Ecology in Health and Disease* 4(3), 169-174.
- Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Reglinski, M., Inglis, N.F., Prabhakaran, S., Fossum, E., Smith, D.G., Wilson, G.J., Cartwright, R.A., Haas, J., Hook, M., van den Broek, A.H., Thoday, K.L. & Fitzgerald, J.R. (2011). Genomic and surface proteomic analysis of the canine pathogen *Staphylococcus pseudintermedius* reveals proteins that mediate adherence to the extracellular matrix. *Infect Immun* 79(8), 3074-86.
- Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Waller, A.S., Guardabassi, L., Thoday, K.L., van den Broek, A.H.M. & Fitzgerald, J.R. (2007). Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: Insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *Journal of Bacteriology* 189(23), 8685-8692.
- Bukowski, M., Wladyka, B. & Dubin, G. (2010). Exfoliative Toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2, 1148-1165
- Burkett, G. & Frank, L.A. (1998). Comparison of production of *Staphylococcus intermedius* exotoxin among clinically normal dogs, atopic dogs with recurrent pyoderma, and dogs with a single episode of pyoderma. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 213(2), 232-+.
- Devriese, L.A., Vancanneyt, M., Baele, M., Vaneechoutte, M., De Graef, E., Snauwaert, C., Cleenwerck, I., Dawyndt, P., Swings, J., Decostere, A. & Haesebrouck, F. (2005). *Staphylococcus pseudintermedius* sp nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 1569-1573.
- Edwards, V.M., Deringer, J.R., Callantine, S.D., Deobald, C.F., Berger, P.H., Kapur, V., Stauffacher, C.V. & Bohach, G.A. (1997). Characterization of the canine type C enterotoxin produced by *Staphylococcus intermedius* pyoderma isolates. *Infection and Immunity* 65(6), 2346-2352.
- Futagawa-Saito, K., Ba-Thein, W., Sakurai, N. & Fukuyasu, T. (2006). Prevalence of virulence factors in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. *BMC Veterinary Research* 2(4).
- Futagawa-Saito, K., Makino, S., Sunaga, F., Kato, Y., Sakurai-Komada, N., Ba-Thein, W. & Fukuyasu, T. (2009). Identification of first exfoliative toxin in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Fems Microbiology Letters* 301(2), 176-180.
- Futagawa-Saito, K., Sugiyama, T., Karube, S., Sakurai, N., Ba-Thein, W. & Fukuyasu, T. (2004a). Prevalence and characterization of leukotoxin-producing *Staphylococcus intermedius* in isolates from dogs and pigeons. *Journal of Clinical Microbiology* 42(11), 5324-5326.
- Futagawa-Saito, K., Suzuki, M., Ohsawa, M., Ohshima, S., Sakurai, N., Ba-Thein, W. & Fukuyasu, T. (2004b). Identification and prevalence of an enterotoxin-related gene, se-int, in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. *Journal of Applied Microbiology* 96(6), 1361-1366.
- Greene, C.E. (2011). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4 uppl. Edinburgh: Elsevier Saunders; Kap. 84.
- Iyori, K., Futagawa-Saito, K., Hisatsune, J., Yamamoto, M., Sekiguchi, M., Ide, K., Son, W.-G., Olivry, T., Sugai, M., Fukuyasu, T., Iwasaki, T. & Nishifuji, K. (2011). *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin EXI selectively digests canine desmoglein 1 and causes subcorneal clefts in canine epidermis. *Veterinary Dermatology* 22(4), 319-326.
- Iyori, K., Hisatsune, J., Kawakami, T., Shibata, S., Murayama, N., Ide, K., Nagata, M., Fukata, T., Iwasaki, T., Oshima, K., Hattori, M., Sugai, M. & Nishifuji, K. (2010). Identification of a novel

- Staphylococcus pseudintermedius exfoliative toxin gene and its prevalence in isolates from canines with pyoderma and healthy dogs. *FEMS Microbiol Lett* 312(2), 169-75.
- Nishifuji, K., Sugai, M. & Amagai, M. (2008). Staphylococcal exfoliative toxins: "Molecular scissors" of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *Journal of Dermatological Science* 49(1), 21-31.
- Prevost, G., Bouakham, T., Piemont, Y. & Monteil, H. (1995). Characterization of a synerghohymenotropic toxin produced by staphylococcus-intermedius. *Febs Letters*376(3), 135-140.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S. & Hartigan, P.J. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2 uppl. Chichester: Wiley-Blackwell. Kap. 14.
- Scott, D.W. & Paradis, M. (1990). A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice – small animal clinic, University-of-Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec(1987-1988). *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne* 31(12), 830-835.
- Terauchi, R., Sato, H., Hasegawa, T., Yamaguchi, T., Aizawa, C. & Maehara, N. (2003). Isolation of exfoliative toxin from Staphylococcus intermedius and its local toxicity in dogs. *Veterinary Microbiology* 94(1), 19-29.
- Yoon, J.W., Lee, G.J., Lee, S.Y., Park, C., Yoo, J.H. & Park, H.M. (2010). Prevalence of genes for enterotoxins, toxic shock syndrome toxin 1 and exfoliative toxin among clinical isolates of Staphylococcus pseudintermedius from canine origin. *Vet Dermatol* 21(5), 484-9.
- Youn, J.H., Koo, H.C., Ahn, K.J., Lim, S.K. & Park, Y.H. (2011). Determination of staphylococcal exotoxins, SCCmec types, and genetic relatedness of Staphylococcus intermedius group isolates from veterinary staff, companion animals, and hospital environments in Korea. *Journal of Veterinary Science* 12(3), 221-226.