



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

**Dysbios av hudens mikrobiom vid
atopisk dermatit hos hund**
Dysbiosis of the skin microbiome in canine
atopic dermatitis

Johanna Onselius

*Uppsala
2019*

Dysbios av hudens mikrobiom vid atopisk dermatit hos hund

Dysbiosis of the skin microbiome in canine atopic dermatitis

Johanna Onselius

Handledare: Erik Pelve, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kursansvarig institution: Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsvetenskap

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Atopisk dermatit, hund, dysbios, staphylococcus

Key words: Atopic dermatitis, dog, dysbiosis, staphylococcus

INNEHÅLL

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt	4
Human atopisk dermatit	4
Hundens mikrobiom.....	4
Förändringar i mikrobiomet vid atopisk dermatit.....	5
<i>Dysbios</i>	5
<i>Staphylococcus spp.</i>	5
<i>Corynebacterium spp.</i>	6
Effekter av antimikrobiell behandling	6
Kopplingar till patogenesen.....	7
Hudbarriären	7
<i>Staphylococcus spp.</i>	8
<i>Corynebacterium spp.</i>	9
Diskussion	9
Orsak eller konsekvens.....	9
Vidare forskning	10
Sammanfattning	10
Litteraturförteckning	12

SAMMANFATTNING

Atopisk dermatit är en vanlig hudsjukdom som drabbar runt 10-15% av alla hundar. Sjukdomen innebär överkänslighetsreaktioner med bland annat klåda mot specifika allergener. Ofta är det allergener som hunden kan komma i kontakt med i vardagen, som till exempel pollen eller husdamm. Syftet med den här uppsatsen är att undersöka hur mikrobiomet på huden förändras hos hundar drabbade av atopisk dermatit och om de förändringar som ses kan ha en roll i utvecklingen av sjukdomen.

Mikrobiomet innebär alla mikroorganismer som lever i en viss miljö, i detta fall på huden. Hundars mikrobiella hudflora verkar variera mycket mellan olika individer. Det har hittills varit svårt att hitta gemensamma faktorer såsom ålder eller kön som verkar påverka dess komposition signifikant. Däremot är flera studier överens om att mikrobiomet förändras vid atopisk dermatit och då försätts i dysbios. Det innebär att kompositionen av olika mikroorganismer skiljer sig från den normala floran på frisk hud. Man kan observera en drastisk ökning av arten *Staphylococcus pseudintermedius* och i mindre utsträckning en ökning av *Corynebacterium* spp. Den ökade kolonisationen av stafylokocker är den mest studerade då en motsvarig ökning av *S. aureus* sker på huden vid atopisk dermatit hos människor. Flera studier har visat att ökningen av stafylokocker är direkt kopplad till symptomets svårighetsgrad vid utbrott och att symptomen och dysbiosen uppkommer simultant. Det tyder på att det finns ett samband mellan de två. Att stafylokockbakterier skulle kunna påverka och förvärra sjukdomsutbrott stöds även av det faktum att antimikrobiell behandling har visat sig kunna mildra symptomen och på möss även förebygga utbrott helt.

Mycket tyder på att hudbarriärens funktion spelar en avgörande roll i utvecklingen av atopisk dermatit och att dess samspel med mikrobiomet är avgörande för de kliniska symptomen. Hundar med atopisk dermatit har till exempel ett förtunnat stratum corneum vilket skulle kunna öka risken för både allergisk sensitisering och bakteriell invasion i huden. Stafylokocker fäster bättre till atopisk hud, och på möss har man visat ett antal olika sätt bakterierna skulle kunna inducera immunsvaret som förstärker inflammationsreaktioner och på så sätt förvärrar sjukdomen. Till exempel genom att stimulera mastcellsdegranulation eller inducera en ökning av antalet Th-celler och interleukiner.

Det exakta sambandet mellan dysbiosen och sjukdomen är inte helt klarlagd på hund idag och det är svårt att säga med säkerhet om dysbiosen är en konsekvens av eller en orsak till symptomen. Mycket tyder på att det är en komplex relation där både miljön på huden påverkar bakterierna och vice versa. Det vi vet är att sambandet finns och det öppnar för ny forskning om till exempel nya behandlingsmetoder som kan rikta sig mot att återställa dysbiosen.

SUMMARY

Atopic dermatitis is a common skin disease that affects around 10-15% of dogs. In atopic dogs hypersensitivity reactions to environmental allergens result in symptoms like skin erythema and pruritus. The purpose of this study is to explore how the microbiome is altered on the skin of atopic dogs and to see if those differences play a part in the pathogenesis of the disease.

The skin microbial flora is diverse and varies significantly depending on the individual dog. It has been difficult to find any one factor that seem to determine the composition of the skin flora, such as age or sex of a dog. Although in atopic dermatitis multiple studies show that highly similar changes occur. The microbiome enters a state of dysbiosis, where the composition of the microbiome differs from that of healthy skin. An increase in the relative abundance of *Staphylococcus pseudintermedius* is observed along with increase in *Corynebacterium* spp. and lowered overall bacterial diversity. Similarly, an increase of *S. aureus* can be seen on the skin of human patients with atopic dermatitis. Therefore, many studies have focused on the possible effects of that specific bacterium. Multiple studies show that there is a direct connection between the increase in *Staphylococcus* spp. on the skin and the severity of the symptoms, and that they appear simultaneously during outbreaks. The idea that bacteria could play a part in the development of the disease is also supported by the fact that antimicrobial therapy alone is shown to be able to lessen the severity of skin lesions during outbreaks. Antibiotic treatment in mice can stop lesions from developing altogether.

The skin barrier function is important to the pathogenesis of the disease and its interactions with the microbiome seems to be key in the development of clinical symptoms. The thickness of the lipid lamellae in the stratum corneum layer is significantly less in atopic canine skin. That could possibly increase the risk of allergic sensitization or bacterial invasion of the skin. *Staphylococcus* species have also been shown to be able to adhere more strongly to atopic skin compared to normal skin. Different ways in which *Staphylococcus* could induce immune responses and increase inflammation have been studied in mice. The bacteria could have effects by inducing degranulation of mast cells or by increasing the number of Th-cells, as well as amounts of interleukins.

The exact correlation between dysbiosis and atopic dermatitis is not yet clear. There seem to be many complex interactions where both the skin environment affects the colonizing bacteria and vice versa. What we do know is that a connection between the two exist, and that microbial dysbiosis seem to have detrimental consequences on the skin by driving inflammation. Applying that knowledge can lead to potential new treatment methods seeking to prevent microbial dysbiosis.

INLEDNING

Atopisk dermatit är en vanlig hudsjukdom hos hundar som idag är svår att behandla långsiktigt och som kan orsaka ett stort lidande för det drabbade djuret. Det uppskattas att runt 10-15% av alla hundar drabbas av sjukdomen (Hillier & Griffin, 2001) och förekomsten av dessa typer av överkänslighetsreaktioner verkar öka.

Atopisk dermatit hos hund är namnet för överkänslighetsreaktioner mot specifika allergener som finns i miljön. Det kan till exempel vara olika slags pollen, husdamm, husdammskvalster eller djur- och människoepitel som orsakar utbrott. Hos de flesta atopiska hundar, alltså hundar med atopisk dermatit, uppkommer symptom mellan 1 till 3 års ålder men det kan variera ännu mer. De första symptomen är ofta hudrodnad och klåda (erytem och pruritus) vilka kan visa sig i hundarnas beteende genom att de slickar, biter och kliar sig själva mer än normalt. Detta kan i sin tur orsaka hudlesioner som predisponerar för sekundära infektioner. Prognosen är god men de flesta hundar har återkommande problem och behöver följas noga under hela livet. De enda behandlingsalternativen som finns på lång sikt är allergivaccin, cyclosporiner och att undvika allergenerna som orsakar utbrotten. (Hnilica, 2011)

Hos människor med atopisk dermatit finns ett välstuderat samband mellan sjukdomstillståndet och hudens mikrobiom. På sjukdomsdrabbad hud är den mikrobiella floran i dysbios vilket betyder att kompositionen av de olika mikroorganismerna skiljer sig från den normala floran på frisk hud. Sedan 70-talet har man även med kulturbaserade metoder kunnat hitta bakterien *Staphylococcus aureus* på atopisk hud (Leyden *et al.*, 1974). Nya tekniker för sekvensering och identifiering av olika mikroorganismer har möjliggjort mer detaljerade studier av mikrobiomets sammansättning. Hos människor har man i enlighet med tidigare forskning sett en ökning av stafylokocker och också en generell minskning i den bakteriella diversiteten på drabbad hud. (Williams & Gallo, 2015)

Patogenesen bakom atopisk dermatit hos hund är idag inte helt klarlagd men mycket tyder på att det är en komplex multifaktoriell sjukdom. Till exempel finns stöd för att hundens genetiska bakgrund spelar en roll tillsammans med immunförsvaret, inflammationsreaktioner och en rubbad hudbarriär (Marsella & De Benedetto, 2017).

Syftet med den här uppsatsen är att undersöka hur mikrobiomet på huden ser ut hos hundar med atopisk dermatit jämfört med friska hundar och om de förändringarna kan ha en roll i utvecklingen av sjukdomen.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen till denna uppsats gjordes på databaserna Pubmed, Web of science, Google scholar och Scopus. Sökorden och deras variationer som användes var "dog" och "canine", "microbiome" och "microbiota", "allergy" och "atopic dermatitis" och till sist "pathogenesis". Flera studier hittades genom att de citerade andra eller citerades av andra inom området.

LITTERATURÖVERSIKT

Human atopisk dermatit

Patogenesen bakom atopisk dermatit hos hundar är fortfarande till stor del okänd. Det vi vet är att hudbarriären på hundar som drabbas är försvagad. Det finns också väldigt många likheter mellan människors och hundars versioner av sjukdomen när det kommer till just hur hudbarriären har påverkats (Marsella *et al.*, 2011). Det är därför av intresse att undersöka vad forskning har kunnat konstatera om sjukdomsförloppet på humansidan.

I en översiktsartikel om human atopisk dermatit (Williams & Gallo, 2015) presenteras en teori om hur den grundläggande patogenesen för sjukdomen ser ut. Genetiska defekter i den fysiska och den immunologiska hudbarriären leder till en ökad risk för störningar i dess funktion och då en ökad känslighet för allergener i huden. När man kliar den torra huden tillför man mer fysisk stress som skadar den ytterligare.

Artikeln hänvisar till studier på människor med atopisk dermatit som visat att patienter har en generell ökning av stafylokockarter och en minskning i antalet olika typer av bakterier på drabbad hud. Av stafylokockerna är det främst *S. aureus* som ökar och ökningen har enligt artikeln en tydlig koppling till sjukdomens svårighetsgrad hos människor. Artikeln lyfter fram flera olika mekanismer som skulle kunna ligga bakom kopplingen mellan *S. aureus* och human atopisk dermatit. Till exempel leder den nedsatta hudbarriären till inflammation, ett förhöjt pH-värde och en förändrad adhesionsförmåga mellan cellerna som bildar det yttersta cellagret i huden. Alla dessa faktorer skulle kunna gynna *S. aureus* tillväxt framför andra bakteriers och på så sätt orsaka dysbiosen. Det föreslås också att relationen är mer komplicerad än att det ena direkt leder till det andra, särskilt eftersom *S. aureus* kan utsöndra ett antal virulensfaktorer som påverkar cellerna i huden på olika sätt.

På människor har man också kunnat visa att bakterier inte bara finns på ytan av huden, utan att mikrobiomet även sträcker sig in i epidermis, dermis och de subkutana lagren (Nakatsuji *et al.*, 2013). Det innebär att bakterier kan penetrera den yttre barriären och interagera med många olika celltyper som finns djupare i huden. Att hudens mikrobiom då skulle kunna påverka kroppens normala immunfunktioner och olika sjukdomstillstånd blir mer troligt med den upptäckten.

Hundens mikrobiom

Även om mikrobiomet på huden hos människor är välstuderat finns endast ett fåtal liknande studier på hundar. De flesta studier i denna text använder sig av gensekvensering av en ribosomal RNA-gen från bakterierna för att kunna identifiera flera olika bakterier i samma prov. Proverna svabbas ofta från hundarnas hud. En studie (Hoffmann *et al.*, 2014) påvisade Proteobacteria som det vanligaste fylumet på hundars hud följt av Firmicutes, Actinobacteria och Bacteroidetes. Det är samma fyra fylum som dominerar människors hud (Williams & Gallo, 2015) men det finns stor variation i resultaten från olika studier på hundar.

Hundars mikrobiella hudflora varierar mycket mellan olika hundar och även mellan vissa olika hudområden hos samma hund. Till exempel visade en studie att ytor med päls har en mycket högre artrikedom jämfört med slemhinnor som på nos och konjunktiva (Hoffmann *et al.*, 2014).

Studien fann 25 observerbara arter i ett prov från nosslemhinnan och 866 observerbara arter i ett prov från ett öra. Däremot är det svårt att hitta gemensamma faktorer som verkar påverka mikrobiomets uppsättning. I en studie av mikrobiomet på 40 hundar kunde man inte hitta några signifikanta skillnader i diversitet som berodde på ålder, kön, ras, pälsstyp, årstid eller hudplats (Torres *et al.*, 2017).

Man har kunnat visa att var hunden lever och vistas har en påverkan på sammansättningen av hudens mikrobiom. Till exempel är vissa bakterier som tillhör den normala bakteriefloran på människor som exempelvis Actinobacteria mer förekommande hos hundar från urbana miljöer (Lehtimäki *et al.*, 2018). I samma studie visas också att jordrelaterade bakterier och andra mikrober ur miljön är vanligare hos hundar från lantmiljöer.

I en annan studie med 9 hundar där deras mikrobiom testades kunde 47% av variationen i mikrobiomets komposition förklaras av individuella skillnader, 37% av ras och 12% av provtagningsplats på huden (Chermprapai *et al.*, 2019).

Förändringar i mikrobiomet vid atopisk dermatit

Dysbios

Precis som vid atopisk dermatit som drabbar människor förändras även mikrobiomet på hundens hud vid sjukdomen som då hamnar i dysbios. Flera specifika bakterier påverkas och generellt minskar den bakteriella diversiteten (Bradley *et al.*, 2016). En studie visade att de vanligaste förekommande bakterietaxorna på en frisk hunds hud även kan observeras på allergisk hud medan de bakterietaxa som endast utgör en liten andel av mikrobiomet (<1%) på frisk hud ofta saknas helt hos allergiska hundar (Hoffmann *et al.*, 2014). Man har i en annan studie också visat att det är mindre variation mellan mikrobiomen från olika allergiska hundar jämfört med mellan olika friska hundar (Lehtimäki *et al.*, 2018). Samma studie påvisade även högre nivåer av bakterier som härstammar från människor i mikrobiomen från allergiska hundar.

En studie som följde atopiska hundar och bedömde deras mikrobiom under en längre tid kom bland annat fram till att mikrobiomets diversitet är omvänt korrelerat med symptomen för atopisk dermatit som till exempel erytem och alopeci (Bradley *et al.*, 2016). Det innebär att minskad mikrobiell diversitet är associerat med förvärring av hudlesionerna. I samma studie kontrollerades även hudbarriärens funktion genom mätning av TEWL (trans epidermal water loss), pH-värde och hydrations i huden. Det visade sig då att det fanns ett samband mellan att huden förlorar mycket vatten och att den har lägre bakteriediversitet. Forskarna fann även ett svagt samband mellan lägre pH-värden och lägre diversitet.

Staphylococcus spp.

Ett av de tydligaste sambanden mellan atopisk dermatit och hudens mikrobiom är en ökad närvaro av *Staphylococcus* spp. Ökningen kan precis som hos människor även ses hos hundar som drabbas av sjukdomen och det har de senaste åren gjorts flera studier som visar på det.

En mikrobiomstudie av friska hundar och hundar med atopisk dermatit fann att *Staphylococcus* var det främst förekommande bakteriegenuset på huden från drabbade hundar. Det förekom

alltid i högre grad på atopiska hundars hud än på friska hundars hud (Chermrapai *et al.*, 2019). I prover från ljumskarna, som är ett område som ofta drabbas av lesioner under utbrott, var andelen stafylokocker från de atopiska hundarna 36,5% medan de friska endast hade 4,3%. Den lägsta skillnaden, 7,0% mot 1,7%, var från ryggen. Det var också den enda testade hudytan som inte räknas som ett predilektionsställe för atopisk dermatit.

I en annan studie studerades mikrobiomet på atopiska hundar efter att man inducerat en allergisk reaktion vid endast ena ljumskan (Pierezan *et al.*, 2016). En skillnad som sågs då var en signifikant ökning av familjen Staphylococcaceae som höll i sig i tre veckor efter allergenstimuleringen. Det var till skillnad från humansidan *S. pseudintermedius* som observerades öka mest och inte *S. aureus*. DNA från *S. aureus* påvisades inte alls från de flesta av proverna och associerades alltså inte med hudlesionerna hos hundarna.

En tredje studie visade också att hundar med atopisk dermatit under utbrott har signifikant högre andelar *Staphylococcus* på huden jämfört med friska hundar (Bradley *et al.*, 2016). Med kulturbaserade tester visade sig majoriteten igen vara *S. pseudintermedius* följt av *S. epidermidis*. De kunde även visa på en korrelation mellan den relativa mängden *Staphylococcus* och svårighetsgraden på lesionerna som hundarna uppvisade.

I tidigare forskning har man endast talat om bakterien *S. pseudintermedius* som *S. intermedius* utan att skilja dem åt, men sedan ett antal år tillbaka har den reklassificerats som en egen stam. Alla bakteriestammar från hundar som tidigare kallats *S. intermedius* identifierades då vara *S. pseudintermedius* (Sasaki *et al.*, 2007). Därför kan terminologin ibland skilja sig åt mellan studier beroende på vilket år den är utförd.

Corynebacterium spp.

Corynebakterier är ett släkte bakterier som finns spridda i naturen och är oftast ofarliga. De är vanliga kommensaler på hundars hud och kan utgöra en del av den normala bakteriefloran hos friska hundar (Bradley *et al.*, 2016; Chermrapai *et al.*, 2019). Vid atopisk dermatit ses en minskning i andel av de allra flesta bakterier men *Corynebacterium* är tillsammans med *Staphylococcus* en av de få man kan se en ökning av. När en allergisk reaktion induceras kan en ökning av *Corynebacterium* ses redan efter en dag, vilket är tidigare än ökningen av *Staphylococcus* (Pierezan *et al.*, 2016). I ytterligare en studie testades flera olika hudområden och trenden var att *Corynebacterium* ökade överallt (Bradley *et al.*, 2016). Ökningen i den studien nådde däremot bara signifikanta nivåer i prover från ljumskarna, vilket är ett predilektionsställe för atopisk dermatit.

Effekter av antimikrobiell behandling

En studie undersökte effekterna av topikal behandling med antimikrobiellt schampo på atopiska hundar, vilket är en vanlig behandlingsmetod. Schampot som testades innehöll antimikrobiella medel mot både grampositiva och gramnegativa bakterier och hade även känd aktivitet mot *Staphylococcus intermedius* (Fass Djurläkemedel, 2013). En trend som observerades var att diversiteten ökade under behandlingens gång och sedan minskade igen fyra veckor efter behandlingens slut, men förändringen nådde inte statistiskt signifikanta nivåer (Chermrapai *et al.*, 2019). Mikrobiometets komposition i studien, alltså andelarna av de olika bakterierna, skilde

sig däremot signifikant före, under och efter behandlingen. En annan studie visade också att antimikrobiell behandling normaliserar mikrobiomet på hundar med atopisk dermatit (Bradley *et al.*, 2016). Det vill säga att under behandling försvann den signifikanta skillnaden i diversitet mellan atopiska hundar och kontrollgruppen med friska hundar. Samma studie visade också att den relativa förekomsten av *Staphylococcus* minskar med antimikrobiell behandling. Nivåerna gick från 45% till 15%, men vid mätning efter avslutad behandling hade nivån ökat igen till 18%. Kontrollgruppen med friska hundar hade en konstant låg nivå runt 10%.

En studie på möss undersökte effekterna av riktad antibiotikabehandling (Kobayashi *et al.*, 2015). De använde sig av möss med en framtagen defekt i hudbarriären för att fungera som modell för människor. Dessa möss utvecklade eksematös dermatit med naturligt förekommande dysbios som liknar den som ses vid atopisk dermatit hos hundar och människor. När vissa möss fick gå på behandling med specifika antibiotika mot de bakterier som sågs öka på deras hud (*Staphylococcus aureus* och *Corynebacterium bovis*) var de nästan helt skyddade mot att utveckla eksematösa lesioner. Forskarna kunde konstatera en mängd skillnader i den immunologiska responsen hos de behandlade mössen jämfört med de obehandlade. Till exempel hade behandlade möss lägre serumnivåer av IgE, mindre infiltration av Th-celler och minskade mängder interleukiner. Studien visade även att antibiotikabehandling till tidigare obehandlade möss släckte ut etablerad eksematös dermatit och inflammation samt upphävde dysbiosen. När behandlingen upphört uppkom hudinflammationen igen och nivåerna av *S. aureus* och *C. bovis* ökade snabbt. Det indikerar att behandlingar som riktas mot att återställa dysbios kan ha terapeutisk effekt och att dysbios var en central del av utvecklingen av den eksematösa dermatiten hos mössen.

Kopplingar till patogenesen

Hudbarriären

Mycket tyder på att hudbarriärens funktion spelar en stor roll i utvecklingen av atopisk dermatit och att dess samspel med mikrobiomet är avgörande för de kliniska symptomen. En studie på möss som användes som modell för människor indikerar att bakterien *S. aureus* i sig inte är tillräcklig för att orsaka atopisk dermatit då den inte klarar att permanent kolonisera mössens normala friska hud (Kobayashi *et al.*, 2015). Det tyder på att det finns specifika förändringar i huden som tillåter bakterierna att få fäste.

En studie som undersökte strukturen av epidermis på hundar med atopisk dermatit fann att de hade en minskad tjocklek och längd på lipiddepositionerna i stratum corneum (Inman *et al.*, 2001). En annan studie med en experimentell modell av hundars atopiska dermatit demonstrerade att avlägsnande av stratum corneum ökade risken för allergisk sensitisering (Olivry *et al.*, 2011). Då sådana reaktioner har kunnat visas i en experimentell modell indikerar det att liknande reaktioner skulle kunna förekomma i den naturligt förekommande sjukdomen. Det innebär att hudbarriären på hundarna precis som hos möss och människor verkar ha en viktig roll i patogenesen för atopisk dermatit.

En studie på möss undersökte om *S. aureus* (som var den dominerande bakterien på mössen med dermatit i denna studie) kunde inducera immunsvaret genom en rubbad stratum corneum barriär (Kobayashi *et al.*, 2015). De använde sig av möss med en definerad barriärdefekt i

filaggrinerna, vilka är strukturella proteiner i stratum corneum associerade med human atopisk dermatit. Vid topikal inokulering med *S. aureus* på defekt hud inducerades en robust hudinfiltration av bland annat Th17-celler som inte förekom i kontrollgruppen. Det visade att en rubbad hudbarriär var det som krävdes för att mössen skulle få en ökad immunrespons mot *S. aureus*. Till skillnad från människor och mössen i studien som har en minskning av filaggrinerna vid atopisk dermatit har hundar visats kunna ha högre nivåer vid sjukdomen (Santoro *et al.*, 2013). Vilka exakta slutsatser man kan dra mellan de två är därför fortfarande oklart och mer forskning krävs på hundar innan man kan bevisa om immunsvaren startar som reaktion mot bakterierna.

Staphylococcus spp.

Som tidigare beskrivits så har patienter med atopisk dermatit en ökad andel stafylokocker på huden. Hos människor ser man främst en ökning av *S. aureus* medan hundar har en motsvarig ökning av *S. pseudintermedius*. Därför är *S. aureus* och dess effekter på huden mer studerade. Bevis för att kopplingen finns mellan stafylokockinfektion och atopisk dermatit kan generellt delas in i fyra grupper: att stafylokockerna har en ökad adherens till atopisk hud, typ 1-överkänslighetsreaktioner mot stafylokockkomponenter, att stafylokockerna producerar exotoxiner som kan påverka den inflammatoriska responsen, och till sist möjliga inre immunologiska defekter hos patienter som skulle kunna gynna infektioner (DeBoer & Marsella, 2001). Inte mycket av detta finns däremot bevisat specifikt på hundar där patogenesen fortfarande är ett relativt outforskat område. Studier gjorda på andra djurslag kan därför ge insikt i hur det skulle kunna fungera.

Till exempel verkar mastcellerna spela en viktig roll i atopisk dermatit och en studie på möss visar att *S. aureus* kan frisätta faktorer som orsakar degranulation av mastcellerna, vilket ger upphov till allergiska symptom (Nakamura *et al.*, 2013). Det antyder alltså att med predisponerande genetiska faktorer kan kolonisation av *S. aureus* främja utvecklingen av allergiska hudsjukdomar. Ytterligare en studie visade att *S. aureus* också kan inducera förvärrad eksematös dermatit på möss *in vivo* (Kobayashi *et al.*, 2015). För att avgöra bakteriens roll använde de sig av möss med en rubbad hudbarriär som behandlats med antibiotika för att visa minimala tecken på eksem. Vid tillförsel av *S. aureus* förvärrades då symptomen. Forskarna kunde även visa att langerhans celler i epidermis troligtvis spelar en avgörande roll. I studien jämfördes reaktionerna mot *S. aureus* hos möss med langerhans celler och hos möss som saknade dem. Resultaten visade att langerhans celler kan plocka upp antigener i stratum corneum och stimulera Th17-celler. Det spelar en roll i att mediera IL-17 svar mot *S. aureus* vilket är en respons som även har setts vid human atopisk dermatit. (Kobayashi *et al.*, 2015)

Att bakteriekolonisation har en relevans för patogenesen även på hund stöds av att antibiotikabehandling även där visade sig i många fall kunna förbättra de kliniska symptomen av atopisk dermatit (DeBoer & Marsella, 2001). Stafylokockinfektioner kunde till och med inducera kutan inflammation och pruritus i icke-atopiska hundar. Mekanismerna bakom hur den induceringen går till är fortfarande oklara men en hypotes är att stafylokockernas exotoxiner kan stimulera T-cellerna, vilket har visats hos människor (DeBoer & Marsella, 2001). Isolat av *S. (pseud)intermedius* från hundar har demonstrerats kunna producera exotoxiner men det saknas bevis för att produktionen av exotoxiner har en koppling till de

kliniska symptomen eller infektionens svårighetsgrad vid atopisk dermatit hos hund (Hirooka *et al.*, 1988).

En studie kunde också visa att *S. (pseud)intermedius* precis som *S. aureus* på människor adhererar starkare till huden på hundar med atopisk dermatit (Schmidt *et al.*, 2009). I studien fäste bakterierna mot immobiliserat fibronektin, fibrinogen och cytokeratin vilka är molekyler som kan uttryckas på huden vid inflammation eller atopisk dermatit.

Corynebacterium spp.

Inte mycket är känt om vilka effekter ökningen av *Corynebacterium* kan ha på huden jämfört med forskningen som finns om *Staphylococcus*. En studie på möss undersökte sambandet mellan bakteriens kolonisering och utvecklade hudsymptom (Kobayashi *et al.*, 2015). Forskarna använde sig av möss med en specifik brist i huden som kan ses vid human atopisk dermatit för att fungera som en modell för humanforskning. Effekterna av *C. bovis* och *C. mastiditis*, vilket var de två typerna som ökade naturligt på de atopiska mössens hud, studerades separat. Det blev inga signifikanta skillnader i kliniska bedömningar när *C. mastiditis* tillfördes på huden, medan *C. bovis* inducerade förvärrad eksematös dermatit. *C. bovis* gav även en ökad Th1 och Th2 respons vilket skulle kunna förklara de ökade nivåerna av IgE hos dessa möss. Mössen med tillförda *C. bovis* visade också ökade nivåer av Th17 men de nådde inte statistiskt signifikanta nivåer. Återigen saknas tillräcklig forskning på hundar för att kunna bevisa att liknande samband finns där.

DISKUSSION

Det är tydligt i alla studier på hundar som har diskuterats att vid atopisk dermatit sker förändringar i mikrobiomets komposition. Mikrobiomstudier som med gensekvensering kan identifiera bakterier är relativt nytt inom forskningsområdet. Därför är många av studierna till denna text ganska utforskande och med resultat som skiljer sig åt. Mikrobiomets komposition beror på så många olika faktorer, många av dem fortfarande okända, att det är väldigt svårt att få ett fullständigt representativt resultat med de gruppstorlekar som testats i dessa presenterade studier. De kan ofta bara ge en svag indikation på hur verkligheten skulle kunna se ut utan att kunna fastställa mycket med säkerhet. Då de studerade grupperna av hundar är små och med mycket skilda förutsättningar är det märkvärdigt att de med atopisk dermatit oftast ändå uppvisar liknande förändringar på huden.

Orsak eller konsekvens

Skillnaderna som ses mellan friska och atopiska hundars mikrobiom (minskad diversitet och ökad stafylokockkolonisation) visade sig båda vara kopplade till symptomens svårighetsgrad. Om skillnaderna uppkommer som en konsekvens av sjukdomen eller om bakterierna har en roll i att orsaka den är svårt att säga med säkerhet just nu. Det finns stöd åtminstone på humansidan för att stafylokockerna påverkar huden på flera sätt och troligtvis förekommer liknande förlopp på hund. Då mycket av det som den humana forskningen baserats på inte är bevisat ännu på hundar är det oklart vilka kopplingar man kan göra mellan de två. Vad vi vet än så länge så är de två typerna av sjukdomen mycket liknande varandra men eftersom hundforskningen inte har kommit lika långt så går det inte att säga med säkerhet.

Mycket tyder mot att det inte heller finns ett enkelt svar på frågan och att den bakteriella floran på huden är en integral del av sjukdomsbilden. Bakterierna verkar både påverkas av den existerande miljön på huden och interagera med den. Att *S. pseudintermedius* visades adherera bättre till atopisk hud (Schmidt *et al.*, 2009) och att *S. aureus* inte koloniserade friska möss hud (Kobayashi *et al.*, 2015) antyder till exempel att den ökade kolonisationen på atopisk hud i första hand är associerad med värdfaktorer snarare än specifika virulensfaktorer. Att immunförsvaret reagerar mot dessa bakterier är troligtvis en tidig händelse i sjukdomsförloppet som sedan leder till dysbiosen och hudinflammation. Till exempel att langerhans celler på möss visades kunna plocka upp antigener i stratum corneum och inducera immunsvaret (Kobayashi *et al.*, 2015). Även att mastceller skulle kunna degranulera och ge upphov till allergiska symptom efter kontakt med faktorer frisatta av stafylokocker (Nakamura *et al.*, 2013). Även om sådana specifika immunreaktioner inte finns bevisade på hund tyder de existerande hundstudierna på att något liknande borde ske eftersom hundarna precis som mössen visade en förbättring av symptombilden med endast antimikrobiell behandling.

Vidare forskning

Det finns stor potential för vidare forskning om hudens mikrobiom på hund då det fortfarande är många frågor utan svar. På atopiska hundar sågs trenden att bakteriediversiteten minskade och vad det innebär för sjukdomsbilden är fortfarande oklart. Minskningen skulle kunna bero på att den förändrade miljön på huden inte är optimal för lika många bakterier när det kommer till hydration och pH-värde eller på grund av konkurrensen med de dominerande stafylokockarterna. Vad den minskade artrikedomen får för konsekvenser är fortfarande ett outforskat område. Till exempel vilken roll bakteriediversiteten på huden spelar i att utveckla och uppehålla normala immunfunktioner eller vilka effekter många av de mindre förekommande bakterierna skulle kunna ha. Samspelet mellan de olika mikroorganismerna på huden, vilka troligtvis är mycket komplexa, är också mycket outforskade.

Vidare forskning skulle kunna öppna dörrar för nya behandlingsmetoder av atopisk dermatit både för hundar och människor. Att behandla med inriktade antibiotika har stöd ur ett antal studier för att kunna fungera bra både mot symptomen men också som förebyggande mot sjukdomen. Däremot är det antagligen inte en behandlingsmetod som kommer att kunna implementeras i klinisk verksamhet. Det är en alltför stor problematik kring utvecklingen av antibiotikaresistens, i detta fall framför allt meticillinresistenta *S. aureus* och *S. pseudintermedius* (MRSA och MRSP). Eftersom det åtminstone finns stöd för att behandlingar inriktade mot att upphäva dysbiosen kan ha terapeutiska effekter borde det öppna för ny forskning. Till exempel möjligheter att transplantera mikrober från frisk hud för att motverka dysbiosen eller hitta mindre patogena bakterier att tillföra på huden och mildra sjukdomen genom att konkurrera ut stafylokockerna.

Sammanfattning

Sammanfattningsvis så visar denna litteraturstudie tydliga förändringar på huden hos hundar vid atopisk dermatit. Framför allt så ökar andelen av bakterien *Staphylococcus pseudintermedius* men även *Corynebacterium* spp. medan den generella bakteriediversiteten minskar. Mycket forskning som gjorts på patogenesen bakom atopisk dermatit syftar till människor, men hundstudierna som finns stöder att det finns många likheter mellan arterna.

Förloppet av sjukdomen verkar vara att genetiska predisponerande faktorer tillåter bakterierna att få fäste och de deltar i sin tur i att förvärra inflammationen. Det skadar även hudbarriären ytterligare så att den blir mer känslig för allergener. Ökad kunskap om mikrobiomets roll öppnar för forskning om nya terapeutiska strategier mot atopisk dermatit som riktar sig mot att återställa dysbiosen.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Bradley, C. W., Morris, D. O., Rankin, S. C., Cain, C. L., Mistic, A. M., Houser, T., Mauldin, E. A. & Grice, E. A. (2016). Longitudinal evaluation of the skin microbiome and association with microenvironment and treatment in canine atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology*, 136(6), ss. 1182–1190.
- Chermprapai, S., Ederveen, T. H. A., Broere, F., Broens, E. M., Schlotter, Y. M., van Schalkwijk, S., Boekhorst, J., van Hijum, S. A. F. T. & Rutten, V. P. M. G. (2019). The bacterial and fungal microbiome of the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis and the impact of topical antimicrobial therapy, an exploratory study. *Veterinary Microbiology*, 229, ss. 90–99.
- DeBoer, D. J. & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3), ss. 239–249
- FASS Djurläkemedel (2013). *Malaseb® vet*. Available from: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&npId=20080209000012> [Accessed 2019-03-18].
- Hillier, A. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3), ss. 147–151
- Hirooka, E. Y., Müller, E. E., Freitas, J. C., Vicente, E., Yoshimoto, Y. & Bergdoll, M. S. (1988). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* of canine origin. *International Journal of Food Microbiology*, 7(3), ss. 185–191.
- Hnilica, K. (2011). CHAPTER | 7 - Hypersensitivity Disorders. I: *Small Animal Dermatology (Third Edition)*. Saint Louis: W.B. Saunders. ISBN 978-1-4160-5663-8. ss. 175–226
- Hoffmann, A. R., Patterson, A. P., Diesel, A., Lawhon, S. D., Ly, H. J., Stephenson, C. E., Mansell, J., Steiner, J. M., Dowd, S. E., Olivry, T. & Suchodolski, J. S. (2014). The Skin Microbiome in Healthy and Allergic Dogs. *PLOS ONE*, 9(1), p e83197.
- Inman, A. O., Olivry, T., Dunston, S. M., Monteiro-Riviere, N. A. & Gatto, H. (2001). Electron Microscopic Observations of Stratum Corneum Intercellular Lipids in Normal and Atopic Dogs. *Veterinary Pathology*, 38(6), ss. 720–723.
- Kobayashi, T., Glatz, M., Horiuchi, K., Kawasaki, H., Akiyama, H., Kaplan, D. H., Kong, H. H., Amagai, M. & Nagao, K. (2015). Dysbiosis and *Staphylococcus aureus* colonization drives inflammation in atopic dermatitis. *Immunity*, 42(4), ss. 756–766.
- Lehtimäki, J., Sinkko, H., Hielm-Björkman, A., Salmela, E., Tiira, K., Laatikainen, T., Mäkeläinen, S., Kaukonen, M., Uusitalo, L., Hanski, I., Lohi, H. & Ruokolainen, L. (2018). Skin microbiota and allergic symptoms associate with exposure to environmental microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(19), ss. 4897–4902.
- Leyden, J., Marples, R. & Kligman, A. (1974). *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology - Wiley Online Library*, 90(5), ss. 525–525. DOI: 10.1111/j.1365-2133.1974.tb06447.x
- Marsella, R., Olivry, T. & Carlotti, D. (2011). Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(3), ss. 239–248.
- Marsella, R. & De Benedetto, A. (2017). Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Veterinary Sciences*, 4(3). DOI: 10.3390/vetsci4030037
- Nakamura, Y., Oscherwitz, J., Cease, K. B., Chan, S. M., Muñoz-Planillo, R., Hasegawa, M., Villaruz, A. E., Cheung, G. Y. C., McGavin, M. J., Travers, J. B., Otto, M., Inohara, N. & Núñez, G. (2013). *Staphylococcus* δ -toxin promotes mouse allergic skin disease by inducing mast cell degranulation. *Nature*, 503(7476), ss. 397–401.
- Nakatsuji, T., Chiang, H.-I., Jiang, S. B., Nagarajan, H., Zengler, K. & Gallo, R. L. (2013). The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nature communications*, 4, s. 1431.
- Olivry, T., Wofford, J., Paps, J. S. & Dunston, S. M. (2010). Stratum corneum removal facilitates experimental sensitization to mite allergens in atopic dogs. *Veterinary Dermatology*, 22(2), pp 188–196.
- Pierezan, F., Olivry, T., Paps, J. S., Lawhon, S. D., Wu, J., Steiner, J. M., Suchodolski, J. S. & Hoffmann, A. R. (2016). The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 27(5), ss. 332–e82.

- Santoro, D., Marsella, R., Ahrens, K., Graves, T. K. & Bunick, D. (2013). Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(3), ss. 329-e73.
- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. & Hiramatsu, K. (2007). Reclassification of Phenotypically Identified *Staphylococcus intermedius* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), ss. 2770–2778.
- Schmidt, V., Nuttall, T., Fazakerley, J. & McEwan, N. (2009). *Staphylococcus intermedius* binding to immobilized fibrinogen, fibronectin and cytokeratin in vitro. *Veterinary Dermatology*, 20(5–6), ss. 502–508.
- Torres, S., Clayton, J. B., Danzeisen, J. L., Ward, T., Huang, H., Knights, D. & Johnson, T. J. (2017). Diverse bacterial communities exist on canine skin and are impacted by cohabitation and time. *PeerJ*, DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.3075>
- Williams, M. R. & Gallo, R. L. (2015). The Role of the Skin Microbiome in Atopic Dermatitis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 15(11), s 65.