

## **Prevention av allergi hos hund**

studie för att utvärdera  
allergiförebyggande effekt av  
bakterieproteinet SEC2

*30 - 08 - 2016*

premune



**Hypotes/Mål** – Att utvärdera säkerhet och effekt av behandling med SEC2 under nyföddhetsperioden för att förhindra allergiutveckling hos hundar i en randomiserad, dubbelblind, placebo-kontrollerad studie.

**Metod** – 142 stycken valpar inkluderades i studien och delades slumpmässigt upp i tre olika behandlingsgrupper. Behandling med SEC2 (hög eller låg dos) alternativt placebo gavs via munnen. Klinisk utvärdering och blodprovstagning utfördes vid sex tillfällen (2, 3, 4, 6, 12 och 18 månaders ålder).

**Resultat** – Behandling med SEC2 under nyföddhetsperioden påvisade en god säkerhet med få biverkningar. Behandlingen hade dessvärre ingen effekt på allergiutveckling. Allergi var lika vanligt förekommande bland hundar som behandlats med SEC2 som hos hundar som fått placebo.

## Bakgrund

---

Allergier är i dag ett stort folkhälsoproblem i västvärlden. Risken att drabbas av allergi har ökat från ungefär 1 till 40 procent under de senaste hundra åren i Sverige. Bara under de senaste decennierna har risken ökat 3-4 gånger. Varför allergierna har ökat så kraftigt vet man inte säkert i dag. Många studier har dock gett stöd för den s.k. hygienhypotesen. Enligt den lever vi i en alltför hygienisk miljö. Man tror att allergierna ökar för att immunsystemet får för lite stimulans av bakterier och virus. Då mognar det på fel sätt och ger sig sedan felaktigt på ofarliga ämnen som är vanliga i vår omgivning, så som pollen eller vissa födoämnen. Den ökade förekomsten av allergi gäller inte bara människor, utan också våra sällskapsdjur. Atopiskt eksem och andra allergibesvär är en av de vanligaste orsakerna till veterinärbesök för hund.

Det tycks inte vara alla bakterie- och virusinfektioner som kan minska risken för allergi. Mikrober som lever i tarmen tros vara av betydelse och dessa kommer man oftare i kontakt med vid sämre hygien. Forskare har studerat sambandet mellan vilka bakterier man har i tarmen och hur immunsystemet utvecklas hos barn. En hypotes är att avsaknaden av en tidig och varierad tarmflora hos barn i dag kan vara det som ligger bakom det faktum att allt fler utvecklar allergier.

Målet är att hitta sätt att stimulera immunsystemet. Forskare har följt svenska barn från födseln och man fann att barn som hade en särskild bakterie, *Staphylococcus aureus*, (*S. aureus*) i tarmen tidigt i livet hade en lägre risk att senare utveckla födoämnesallergi. Många *S. aureus* producerar ett eller flera proteiner med mycket stark förmåga att aktivera immunsystemet. SEC2 är ett sådant protein. I djurförsök har forskare sett att exponering för sådana bakterieprotein kan förbättra immunsystemets funktion på så vis att förmågan att tolerera födoämnen ökar. Då uppstår inte allergier lika lätt.

Vårt syfte med studien var att utveckla en förebyggande behandling mot atopiskt eksem och andra allergiska manifestationer hos hund.

# Studiedesign

---

## **Inklusionskriterier**

Tre hundraser var med i studien; Staffordshire bullterrier, Fransk bulldogg och West Highland White terrier. Dessa raser anses ha en hög risk för att utveckla allergi. Uppfödare av dessa raser, som gett sitt samtycke, rekryterades till studien. Valpar renrasiga för en av de tre raserna och vid allmän god hälsa inkluderades. Valpkullarna skulle bestå av minst två valpar, som var friska före och vid inklusion. Valparna stannade hos uppfödaren under avvänjningsperioden, normalt 8 veckor. Valparna överfördes sedan till nya ägare, där hunden hölls som en privatägd sällskapshund. De nya ägarna som ville fortsätta i studien gav sitt samtycke.

## **Exklusionskriterier**

Uteslutande ur studien baserades på utvärdering av valparna; vid födsel, före och under inklusion. Kriterier för exklusion var valpar med försämrat allmäntillstånd, med gomspalt eller medfödda missbildningar.

## **Randomisering**

Valparna randomiserades inom varje kull dvs. delades slumpmässigt upp i de olika behandlingsgrupperna. Kullstorleken varierade från 2 till 8 valpar. Kullar med tre eller fler valpar randomiserades till en av tre behandlingsgrupper (placebo, låg dos SEC2 eller hög dos SEC2). Kullar med två valpar randomiserades till en av två behandlingsgrupper (placebo eller hög dos SEC2). Studien var dubbelblindad dvs. varken försöksledaren eller deltagarna visste vilka valpar som fick placebo eller vilka som behandlades med SEC2.

## **Studieschema**

Studien utfördes mellan maj 2013 och oktober 2015. Vid inklusion (7-18 dagars ålder), behandlades varje valp med stafylokockenterotoxin C subtyp 2 (SEC2; 5 eller 25 mikrogram) eller koksaltlösning (placebo) via munnen. Behandlingen upprepades varannan dag med tre doseringar totalt. Klinisk utvärdering utfördes av veterinär och blodprov togs vid 8, 12 och 16 veckor såväl som vid 6, 12 och 18 månader, vid en av de två studieklinikerna; Djurakuten i Storstockholm AB i Stockholm eller AniCura Västra Djursjukhuset i Göteborg.

## **Blodanalyser**

Blodprov togs vid varje veterinärbesök och antalet vita blodkroppar räknades. Serum analyserades för vaccinationsrespons ( $\alpha$ -CAV titer) samt nivåer av immunoglobulin (IgM, IgG, IgA och IgE).

## **Etiskt tillstånd**

Studien utfördes i enlighet med rekommendationer från Jordbruksverket och har godkänts av den regionala kommittén för djurförsök (tillståndnummer: 368/12 och 59/2012).

# Resultat

## Demografi

Totalt 142 valpar fördelade på 29 kullar inkluderades i studien. Av dessa 142 hundar, fullföljde 130 hundar studien och följdes under 18 månader. Staffordshire bullterrier var den vanligaste rasen, bestående av 72% av studiepopulationen (Tabell 1). Orsaken till varför vissa hundar inte fullföljde studien anges i tabell 2.

**Tabell 1.** Demografiska data för hundar som deltog i studien (130 st)

|                             | Antal (%)  | Placebo | Låg dos SEC2 | Hög dos SEC2 |
|-----------------------------|------------|---------|--------------|--------------|
| <b>Rasfördelning</b>        |            |         |              |              |
| Staffordshire bullterrier   | 94 (72%)   | 34      | 27           | 33           |
| Fransk bulldogg             | 32 (25%)   | 11      | 10           | 11           |
| West Highland White Terrier | 4 (3%)     | 2       | 1            | 1            |
| <b>Könsfördelning</b>       |            |         |              |              |
| Tik                         | 50 (38.5%) | 20      | 14           | 16           |
| Hane                        | 80 (61.5%) | 27      | 24           | 29           |

**Tabell 2.** Orsak till bortfall (12 st)

|  | n |
|--|---|
| Avliden <sup>a</sup>                         | 5 |
| Flyttade utomlands eller långt från kliniken | 5 |
| Kom aldrig på 18 mån kontroll                | 1 |
| Okänd orsak till avhopp                      | 1 |

<sup>a</sup> Tre valpar avlivades vid 2 mån ålder; två p.g.a. medfödd missbildning och en p.g.a. ögonsjukdom. Två avlivades vid 18 mån ålder; en p.g.a. osteokondros och en p.g.a höftdysplasi.

## Allergidiagnoser

Av de 130 hundar som fullföljde studien diagnostiserades 36 hundar (28%) med en eller fler av följande allergidiagnoser; atopiskt eksem, födoämnesallergi med hudpåverkan (KFR), födoämnesallergi med mag-/tarpåverkan (GIFR) eller atopiskt eksem utan närmare specifikation (AD UNS). Diagnosen AD UNS applicerades på hundar som inte genomgått födoämneselimination/provokation. Detta var antingen på grund av att ägaren var ovillig att påbörja utredning eller på grund av att utredningen inte var färdig då studien avslutades. Se tabell 3 för fördelning av de specifika diagnoserna i studiepopulationen.

**Tabell 3.** Allergidiagnos hos hundarna som deltog i studien (130 st)

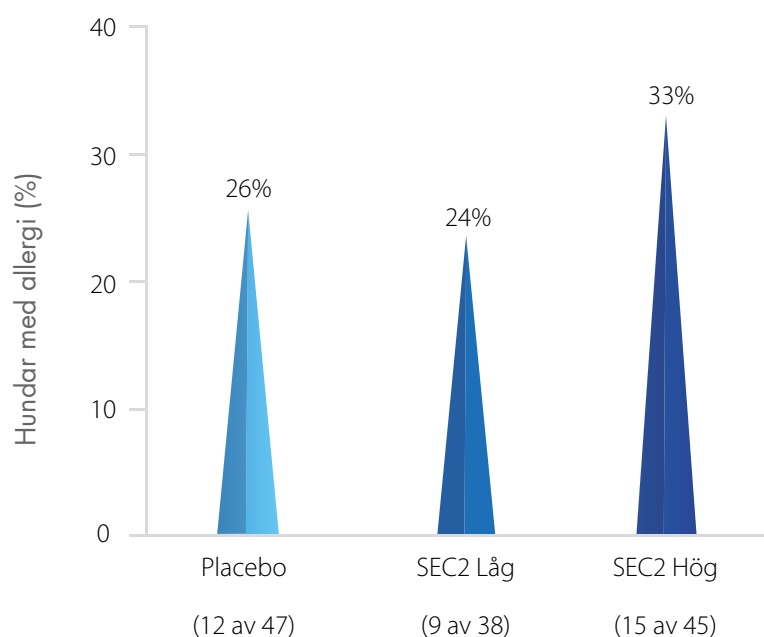
| Diagnos                           | Antal (%)  | Placebo | Låg dos SEC2 | Hög dos SEC2 |
|-----------------------------------|------------|---------|--------------|--------------|
| Icke-allergiska hundar            | 94 (72.3%) | 35      | 29           | 30           |
| Allergiska hundar                 |            |         |              |              |
| Atopiskt eksem + KFR <sup>1</sup> | 11 (8.5%)  | 4       | 0            | 7            |
| Atopiskt eksem                    | 10 (7.7%)  | 2       | 4            | 4            |
| KFR                               | 7 (5.4%)   | 4       | 2            | 1            |
| AD UNS <sup>2</sup>               | 4 (3.1%)   | 1       | 2            | 1            |
| GIFR <sup>3</sup>                 | 3 (2.3%)   | 1       | 0            | 2            |
| KFR + GIFR                        | 1 (0.8%)   | 0       | 1            | 0            |

1 KFR: kutan födoämnesreaktion

2 Diagnosen AD UNS (atopisk dermatit utan närmare specifikation) beror antingen på att ägaren var ovillig att påbörja eliminations-/provokationsdiät eller att utredningen inte var avslutad.

3 GIFR: gastrointestinal födoämnesreaktion

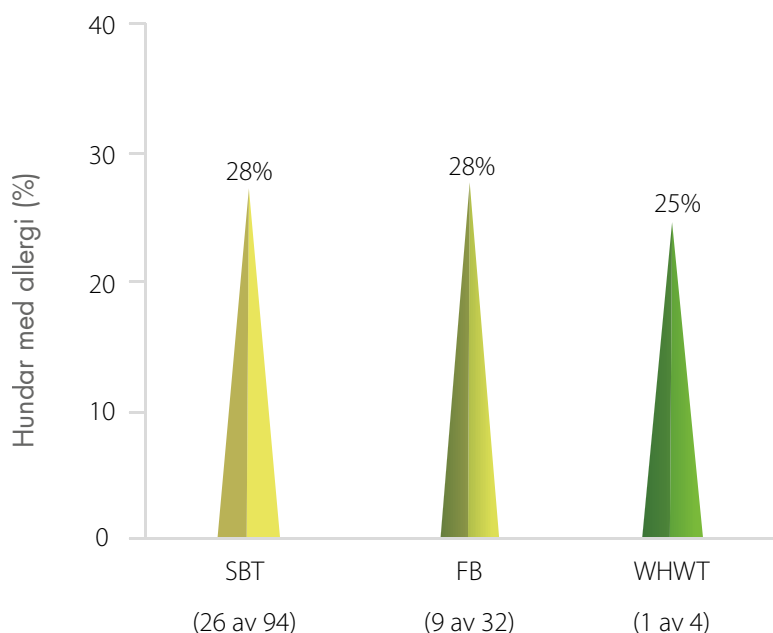
Förekomsten av allergi skiljde sig inte mellan hundar som behandlats med SEC2 (hög dos 33% och låg dos 24%) och hundar som fått placebo (26%)(Figur 1). Behandlingen påverkade heller inte tidpunkten för allergidebut (tidpunkt för första kliniska symptom). Medelvärdet för allergidebut i de tre behandlingsgrupperna var 8 månader för placebo, 9 månader för låg dos SEC2 och 9 månader för hög dos SEC2.



**Figur 1.** Andel allergiska hundar i de tre olika behandlingsgrupperna; placebo (vit stapel), låg dos SEC2 (ljusblå stapel) och hög dos SEC2 (mörkblå stapel).

## Förekomst av allergi med avseende på ras

Allergi var lika vanligt förekommande i alla tre raser (Staffordshire bullterrier 28%, fransk bulldogg 28% respektive West Highland White terrier 25%)(Figur 2)..



**Figur 1.** Andel hundar med allergi bland Staffordshire bullterrier (SBT; ljusgrå stapel), fransk bulldogg (FB; mellangrå stapel) och West Highland White terrier (WHWT; mörkgrå stapel).

## Effekt av SEC2 på allergiutveckling med avseende på ras

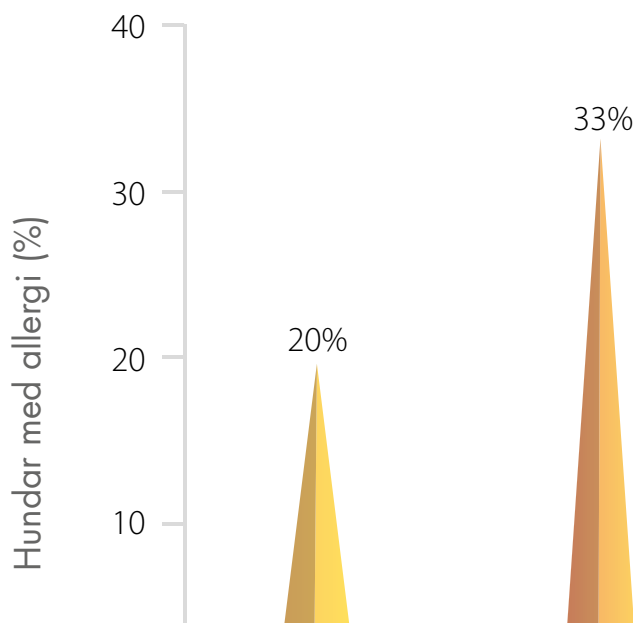
Bland Staffordshire bullterriers var allergi lika vanligt förekommande i de tre olika behandlingsgrupperna (placebo 23%, låg dos SEC2 30% och hög dos SEC2 30%; Tabell 4). Bland franska bulldoggar så observerades den högsta andelen allergiker i gruppen som behandlats med hög dos SEC2 (placebo 27%, låg dos SEC2 10% och hög dos SEC2 46%; Tabell 4), dock nådde observationen inte statistisk signifikans. På grund av ett lågt antal West Highland White terrier i studien hade enbart en hund av denna ras en allergidiagnos, och den hunden tillhörde placebogruppen (Tabell 4).

**Tabell 4.** Förekomst av allergi i de olika behandlingsgrupperna med avseende på ras respektive kön.

|                             | Placebo       | Låg dos SEC2  | Hög dos SEC2   |
|-----------------------------|---------------|---------------|----------------|
| Staffordshire bullterrier   | 8 av 34 (23%) | 8 av 27 (30%) | 10 av 33 (30%) |
| Fransk bulldogg             | 3 av 11 (27%) | 1 av 10 (10%) | 5 av 11 (46%)  |
| West Highland White Terrier | 1 av 2 (50%)  | 0 av 1 (0%)   | 0 av 1 (0%)    |
| Tikar                       | 5 av 20 (25%) | 2 av 14 (14%) | 3 av 16 (19%)  |
| Hanar                       | 7 av 27 (26%) | 7 av 24 (29%) | 12 av 29 (41%) |

## Förekomst av allergi med avseende på kön

Allergi var något mindre vanligt förekommande bland tikar jämfört med hanar, men det gick inte att signifikant säkerställa skillnad mellan grupperna (20% respektive 33%) (Figur 3).



Figur 3. Andel hundar med allergi bland tikar (ljusgrå stapel) och hanar (mörkgrå stapel)

## Effekt av SEC2 på allergiutveckling med avseende på kön

Allergi var lika vanligt förekommande bland tikar i de olika behandlingsgrupperna (placebo 25%, låg dos SEC2 14% och hög dos 19%; Tabell 4). Bland hanar var det en icke-signifikant trend till mer allergi i gruppen som behandlats med hög dos SEC2 (placebo 26%, låg dos SEC2 29% och hög dos SEC2 41%; Tabell 4).

## Säkerhetsbedömning och biverkningar

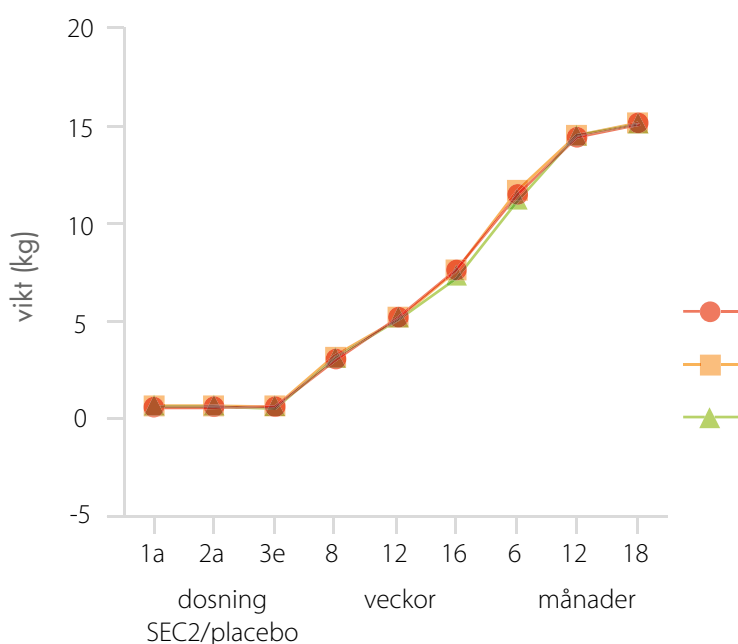
Alla 142 hundar som inkluderades i studien (dvs. 50 stycken placebo och 92 stycken SEC2-behandlade hundar) ingick i säkerhetsbedömningen. Valparna monitorerades efter SEC2-administration och behandlingen tolererades väl. Förekomsten av biverkningar (diarré, gnäll) var likartad i alla behandlingsgrupper, inklusive placebo (Tabell 5).

Tabell 5. Biverkningar under behandlingsfasen

|                    | Placebo  | Låg dos SEC2 | Hög dos SEC2 |
|--------------------|----------|--------------|--------------|
| Diarré [antal (%)] |          |              |              |
| Efter första dosen | -        | -            | -            |
| Efter andra dosen  | 7 (4.9%) | 6 (4.2%)     | 7 (4.9%)     |
| Efter tredje dosen | 2 (1.4%) | 2 (1.4%)     | 4 (2.8%)     |
| Gnäll [antal (%)]  |          |              |              |
| Efter första dosen | 4 (2.8%) | 4 (2.8%)     | 4 (2.8%)     |
| Efter andra dosen  | 2 (1.4%) | 3 (2.1%)     | 3 (2.1%)     |
| Efter tredje dosen | 2 (1.4%) | 3 (2.1%)     | 2 (1.4%)     |

I de flesta fall observerades biverkningarna i hela kullen, oavsett behandling. I dessa fall vidtogs inga åtgärder och symptomen försvann spontant. En valp som behandlats två gånger med hög dos SEC2 uppsökte veterinär akut efter andra doseringen, då ägaren upplevde valpens andning som "bubblig". Uppsökt veterinär angav misstanke om aspirationspneumoni. Studieveterinären gjorde hembesök dagen efter och noterade inga respiratoriska missljud över lungorna och misstanken om aspirationspneumoni avskrevs. Valpen var då pigg, hade normal andningsfrekvens, ingen feber och inga ytterligare åtgärder vidtogs.

Behandling med SEC2 påverkade inte tillväxten av valparna, det förekom ingen skillnad i kroppsvikt under studien mellan placebo och SEC2-behandlande hundar (Figur 6).



**Figur 6.** Kroppsvikt under studieperioden i de olika behandlingsgrupperna; placebo (vit cirkel), låg dos SEC2 (ljusblå kvadrat), hög dos SEC2 (mörkblå triangel).

## Blodprovsanalyser

### *Immunsvaret i de olika behandlingsgrupperna*

Blodproven analyserades för diverse immunparametrar och inga skillnader sågs mellan placebo och SEC2-behandlade hundar när det gäller hur bra hunden svarar på vaccinering ( $\alpha$ -CAV titer; vid 16 veckor), nivåer av immunoglobuliner (IgM, IgG, IgA, IgE) samt antal eller andel vita blodkroppar (vid 8, 12, 16 veckor samt 6, 12, 18 månader).

### *Immunsvaret hos allergiska och icke-allergiska hundar*

När blodproven jämfördes mellan allergiska och icke-allergiska hundar, fanns heller inga skillnader med avseende på vaccinationsrespons ( $\alpha$ -CAV titer; vid 16 veckor), nivåer av immunoglobuliner (IgM, IgG, IgA, IgE) samt antal eller andel vita blodkroppar (vid 8, 12, 16 veckor samt 6, 12, 18 månader).



# Slutord

---

Hypotesen bakom denna studie var att SEC2 främjar aktivering av immunsystemet hos nyfödda valpar och att en sådan stimulans skulle förbättra utvecklingen av immunsystemet och därmed minska risken för att utveckla allergiska sjukdomar.

Behandling med SEC2 under nyföddhetsperioden påvisade ingen effekt på allergiutveckling eller på uppkomsten av sjukdomen i denna studie. SEC2-behandlingen visade inga tydliga tecken på immunaktivering när det gäller de immunparametrar som analyserats i blodproven. Detta kan tyda på att dosering och behandlingsstrategi var suboptimal, administreringen av SEC2 kan ha varit otillräcklig och därmed misslyckats med att främja en adekvat immunstimulering.

En tes är att behandlingen gavs för sent, behandling före en veckas ålder kan ha behövts. Antalet doser som gavs kan också ha varit för få.

Studien har gett upphov till ett unikt material när det gäller förståelsen kring allergiutveckling hos hund. Resultaten avses att publiceras i vetenskaplig tidskrift.