

Aus dem Institut  
Bakteriologie und Mykologie  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Nachweis von Dermatophyten bei Hunden und Katzen in  
Tierheimen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Constanze Köbing  
aus Schönebeck / Elbe

Leipzig, 2019

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. med. vet. Walther Brehm

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Wieland Schrödl

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Wieland Schrödl,

Institut für Bakteriologie und Mykologie,

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Prof. Dr. med. vet. Ilse Denise Jacobsen,

Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie

Hans-Knöll-Institut, Jena

Tag der Verteidigung: 11.12.2018

Meiner Familie

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Literaturübersicht .....	1
2.1	Dermatophyten .....	1
2.1.1	Taxonomische Einteilung und Charakteristika ausgewählter pathogener Dermatophyten .....	4
2.1.1.1	<i>Microsporum</i> sp.....	4
2.1.1.2	<i>Trichophyton</i> sp.....	5
2.1.2	Ökologische Einteilung und Lebensraum der Dermatophyten .....	8
2.1.3	Ausgewählte Pathogenitätsfaktoren und Mechanismen der Invasion.....	10
2.2	Dermatophytose bei Hunden und Katzen.....	14
2.2.1	Erregerspektrum bei Hunden, Katzen und Prävalenzen der Erreger.....	14
2.2.2	Übertragungswege.....	19
2.2.3	Symptomlose Sporenträger .....	20
2.2.4	Einflussfaktoren auf die Ausbildung einer Dermatophytose .....	21
2.2.5	Erkrankungsformen .....	22
2.2.6	Zoonoserisiko .....	23
2.3	Die Immunantwort des Wirtes .....	24
2.3.1	Die unspezifische angeborene Immunantwort .....	24
2.3.2	Die erworbene spezifische Immunantwort.....	27
2.4	C-reaktives Protein und Haptoglobin als Akute-Phase Proteine.....	30
2.4.1	C-reaktives Protein .....	30
2.4.2	Haptoglobin .....	31
2.5	Bekämpfungsmaßnahmen .....	33
2.5.1	Therapeutika bei nicht Lebensmittel liefernden Tieren, insbesondere Katzen und Hunden .....	33
2.5.2	Umgebungsdekontamination.....	36
3	Materialien und Methoden .....	37
3.1	Tierheime und Tiere .....	37
3.1.1	Tierheim A .....	37
3.1.2	Tierheim B.....	38

3.2	Probenentnahme .....	40
3.2.1	Tiere .....	40
3.2.2	Probenentnahme von der Haut und den Haaren.....	40
3.2.3	Blutentnahme und Aufbereitung .....	41
3.2.4	Probenentnahme aus der Umgebung.....	42
3.3	Dermatophyten-Nachweis .....	43
3.3.1	Pilzkultur .....	43
3.3.2	MALDI-TOF-Massenspektrometrie.....	44
3.3.3	DNA-Sequenzierung .....	44
3.4	Nachweis der humoralen Wirtsabwehr .....	44
3.4.1	Dermatophyten-Extraktantigen für den indirekten ELISA .....	44
3.4.2	ELISA für die Bestimmung der Anti-Dermatophyten-Antikörper im Blutplasma . .....	45
3.5	Bestimmung der Akute-Phase Proteine.....	46
3.5.1	Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) in den Blutplasmaproben der Hunde .....	46
3.5.2	Bestimmung des Haptoglobins (Hp) in den Blutplasmaproben der Katzen .....	47
3.6	Aufarbeitung der Daten und statistische Analyse .....	48
4	Ergebnisse .....	49
4.1	Klinische Untersuchung .....	49
4.1.1	Katzen.....	49
4.1.2	Hunde .....	52
4.2	Vergleich der beiden Tierheimgruppen.....	54
4.2.1	Katzen.....	54
4.2.2	Hunde .....	55
4.3	Mykologische Ergebnisse .....	56
4.3.1	Tiere allgemein.....	56
4.3.2	Dermatophyten .....	58
4.3.3	Andere keratinophile Pilze .....	59
4.3.4	Weitere Pilznachweise .....	60
4.3.5	Umgebungsanalyse.....	61
4.3.5.1	Allgemein .....	61

4.3.5.2	Dermatophyten .....	63
4.3.5.3	Andere keratinophile Erreger .....	63
4.3.5.4	Andere Erregernachweise.....	64
4.3.5.5	Umgebungsuntersuchung nach Einsatz eines Ozongerätes im Tierheim B. ....	64
4.4	MALDI-TOF-Massenspektrometer-Analyse .....	65
4.5	Pilzbestimmung mittels rDNA–Analyse .....	69
4.6	Serologische Ergebnisse.....	72
4.6.1	Serologische Auswertung der Katzengruppen in beiden Tierheimen .....	72
4.6.2	Serologische Auswertung der Hundegruppen in beiden Tierheimen.....	80
5	Diskussion .....	92
5.1	Unterschiede der untersuchten Tiere und Tierheime–Tierheime als besondere Infektionsquellen .....	92
5.2	Mykologie .....	93
5.2.1	Unterschiede in den Vorkommenshäufigkeiten von Dermatophyten zwischen dem Tierheim A und dem Tierheim B–Effizienz der kulturellen Diagnostik.....	93
5.2.2	Unterschiede in den Vorkommenshäufigkeiten von Dermatophyten in den verschiedenen Altersgruppen–Stress im Tierheim.....	95
5.2.3	Symptomlose Sporenträger–das versteckte Risiko, Eingangs- und Bestandsuntersuchungen .....	95
5.2.4	Vorkommen anderer keratinophiler Pilze in beiden Tierheimen .....	96
5.2.5	Kulturelle Umgebungsanalyse in beiden Tierheimen–Einsatz von Ozongeräten im Rahmen von Managementplänen .....	97
5.3	Serologie.....	100
5.3.1	Vergleich serologischer Parameter.....	100
5.3.2	Vergleich serologischer Parameter bezüglich Alter, Geschlecht und Dermatophyten-Kultur .....	103
5.3.3	Identifikation Dermatophyten verdächtiger Isolate durch rDNA-Analyse .....	104
5.4	MALDI-TOF-Analyse der einzelnen Dermatophyten-Isolate .....	104
6	Zusammenfassung .....	106
7	Summary .....	108
8	Literaturverzeichnis.....	110

9	Anhang .....	124
9.1	Abbildungen .....	124
9.2	Abbildungsverzeichnis .....	130
9.3	Tabellenverzeichnis.....	131
9.4	Materialien und Methoden .....	133
9.4.1	Nachweis der humoralen Abwehr-ELISA für die Bestimmung der Anti- Dermatophyten–Antikörper im Blutplasma .....	133
10	Danksagung .....	135

## Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Arthroderma</i>
AFLP	amplified fragment-length polymorphism analysis
AMP	Anti-mikrobielles Peptid
APP	Akute-Phase Protein
<i>Asp.</i>	<i>Aspergillus</i>
bp	Basenpaare
BG-ETEM	Berufsgenossenschaft für Energie, Textil, Elektro und Medienerzeugnisse
BiB	Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung
°C	Grad Celsius
CBS	Centralbureau voor Schimmelcultures
<i>Chr.</i>	<i>Chrysosporium</i>
CRP	C-reaktives Protein
DC-SIGN	dendritic cell-specific intercellular adhaesion molecule-3-grabbing non-integrin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
DPP	Dipeptidylpeptidase
DTH	delayed-type hypersensitivity
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
ESCCAP	European Scientific Counsel Companion Animal Parasites
<i>g</i>	<i>g</i> -Zahl
GCPSR	genealogical concordance phylogenetic species recognition
GESTIS	Gefahrstoffinformationssystem der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GRO- $\alpha$	growth-related oncogen alpha
ICBN	Internationaler Code der botanischen Nomenklatur für Algen, Pilze und Pflanzen
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IH	immediate hypersensitivity
IL	Interleukin
ITS	internal transcribed spacer



k.A.	keine Angabe
kDa	1.000 Dalton
kg	Kilogramm
M	Molare Masse
<i>M.</i>	<i>Microsporum</i>
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionisation-Time-of-Flight
MEP	Metalloendoprotease
MEROPS	Database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors
mg	Milligramm
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
MLST	Multilocus sequence typing
mRNA	messenger ribonucleic acid
NDM	non-dermatophytic moulds
n.e.	nicht ermittelt
PAF	antifungales Protein von <i>Penicillium chrysogenum</i>
PAMP	pathogen-associated molecular pattern
PCR	polymerase chain reaction
PEI	Paul-Ehrlich Institut
<i>Pen.</i>	<i>Penicillium</i>
pH	Pondus Hydrogenii; negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen
PRR	pattern recognition receptor
rDNA	ribosomale DNA
sp.	Spezies
spp.	Subspezies
SUB	Subtilisin
<i>T.</i>	<i>Trichophyton</i>
TEM	Transmissions-Elektronenmikroskop
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TRGS	Technische Regel für Gefahrstoffe



### **1 Einleitung**

Gemäß den Aussagen des Deutschen Tierschutzbundes e.V. gibt es derzeit etwa 550 vereins-eigene Tierheime und Auffangstationen in der Bundesrepublik Deutschland (Anon., Deutscher Tierschutzbund e.V., Über uns. 2017, zitiert vom 24.10.2017, <https://www.tierschutzbund.de/organisation/ueber-uns/>). Nicht selten klagen diese über enorme Überbelegungen für die verschiedenen Tierarten. Insbesondere ein enges Zusammenleben, wie in Tierheimen, stellt für einige Katzen eine besondere Stresssituation dar (KESSLER und TURNER 1997). Dieser negative Stress hat Auswirkungen auf das Immunsystem. Er kann zu Veränderungen der angeborenen und erworbenen Immunantworten führen und daraus resultiert eine höhere Infektanfälligkeit gegenüber verschiedenen Erkrankungen (DHABHAR und MC EWEN 1997). Die dauerhafte Überbelegung der Tierheime war auch vor Ort im Tierheim B stets ein Problem. Beide Tierheime wurden zum Zeitpunkt der Untersuchungen von ein und derselben Tierarztpraxis betreut. Im Verlauf der tierärztlichen Betreuung spielte auch immer wieder das Auftreten von Dermatophyten eine maßgebliche Rolle. So kam es im Laufe der Jahre zu Einzelinfektionen, aber auch zu Bestandsinfektionen. Im Vorfeld der vorliegenden Untersuchungen kam unter anderem die Frage auf wie hoch eigentlich die wirkliche Infektionsrate sei und wie die beiden Tierheime, so unterschiedlich in Struktur und Organisation sie sind, sich darin unterscheiden. Natürlich galt dabei besonderes Augenmerk darauf zu legen, wenn Unterschiede bestehen, worin diese begründet sind. Um ein möglichst vollständiges Bild beider Tierheime zu bekommen wurden soviel Orte und Tiere wie möglich in die Untersuchungen miteinbezogen. Daraus resultierend wurden nicht nur die viel häufiger betroffenen Katzen untersucht, sondern auch möglichst viele Hunde miteinbezogen. Weiterhin wurde zusätzlich die direkte Umgebung der Tiere auf Dermatophyten untersucht, um ein umfangreiches Abbild der vorliegenden Situationen darzustellen.

### **2 Literaturübersicht**

#### **2.1 Dermatophyten**

Dermatophyten als keratinophile Pilze befallen keratinhaltige Strukturen wie Haut, Haare und Horn von Menschen und Tieren. Eine Infektion mit Dermatophyten wird als Dermatophytose bezeichnet. Hauptsächlich in größeren Tiergemeinschaften treten Probleme mit derartigen Infektionen auf. Der direkte Kontakt zum betreuenden Personal stellt eine besondere zoonotische Gefahr dar (CHERMETTE et al. 2008; WEITZMAN und SUMMERBELL 1995). Tre-

## Literaturübersicht

ten in Tierheimen oder Tierpensionen Infektionen mit Dermatophyten auf, so sind meist mehrere Wochen nötig um die bestehenden Infektionen und Neuerkrankungen einzudämmen. Der Erfolg eines konsequenten Behandlungsregimes bei Tieren in Tierheimen konnte in einer Studie zur Bekämpfung der felines Dermatophytose gezeigt werden (CARLOTTI et al. 2010). Von besonderer Bedeutung ist dabei die strikte Trennung klinisch kranker Tiere, klinisch gesunder Tiere mit positiver Pilzkultur und klinisch gesunder Tiere mit negativer Pilzkultur. In diesen Untersuchungen von CARLOTTI et al. (2010) konnten nach einem Behandlungszeitraum von acht Wochen alle Katzen als klinisch gesund und Pilzkultur negativ beurteilt werden (CARLOTTI et al. 2010).

Die Studie zeigt, wie wichtig ein konsequentes Behandlungsregime bei der Bekämpfung einer endemisch vorkommenden Dermatophytose ist.

Der Beginn der systematischen Einteilung der Dermatophyten geht in das Jahr 1934 zurück. CHESTER WILSON EMMONS (1934) beschrieb die Grundlage der damaligen Systematik, in dem er eine morphologische Einteilung anhand der Sporen (bei den Fungi imperfecti die vegetativen Sporen) und Konidien vornahm (EMMONS 1934). Die systematische Einteilung der Lebewesen befindet sich stets im Wandel. Mit Erkenntnissen neuerer Zeit betrachten Prof. Dr. GRÄSER et al. (2008) in der Übersichtsarbeit die stetigen Veränderungen der Nomenklatur der Dermatophyten.

In „The New Species Concept in Dermatophytes—a Polyphasic Approach“ werden Hinweise für die kritische Auseinandersetzung mit neuen evaluierten Polymerase-Kettenreaktionen-Enzymgebundene Immunabsorbtiostests (PCR-ELISA) und Schnellmethoden (ONYCHODIAG BioAdvance) in der Dermatophytendiagnostik gegeben (GRÄSER et al. 2008; SAVIN et al. 2007). Nach GRÄSER et al. (2008) stehen zahlreiche Konzepte und Methoden teils nebeneinander beziehungsweise gegenüber. Laut GRÄSER et al. (2008) wurden der ursprünglichen, morphologischen und kulturellen Speziesinteilung aus dem 19. und 20. Jahrhundert nunmehr das biologische Spezieskonzept oder das phylogenetische Spezieskonzept gegenüber gestellt. Nach dem biologischen Speziesprinzip gehören Tiere einer Art an, wenn sie sich verpaaren können und fortpflanzungsfähige Nachkommen erzeugen. Durch eine abnehmende Fähigkeit, lebensfähige Nachkommen zu zeugen, sei es möglich Artgrenzen zu bestimmen (GRÄSER et al. 2008).

Das phylogenetische Speziesprinzip basiert auf dem Stammbaum von Lebewesen. Es werden morphologische, genetische und auch Stoffwechseleigenschaften herangezogen, um mögliche Verwandtschafts- und Abstammungsverhältnisse zu bestimmen.

## Literaturübersicht

Eine Weiterführung des phylogenetischen Spezieskonzeptes stellt das „genealogical concordance phylogenetic species recognition“ (GCPSR) Konzept dar. Bei diesem Prinzip werden mehrere unabhängige Gene von Vorfahren und Nachkommen verglichen. Dies ermöglicht, die einzelnen phylogenetischen Ursprünge zu differenzieren und eine Abgrenzung zwischen Genvarianten herzustellen (GRÄSER et al. 2008; TAYLOR et al. 2000).

Mit dem Fortschreiten der molekularbiologischen Analysemethoden können Verfahren wie „multilocus sequence typing“ (MLST) zur Analyse der Genstruktur verwendet werden. Die Grenzen dieser Verfahren zeigen sich beispielsweise bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung der Dermatophyten. Im Rahmen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung ist davon auszugehen, dass Gene sich nicht ausreichend verändern, um voneinander abgegrenzt werden zu können (GRÄSER et al. 2008).

Eine weiterführende Methode ist die Analyse von „internal transcribed spacer“-Regionen (ITS). Zur Bedeutung dieser schreiben GRÄSER et al. (2008):

„As gold standard for the identification of atypical or difficult dermatophyte isolates in reference laboratories, ITS sequencing is recommended.“

SCHOCH et al. (2012) sehen die Methode der ITS-Sequenzanalyse ebenso wie Gräser als Mittel der Wahl, um eine Art Barcode für das Reich der Pilze zu etablieren. Es wird dennoch betont, dass bedingt durch die enorme Vielfalt unter den Pilzen höchstwahrscheinlich ein Marker nicht ausreichen wird, um in allen Fällen eine genaue Differenzierung durchzuführen. (SCHOCH et al. 2012) Im Laufe der Jahrzehnte führten immer neuere Verfahren und Erkenntnisse zu einer Vielzahl von Namen für gleiche Spezies. So entstanden mit der Zeit zahlreiche Synonyme für gleiche Spezies. Erschwerend kam hinzu, dass phänotypische Fehlinterpretationen zu einer falschen Zuordnung oder falschen Namensgebung der Isolate führte (DE HOOG et al. 2017).

Aus einer Studie von DE HOOG et al. (2017) lassen sich aufgrund der Analyse mehrerer genetischer Marker derzeit folgende phylogenetische Kladen innerhalb der Dermatophyten unterscheiden:

- A Trichophyton
- B Epidermophyton
- C Nannizzia
- D Paraphyton
- E Lophophyton
- F Microsporum
- G Arthroderma

In zuvor genannter Studie von DE HOOG et al. (2017) wurden 261 Dermatophyten-Stämme aus dem Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, neu Westerdijk Fungal Biodiversity Institute) analysiert und im Rahmen einer einheitlichen Nomenklatur nach Artikel 59 des Internationalen Codes der Botanischen Nomenklatur (ICBN) benannt. Um eine Vielzahl von Namen für ein und denselben Pilz zu vermeiden, gilt demnach vorrangig der älteste bekannte Name.

### **2.1.1 Taxonomische Einteilung und Charakteristika ausgewählter pathogener Dermatophyten**

Teleomorphe (geschlechtliche) Formen der Dermatophyten gehören in die Gattung Arthroderma, der Familie der Arthrodermataceae, welche wiederum in die Ordnung der Onygenales der Unterabteilung der Euscomycota gehören.

Anamorphe (ungeschlechtliche) Formen der Dermatophyten, welche zumeist bei Infektionen eine Rolle spielen, gehören in die Klasse der Hyphomyceten der Deuteromycota (Fungi imperfecti) (EMMONS 1934; WEITZMAN und SUMMERBELL 1995).

#### **2.1.1.1 *Microsporum* sp.**

*Microsporum (M.) canis* (zoophil, BODIN 1900, CBS 496.86, neotype Stammform) gilt als einer der Haupterreger der Dermatophytose bei Katzen und Hunden. Das entsprechende Krankheitsbild wird als Mikrosporidie bezeichnet.

Die Sporen von *M. canis* sind etwa 2 - 3 µm groß. Sie sammeln sich außerhalb des Haarschaftes in Haufen. Auf Sabouraud-Glukose Agar bei 25 °C zeigt sich ein schnelles Wachstum der Kolonien. Die Oberfläche ist zuerst weiß, grobporig, flaumig und oft mit gelben Pigmenten im peripheren Wachstum. Die Unterseite zeigt meist ein helles Gelb oder eine orange Farbe (SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969).

Im mikroskopischen Bild sind folgende Eigenschaften nach SEELIGER (1981) zu finden.

„*Microsporum canis* bildet reichlich Makrokonidien vom Spindeltyp, die unterhalb beider Pole eingeschnürt sind. Die äußere, mehrschichtige und besonders kräftige Zellwand ist (an den Polen gehäuft) mit Protuberanzen versehen. (...) Die Makrokonidien erreichen eine Größe von 10 - 15 x 60 - 125 µm. Die Anzahl der Kammern variiert von 5 - 12. Mikrokonidien sind weniger zahlreich (Größe 2,5 - 3,5 x 4 - 7 µm). Terminale und interkalare Chlamydosporen mit ihrem Reichtum an Reservestoffen erlauben dem Pilz, längere Ruheperioden zu überstehen.“ (SEELIGER 1981)

Weitere bedeutende Vertreter der Gattung sind *M. audouinii* (anthropophil, 1843 GRUBY, neotype Stammform CBS 545.93) sowie *M. ferrugineum* (anthropophil, 1921 OTA, CBS 497.48). *M. audouinii* besitzt weltweite Bedeutung als Erreger von Dermatophyosen beim Menschen. Hingegen beschränkt sich das Vorkommen von *M. ferrugineum* geografisch auf Asien, Ost-Europa und Afrika (BRASCH 2010).

### **2.1.1.2 *Trichophyton* sp.**

Die Gattung *Trichophyton* (*T.*) (MALMSTEN 1848, Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med. 1848:14, *T. tonsurans*) hat sich polyphyletisch entwickelt. Es kam zum Entstehen von Spezies, die auf unterschiedliche Stammformen zurückzuführen sind. Es sind Spezies in dieser Gattung vereint, welche ein hohes Maß an Variabilität untereinander zeigen. Diese weisen eine Vielzahl morphologischer Eigenschaften auf, wobei die genetische Variabilität gering ist (DE HOOG et al. 2017).

Zunächst gelangen GRÄSER et al. (1999) durch neue molekularbiologische Methoden wie der Sequenzierung der ITS-Regionen der ribosomalen Operone mit Hilfe der PCR und der „amplified fragment-length polymorphism analysis“ (AFLP), die Spezies um *T. mentagrophytes* und *T. tonsurans* neu zu gruppieren. Insgesamt wurden zu dieser Zeit fünf Kladen in zwei monophyletischen Gruppen unterschieden. Die eine Gruppe beinhaltete Klade A (*T. tonsurans*), Klade B (*T. interdigitale* als eigene Spezies), Klade C (*T. mentagrophytes*) und Klade D (*T. simii*). Die zweite Gruppe beinhaltete Klade E (*T. erinacei* als eigene Spezies) (GRÄSER et al. 1999).

Die früher sogenannte Spezies *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* wurde nun in die anamorphe Spezies *T. interdigitale* umbenannt. Die dazugehörige teleomorphe Form stellte *Arthroderma vanbreuseghemii* dar (GRÄSER et al. 1999). Einen guten Überblick über taxonomische Veränderungen der *Trichophyton* Spezies in den 2000er Jahren geben Prof. NENOFF et

## Literaturübersicht

al. (2007) in der Übersichtsarbeit „*Trichophyton mentagrophytes* sive *interdigitale*? A dermatophyte in the course of time.“

DE HOOG et al. (2017) schafften die Spezies in der Gattung *Trichophyton* taxonomisch neu zu sortieren. So ist nun diese Gattung in die Kladen A1 bis A4 zu unterteilen. Klade A1, bezeichnet als *T. mentagrophytes* Serie, beinhaltet *T. tonsurans* (MALMSTEN 1848, Neotyp CBS 496.48), *T. equinum* (GEDOELST 1902, Neotyp CBS 270.66), *T. interdigitale* / *A. vanbreuseghemii* (Takashio 1973, Neotype CBS 428.63), *T. mentagrophytes* (ROBIN 1896, Neotyp CBS 318.56), *T. quinckeanum* (ZOPF 1940, CBS 144162), *T. schoenleinii* (LEBERT 1934, Neotyp CBS 458.59), *T. simii* (STOCKDALE, D.W.R. MACK. & AUSTWICK 1965, CBS 417.65) (DE HOOG et al. 2017). Die Klade A2 *T. benhamiae* Serie beinhaltet *Arthroderma* / *T. benhamiae* (AJELLO und CHENG 1967, comb. nov. GRÄSER & DE HOOG, CBS 623.66 und 624.66), *T. concentricum* (BLANCHARD 1896, Neotyp CBS 196.26), *T. erinacei* (J.M.B. SM. & MARPLES, QUAIFFE 1966, CBS 511.73), *T. verrucosum* (BODIN 1902, Neotype CBS 365.53) und *T. eriotrephon* (PAPEGAAJ 1925, CBS 220.25) (DE HOOG et al. 2017). Die Klade A3 beinhaltet *T. bullosum* (LEBASQUE 1933, CBS 363.35) (DE HOOG et al. 2017). Die Klade A4 *T. rubrum* Komplex beinhaltet *T. rubrum* (CASTELLANI 1911, Neotyp CBS 392.58) / *T. violaceum* (SABOURAUD 1902, Neotyp CBS 374.92) (DE HOOG et al. 2017). Eine Übersicht über die aktuelle taxonomische Einteilung der *Trichophyton* sp. gibt Tabelle 1.

Ausgangspunkt der Untersuchung war, jeder festgelegten Spezies einen vorhandenen Holotyp bzw. frisches Pilzmaterial zuzuordnen. Im Falle dessen, dass kein Originalmaterial vorhanden war, wurde ein Neotyp mit eindeutiger CBS-Nummer des entsprechenden Stammes festgelegt. Treten anamorphe und teleomorphe Formen auf, beziehen diese sich auf ein und dieselbe Probe. Hierbei ist zu beachten, dass für *T. interdigitale* anthropophile Stämme namensgebend sind. Diese werden aufgrund der Untersuchungen von DE HOOG et al. (2017) als eine klonale Nebenlinie von *T. mentagrophytes* angesehen. Für *T. mentagrophytes* sind sowohl zoophile (*T. mentagrophytes sensu strictu*) als auch anthropophile (*T. interdigitale*) Stämme beschrieben (DE HOOG et al. 2017).

In Untersuchungen von KRAEMER et al. (2012) weisen die Nachweisraten von *T. mentagrophytes* bei Meerschweinchen und Kaninchen auf eine große Bedeutung dieser Tiere als mögliche Infektionsquellen für Menschen hin. 38,1 % der Meerschweinchen und 8,1 % der Kaninchen zeigten positive Dermatophyten-Kulturen (KRAEMER et al. 2012). Vor allem Kinder sind durch das enge Zusammenleben mit Haustieren gefährdet (KRAEMER et al. 2013).



## Literaturübersicht

Neben *T. mentagrophytes* (zoophile Stämme) gilt auch *T. verrucosum*, Erreger der "Kälberflechte" und Rindertrichophytie, als ein bedeutender Erreger der Tinea beim Menschen (NENOFF et al. 2012). Nicht zu vergessen *T. equinum* als Erreger der Dermatophytose beim Pferd, welcher auf den Menschen übertragbar ist (BRASCH 2010). Für *T. erinacei* gelten sowohl die in Deutschland vorkommenden besonders geschützten Igel-Arten *Erinaceus europaeus* und *Erinaceus roumanicus* als auch importierte Arten aus Afrika als Ursache für Infektionen beim Menschen (NENOFF et al. 2014b; RILEY und CHOMEL 2005; WEISHAUPT et al. 2014).

*T. tonsurans* als anthropophiler Erreger wird derzeit bei Immigranten aus Asien und Afrika vermehrt nachgewiesen (NENOFF et al. 2013; PROUDFOOT und MORRIS-JONES 2012). In einer groß angelegten Studie in den USA wurden Kinder in Kindergärten und Schulen zum Vorkommen von *T. tonsurans* untersucht. In einigen Schulen konnten Nachweisraten von bis zu 30 % bei den Kindern festgestellt werden (ABDEL-RAHMAN et al. 2010).

Die besondere Bedeutung von *T. violaceum* als Erreger der Tinea capitis in Afrika wurde von WIEGAND et al. (2016) in einer Studie untersucht. Der Erreger kommt in diesen Gegenden endemisch vor und gilt als hoch ansteckend. Besonders betroffen sind Kinder (WIEGAND et al. 2016). Eine zunehmende Bedeutung scheint der Erreger *T. benhamiae* zu erlangen. Als Hauptreservoir gelten Meerschweinchen, aber auch andere Nagetiere (DROUOT et al. 2009; NENOFF et al. 2014c). In der mykologischen Diagnostik zeigt *T. benhamiae* einen weißen und einen gelben Phänotyp (SYMOENS et al. 2013).

Bei der direkten mikroskopischen Untersuchung von Probenmaterial sind bei einem Befall mit *T. mentagrophytes* große Sporen, welche in Ketten angeordnet sind, auf der Oberfläche der Haare zu finden (SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969). Kolonien auf Sabouraud-Glukose Agar zeigen bei Inkubation bei 25 °C ein weißes, fluffiges Aussehen. Die Unterseite ist tiefgelb bis braun pigmentiert. Bei der mikroskopischen Untersuchung sind kleine runde Mikrokonidien, welche in Haufen angeordnet sind, zu erkennen. Weiterhin können zigarrenförmige Makrokonidien vorhanden sein (SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969).

## Literaturübersicht

Tabelle 1: Neue und alte Nomenklatur für *Trichophyton* sp. im Überblick

Klade	GRÄSER et al. (1999)	frühere Nomenklatur *	Klade	DE HOOG et al. (2017)
A	<i>T. tonsurans</i> (anthropophil) <i>T. equinum</i> (zoophil)		A1	<b><i>T. mentagrophytes</i> Serie</b> (zoophil und anthropophil) <i>T. tonsurans</i> (anthropophil) <i>T. equinum</i> (zoophil)
B	<i>T. interdigitale</i> (anthropophil und zoophil) <i>A. vanbreuseghemii</i> (teleomorph)	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> (anthropophil) <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>nodulare</i> (anthropophil) <i>T. mentagrophytes</i> <i>goetzii</i> (anthropophil) <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i> (zoophil)		<b><i>T. mentagrophytes</i> Serie</b> (anthropophil) – klonale Nebenlinie
C	<i>T. mentagrophytes</i> (zoophil)	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>quinckeanum</i> <i>T. sarkisovii</i> <i>T. langeronii</i>		<b><i>T. mentagrophytes</i> Serie</b> (zoophil) <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. quinckeanum</i> <i>T. schoenleinii</i>
D	<i>T. / A. simii</i> (zoophil)			<b><i>T. mentagrophytes</i> Serie</b> (zoophil) <i>T. simii</i>
E	<i>T. erinacei</i> (zoophil) <i>A. benhamiae</i>	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i> (zoophil) <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i> (zoophil)	A2	<b><i>T. benhamiae</i> Serie</b> (zoophil) <i>T. verrucosum</i> <i>T. concentricum</i> <i>T. erinacei</i>
			A3	<i>T. bullosum</i> (zoophil)
			A4	<i>T. rubrum</i> / <i>T. violaceum</i>

\* aus NENOFF et al. (2007)

### 2.1.2 Ökologische Einteilung und Lebensraum der Dermatophyten

Teilt man die Dermatophyten nach ihrer ökologischen Nische ein, so lassen sie sich in drei bevorzugte Lebensräume aufteilen: die anthropophilen, die zoophilen und die geophilen Erreger (AJELLO 1962).

Anthropophile Spezies sind an das Leben auf der menschlichen Haut angepasst. Als wichtiger Vertreter ist *Trichophyton rubrum* (anamorph) zu nennen. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich von Mensch zu Mensch. In Deutschland war im Jahr 1993 *T. rubrum* für 82,7 % der Fuß-

## Literaturübersicht

pilzkrankungen (*Tinea pedis*) und Nagelpilzkrankungen (Onychomykose) verantwortlich (SEEBACHER et al. 2008; TIETZ et al. 1995). Neben dem eigenen Bad sind auch Gemeinschaftsduschen bei sportlichen Aktivitäten Ursprünge von Infektionen (NENOFF und KRÜGER 2012). Anthropophile Spezies wie *T. rubrum* verursachen zumeist mildere, chronische und weniger entzündliche Erkrankungen (DAHL und GRANDO 1994).

*M. canis* als zoophiler Erreger verursacht als Zoonose-Erreger bedeutende, hoch entzündliche Dermatomykosen beim Menschen (AJELLO 1960). Er gilt als einer der am häufigsten isolierten Erreger bei Hund und Katze (CABAÑES et al. 1997). *M. canis* als ursprünglich an Tiere angepasster Erreger war 1993 für 3,2 % der humanen *Tinea pedis* beziehungsweise Onychomykose-Fälle verantwortlich (TIETZ et al. 1995). Weiterhin ist *M. canis* verantwortlich für Infektionen der Kopfhaut, die sogenannte *Tinea capitis*, und der Körperoberfläche, die sogenannte *Tinea corporis* (AJELLO 1962).

So formulierten NENOFF et al. (2012):

„Die zoophilen Dermatophyten gelten als hoch virulent, wahrscheinlich weil sie primär an Tiere adaptiert sind.“

Mit der Domestikation von Katze und Hund nimmt die Gefahr einer Zoonose, ausgehend von zoophilen Erregern, für den Menschen zu. Das enge Zusammenleben von Mensch und Tier erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass zoophile Dermatophyten übertragen werden und klinische oder subklinische Infektionen entstehen. Betrachtet man die Anzahl der Tiere, welche zusammen mit Menschen in einem Haushalt leben, so zeigen sich die Ausmaße möglicher Infektionsquellen. Die Gesamtanzahl der Katzen in deutschen Haushalten betrug im Jahr 2015 12,9 Millionen Tiere (Anon., Anzahl der Haustiere in deutschen Haushalten in den Jahren 2010 bis 2015 in Millionen. 2017, zitiert vom 20.01.2017, <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/30157/umfrage/anzahl-der-haustiere-in-deutschen-haushalten-seit-2008/>). Immer wieder wird über Haushalte berichtet, in denen gehäuft Katzen für humane Infektionen mit Dermatophyten verantwortlich sind. Dieser Umstand stellt ein Problem der öffentlichen Gesundheit dar (KAPLAN et al. 1958). Die Übertragung zoophiler Dermatophyten findet von Tieren auf den Menschen statt. Es erfolgt eine Übertragung entweder durch direkten oder indirekten Kontakt (PIER et al. 1994).

Geophile Spezies wie *M. gypseum* sind an das Leben im Erdboden angepasst (AJELLO 1953). Ausgehend vom Erdreich erfolgen Infektionen von Mensch und Tier. Selten wird die Übertragung von Tier zu Tier beobachtet (AJELLO 1953). Die Fähigkeit, Keratin zu verwer-

ten, ist ebenso bei geophilen Spezies vorhanden. So können sie humane oder tierische Infektionen hervorrufen. Oft treten Infektionen auf, welche aufgrund einer Verletzung und nachfolgendem Kontakt zum Erdboden entstehen (BRASCH 2010). Zumeist verlaufen Infektionen mit geophilen Dermatophyten schnell, aber mit hoch entzündlichen Läsionen (DE HOOG et al. 2017).

### 2.1.3 Ausgewählte Pathogenitätsfaktoren und Mechanismen der Invasion

Um eine ausreichende Immunprophylaxe entwickeln zu können, ist es von enormer Bedeutung die Mechanismen der Invasion sowie die Pathogenitätsfaktoren der Dermatophyten genau zu identifizieren. So werden Studien zu ausgewählten Dermatophytenarten mit verschiedenen Virulenzfaktoren Gegenstand zukünftiger Forschungen sein.

Dermatophyten als keratinophile Pilze benötigen Mechanismen, um sich an der Barriere Haut anzuheften beziehungsweise in eben diese einzudringen. Es existieren eine Reihe biologischer und chemischer Mechanismen, die diese Vorgänge ermöglichen. Laut KAUFMAN et al. (2007) bestehen die ersten Schritte einer Infektion darin, dass sich die infektiösen Agenzien bzw. Sporen wie Arthrokonidien oder Chlamydosporen an die Epidermis anhaften. Um näher auf die Mechanismen der Adhärenz und Invasion einzugehen, ist es wichtig, die eigentlichen infektiösen Agenzien zu betrachten. KAUFMAN et al. (2007) entdeckten Näheres zum Verhalten der Arthrokonidien während einer Infektion. So zeigte die Untersuchung der Schichten des Stratum corneum mit Hilfe des Transmissions-Elektronenmikroskopes (TEM) das Anhaften von Arthrokonidien auf der Haut. Die Adhäsion der Pilzelemente erfolgt durch die Ausbildung kurzer und langer Fibrillen. Es kommt zu einer Verankerung der Arthrokonidien auf der äußeren Haut. In Folge der Auskeimung dieser dringen die verlängerten Hyphen (septierte und unseptierte) in die tiefen Schichten des Stratum corneum ein. In den inneren Schichten der Haut flachen die Pilzelemente scheinbar ab (KAUFMAN et al. 2007). Zueinander angrenzende Arthrokonidien verbinden sich über Fibrillen untereinander und es kommt zur Ausbildung komplex ähnlicher Strukturen auf und in der Haut (ALJABRE et al. 1992; DUEK et al. 2004; KAUFMAN et al. 2007).

Für *Trichophyton* sp. konnte in vitro gezeigt werden, dass nicht nur Arthrokonidien die Fähigkeit zur Adhäsion besitzen, auch Mikrokonidien verfügen über diese Fähigkeit. Innerhalb der ersten drei bis vier Stunden zeigte sich ein deutliches Anhaften der Arthrokonidien und Mikrokonidien an menschlichen Keratinozyten (ZURITA und HAY 1987). TABART et al. (2007) versuchten mit Hilfe eines neuen in vitro Modells, den in vivo Bedingungen näher zu kommen. So wurde vollständig rekonstruierte Katzen-Epidermis benutzt, um den Infektions-

## Literaturübersicht

prozess mit *M. canis* zu untersuchen. Innerhalb von fünf Tagen konnten Pilzhyphen in der Haut histologisch nachgewiesen werden (TABART et al. 2007).

ESQUENAZI et al. (2003) untersuchten Oberflächenrezeptoren von *T. mentagrophytes*. Dieser Dermatophyt besitzt Rezeptoren vom Lektin-Typ an der Oberfläche. Sie sind in der Lage, unterschiedliche Oberflächenstrukturen auf den epidermalen Zellen zu erkennen. Mannose und Galaktose sind dabei von Bedeutung (ESQUENAZI et al. 2003). Die Bedeutung weiterer Mechanismen zur Adhäsion und Invasion wie die Produktion von Enzymen untersuchten beispielsweise BALDO et al. (2010). Im Falle von *M. canis* sind Proteasen wie die Subtilisine (Serinproteasen) und Metalloproteasen (Fungalysine) für eine erfolgreiche Infektion mitverantwortlich (BALDO et al. 2010; BROUTA et al. 2002).

MATHY et al. (2010) untersuchten bei verschiedenen *M. canis*-Stämmen die Transkription der Fungalysin-Gene und der Dipetidylpeptidase (Dpp)-Gene in den Arthrokonidien. Die Arthrokonidien zeigten keine Transkription von Fungalysin-Genen während der Adhäsion. Nach MATHY et al. (2010) besitzen diese und damit auch die Metalloendoproteasen keine entscheidende Rolle bei der Adhäsion an der äußeren Haut (MATHY et al. 2010). Bei drei von vier der untersuchten *M. canis* Stämme konnte die Transkription der Dpp IV-Gene in den Arthrokonidien während der Adhäsion sowie der Invasion der Pilzelemente sowohl bei symptomatischen als auch bei asymptomatischen Tieren nachgewiesen werden (MATHY et al. 2010). Damit diese Enzyme erfolgreich in die weiteren Strukturen der Haut eindringen können, ist es notwendig, die Disulfid-Brücken des Keratins mit Hilfe von Sulfid-Efflux-Pumpen aufzuspalten (KUNERT 1992; LÉCHENNE et al. 2007). Das Keratin wird verstoffwechselt und steht als Nährstoff für die Dermatophyten zur Verfügung (KUNERT 1992). Die dafür verantwortlichen Enzyme werden als Keratinasen bezeichnet. Unter anderem gehören die Serinproteasen (Subtilisine) und die Metalloendoproteasen (Fungalysine) zu eben diesen. Für die Serinproteasen von *M. canis* wiesen MIGNON et al. (1998) die in-vitro-Produktion nach und vermuteten daraus eine mögliche in-vivo-Pathogenität. Für die Metalloproteasen untersuchten BROUTA et al. (2001) die in-vitro-Produktion. Erste in-vitro-Erkenntnisse durch DANIELS (1953) zeigten, dass *M. canis* in der Lage ist, menschliches Haarkeratin zu verstoffwechseln. Durch das Mikroskop waren verschiedene Stadien der Zersetzung zu erkennen. Unter anderem erkannte man Hyphen, welche die Kutikula der Haare durchbrechen konnten und die Zell-Zusammenhänge lockerten beziehungsweise aufbrachen. Weiterhin war zu beobachten, dass Hyphen aus verschiedenen Läsionen sich möglicherweise verbinden, um dann ein Netzwerk auszubilden. Die chromatographische Untersuchung durch DANIELS (1953) zeigte das Auftreten von bestimmten Aminosäuren auf, welche mit Proben verglichen werden

konnten, in denen das Keratin durch Salzsäure hydrolysiert worden war. Beide Proben zeigten gleiche Aminosäuren-Muster. Daraus schloss DANIELS (1953), dass Keratin durch Dermatophyten mit großer Wahrscheinlichkeit metabolisiert werden kann. TAKIUCHI et al. (1982) zeigten, dass *M. canis* in Sabouraud-Agar mit 2 % Dextrose, mit menschlichen Haaren versetzt, eine proteolytische Aktivität entwickelt. LEE et al. (1987) fanden heraus, dass die von *M. canis* produzierte, untersuchte Keratinase vermutlich eine molekulare Masse von etwa 33 kDa aufweist und bei einem pH-Wert von 8 die maximale enzymatische Aktivität besitzt.

VIANI et al. (2001) konnten in einer Studie an Hunden und Katzen mit entsprechenden Dermatophyten verdächtigen Läsionen statistisch signifikant höhere Keratinase-Aktivitäten feststellen. Bei der Auswertung der Aktivität der anderen Enzyme waren keine statistisch signifikanten Unterschiede für die DNase, Lipase und Elastase zwischen den asymptomatischen und den symptomatischen Tieren nachweisbar. Die Keratinasen sind somit für die Virulenz eines Erregers von enormer Bedeutung. Tiere ohne Symptome zeigten in dieser Studie eine geringere Aktivität der Keratinasen. Im Verlauf der Studie wiesen VIANI et al. (2001) die direkte Pathogenität der Keratinasen in einem Versuch an Meerschweinchen nach. BROUTA et al. (2001) arbeiteten an der Charakterisierung und Aufreinigung der 43,5 kDa extrazellulären keratinolytischen Metalloprotease aus einem klinischen Isolat von *M. canis*. In einem mit Keratin (als einzige Stickstoffquelle) angereicherten Medium konnte enzymatische Aktivität festgestellt werden. Die 43,5 kDa Metalloprotease besitzt ein pH Optimum von 8. Sie zeigte eine höhere kollagenolytische Aktivität als die 31,5 kDa Subtilisin-Protease. Beide wiesen eine ähnliche hohe keratinolytische Aktivität auf (BROUTA et al. 2001). Das Ziel der gegenwärtigen Forschung ist die Identifizierung und Charakterisierung der Enzyme und der für sie verantwortlichen Gene während des Infektionsprozesses. In einer Studie von BROUTA et al. (2002) konnten drei Metalloprotease-Gene (MEP1, MEP2 und MEP3) für *M. canis* identifiziert werden. Das MEP3 Gen scheint für die Produktion der 43,5 kDa keratinolytischen Metalloprotease verantwortlich zu sein. In vivo konnte das Vorhandensein der MEP2 und MEP3 Gene in infizierten Meerschweinchen Haaren nachgewiesen werden (BROUTA et al. 2002).

Einen weiteren Ansatz der Genanalyse geben BALDO et al. (2010). Bei einer Untersuchung der Relevanz des SUB3 (Subtilisin) Gens von *M. canis* konnten folgende Zusammenhänge gefunden werden. Nach fast vollständiger Ausschaltung des SUB3 Gens zeigte sich eine verminderte Adhäsionsfähigkeit der *M. canis* Arthrokonidien im Vergleich zu einem Kontrollstamm beziehungsweise Wildtyp-Stamm. Im Rahmen der Untersuchungen kam es bei allen Meerschweinchen trotz Ausschaltung des SUB3 Gens zur Ausbildung einer Dermatophytose. Die Ausschaltung des SUB3 Gens hat mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Einfluss

auf die Ausbildung einer Dermatophytose oder aber es existieren Wirt abhängige Unterschiede in der für eine Infektion notwendigen Genexpression (BALDO et al. 2010). Mit Hilfe der MEROPS Datenbank werden proteolytische Enzyme, deren Substrate und Hemmstoffe kategorisiert und anhand ähnlicher Aminosäuren-Muster Familien beziehungsweise homologen Familien und Clans zugeordnet (RAWLINGS et al. 2012).

Für *M. canis* sind neun Peptidasen der Familien M77 (MEROPS Identifikationsnummer M77.001), M36 und S8 (MEROPS Identifikationsnummer S08.115 und zwei unbestimmte Peptidasen) zu finden. Die Familie der M36-Peptidasen ist mit fünf Vertretern am häufigsten vertreten. Sie gehören zum Subtyp der Fungalytine und werden als M1, M2, M3, M4 und M5 bezeichnet (MEROPS Datenbank Identifikationsnummer M36.001). Auch für *T. mentagrophytes* sind entsprechende Peptidasen in der Datenbank zu finden.

Bei der Untersuchung der keratinolytischen Aktivität von ehemals *T. mentagrophytes* var. *granulosum* (*T. mentagrophytes* zoophil) hatten YU et al. (1968) erste Erfolge (DE HOOG et al. 2017). Es gelang dabei, keratinolytische Aktivität nachzuweisen und gleichzeitig über Sephadex G100 eine molekulare Masse von 48 kDa für das Enzym zu bestimmen (YU et al. 1968). Drei Jahre später war es möglich, zwei zellgebundene Keratinasen aus Myzel-Extrakt zu isolieren, die Keratinasen II und III. Die beiden Enzyme scheinen sich in ihrer spezifischen Aktivität und in ihren molekularen Massen zu unterscheiden. Die Keratinase II besitzt demnach eine molekulare Masse von 44 kDa und die Keratinase III von 20,3 kDa (Yu et al. 1971). Eine exakte Bestimmung der Keratinasen von *T. mentagrophytes* lieferten KAUFMAN et al. (2007). Ihnen gelang es, zwei Proteinfractionen zu isolieren, welche durch Serinproteaseinhibitoren gehemmt werden konnten. Demzufolge handelt es sich um zwei Enzyme aus der Gruppe der Serinproteasen mit den molekularen Massen von 20 kDa und 80 kDa (KAUFMAN et al. 2007). Im Jahr 2004 beschrieben SCOTT und UNTEREINER die Verstoffwechselung von Keratin-Azurblau in Testmedien für die meisten Mitglieder der Familie der Onygenales (SCOTT und UNTEREINER 2004).

Nicht allein die oben genannten Keratinasen ermöglichen, dass eine Infektion und damit auch das Eindringen in tiefere Hautschichten stattfinden kann. Bei der Adhäsion und Invasion sind weitere Enzyme und Mechanismen von Bedeutung. Es bestehen dabei auch innerhalb der Dermatophyten gravierende Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies. So diskutierten CAFARCHIA et al. (2012), ob sich *T. mentagrophytes* und *M. canis* in ihrer Enzymproduktion unterscheiden. Es konnten Unterschiede bei der in-vitro-Enzymproduktion von *T. mentagrophytes* und *M. canis* bei Zuchthasen festgestellt werden. Im Falle einer *Trichophyton*-Infektion (mit Läsionen und ohne) konnten fünf Enzyme (Keratinase, Lipase, DNase, Elastase

und Gelatinase) bei den Isolaten nachgewiesen werden. *M. canis* Stämme produzierten keine Elastase und keine Gelatinase (CAFARCHIA et al. 2012). Im Gegensatz dazu konnten VIANI et al. (2001) bei Katzen eine Elastase-Aktivität bei *M. canis* feststellen. VIANI et al. (2001) konnten keinen statistisch signifikanten Unterschied bei den Aktivitäten der DNase, Elastase und der Lipase bei asymptomatischen und symptomatischen Hunden beziehungsweise Katzen nachweisen. Hingegen konnte für die Keratinase bei symptomatischen Tieren eine signifikant höhere Aktivität festgestellt werden (VIANI et al. 2001). In Untersuchungen von VIANI et al. (2007) konnte gezeigt werden, dass die Keratinase und die Elastase von *M. canis*-Stämmen statistisch signifikant höhere mittlere Aktivitäten bei Katzen mit Symptomen zeigten. Die Aktivitäten der Kollagenase ließen keine statistisch signifikanten Unterschiede erkennen (VIANI et al. 2007). Die Charakterisierung und Identifizierung der verschiedenen Enzyme bei sowohl symptomatischen als auch asymptomatischen Tieren verschiedener Tierarten ist bis heute nicht abgeschlossen.

Untersuchungen von STAIB et al. (2010) an *Arthroderma benhamiae* zeigen, dass erhebliche Unterschiede zwischen der Genexpression *in vitro* und der Genexpression *in vivo* bestehen. Hinzu kommt, wie am Beispiel von *T. mentagrophytes* durch SHI et al. (2016) gezeigt werden konnte, dass die für die Virulenz verantwortlichen Gene sich untereinander beeinflussen. Die Ausschaltung eines Gens hat Einfluss auf die Expression anderer Gene. Außerdem ist die Ausschaltung einzelner Gene ein möglicher Ansatzpunkt für die Regulation der Immunantworten (SHI et al. 2016). Des Weiteren sind nicht nur die erregerspezifischen Eigenschaften ausschlaggebend für eine Infektion, auch Umweltfaktoren bedingen unter anderem die Keimung von Arthrosporen (HASHIMOTO und BLUMENTHAL 1977). In reichhaltigen Medien wie Sabouraud-Dextrose Agar keimen sowohl frische als auch tiefgefrorene Arthrosporen relativ schnell aus. Außerdem ist es möglich, ruhende Sporen auf eine Art zu konditionieren, indem man sie in destilliertem Wasser bei 25 °C für 24 Stunden ruhen lässt (HASHIMOTO und BLUMENTHAL 1977).

## **2.2 Dermatophytose bei Hunden und Katzen**

### **2.2.1 Erregerspektrum bei Hunden, Katzen und Prävalenzen der Erreger**

Bei Hunden treten vorzugsweise Infektionen mit *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* und *Trichophyton mentagrophytes* auf (CABAÑES et al. 1997; SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969). Bei Katzen treten vor allem Infektionen mit *Microsporum canis* auf (SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969).



## Literaturübersicht

Je nach klimatischen, geografischen und individuellen Zusammenhängen sind bei Dermatophyten unterschiedliche Prävalenzen in verschiedenen Regionen der Welt zu finden. Bei der Untersuchung von Katzen mit Hautläsionen werden andere Prävalenzen festgestellt als bei Tieren ohne Läsionen (CABAÑES et al. 1997; CAFARCHIA et al. 2006). Weiterhin findet man bei Gruppenuntersuchungen in Tierheimen oder Katzenpensionen andere Ergebnisse als bei Einzeltier-Untersuchungen (BAXTER 1973; CARLOTTI et al. 2010). In Tierheimen und Tierpensionen besteht ein deutlich höherer Infektionsdruck als in Einzeltierhaltungen.

In einer Schweizer Studie in den Jahren 2006 bis 2007 konnten folgende Prävalenzen bei Katzen mit Hautläsionen festgestellt werden: *M. canis* trat mit 66 % und *Arthroderma vanbreuseghemii* mit 34 % bei den untersuchten Katzen auf. Außerdem zeigte sich, dass höchstwahrscheinlich ein Zusammenhang zwischen einer *Arthroderma vanbreuseghemii*-Infektion und dem Freigang- beziehungsweise dem Jagdverhalten von Katzen besteht (DROUOT et al. 2009). In Nigeria konnten in den Jahren 2006 bis 2009 in einer Studie bei domestizierten Tieren mit Hautveränderungen bei 61 % ( $n = 77$ ) der untersuchten Katzen Dermatophyten nachgewiesen werden (NWEZE 2011). *M. canis* war mit 53,2 % am häufigsten vertreten. *T. mentagrophytes* konnte bei 36,2 % nachgewiesen werden. *T. verrucosum* war lediglich bei 4,3 % der positiven Tiere nachweisbar. *T. equinum*, *M. gypseum* und *M. canis* var. *equinum* (Synonym: *M. equinum*) konnten lediglich bei 2,1 % der positiven Katzen nachgewiesen werden (NWEZE 2011). Werden Dermatophyten verdächtige Proben untersucht, stellen sich zumeist höhere Prävalenzen heraus (CABAÑES et al. 1997). So untersuchten CAFARCHIA et al. (2006) in Italien Katzen ohne äußere Anzeichen von Hautläsionen beziehungsweise zurückliegenden dermatophytären Erkrankungen, dabei konnten bei 28 % der untersuchten Katzen Dermatophyten nachgewiesen werden. Weiterhin konnten CAFARCHIA et al. (2006) das Auftreten von humanen Tinea-Infektion der Besitzer mit dem Trägerstatus der Haustiere in einen Zusammenhang bringen. In Haushalten, in denen der Besitzer Anzeichen einer Dermatophytose durch *M. canis* aufwies, konnte bei 53,6 % der Katzen auch *M. canis* nachgewiesen werden. Ein deutlicher Unterschied der Prävalenzen von *M. canis* zeigt sich in Haushalten von Besitzern ohne dermatophytäre Infektion, hier waren lediglich 14,6 % der Katzenproben mit Dermatophyten belastet (CAFARCHIA et al. 2006). Vor allem im Bereich der Katzenbestände kommt es häufig zu einem endemischen Auftreten von *M. canis*-Infektionen. Besonderes Augenmerk muss auf Tiergruppen gelegt werden, welche auf kleinstem Raum mit kaum räumlicher Trennung voneinander leben. Untersuchungen von MORIELLO und DEBOER (1991) zeigten verschiedene Entwicklungen von Katzenbeständen mit *M. canis*-Infektionen und ohne Infektionen auf. Sie zeigten, dass in einem Bestand, der in der Vergangenheit nie

## Literaturübersicht

Probleme mit *M. canis* hatte, auch keine Dermatophyten nachgewiesen werden konnten. Es konnten lediglich Saprophyten wie *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. und *Trichoderma* sp. nachgewiesen werden (MORIELLO und DEBOER 1991). In Katzenbeständen, welche in der Vergangenheit Probleme mit *M. canis* Infektionen hatten, kam es zu einer Etablierung der Infektion bei allen Katzen. In einigen Fällen war *M. canis* der einzige Erreger, welcher in der Kultur nachgewiesen werden konnte (MORIELLO und DEBOER 1991).

KOCH (2012) untersuchte in ihrer Dissertation das Dermatophytenspektrum bei Streunern und Heimtieren. Das Ergebnis ihrer Untersuchungen zeigte eine deutlich geringere Prävalenz von Dermatophyten bei Katzen in einem Berliner Tierheim. Bei lediglich 12,5 % der Katzen konnten Dermatophyten nachgewiesen werden. Bei 2,8 % der Katzen konnte *M. canis* identifiziert werden. Unter den anderen nachgewiesenen Dermatophyten waren *T. rubrum*, *T. ajelloi* und *T. terrestre* (KOCH 2012).

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht über verschiedene Studien aus einigen Ländern zum Vorkommen von Dermatophyten bei Katzen.

## Literaturübersicht

Tabelle 2: Übersicht über das Vorkommen von Dermatophyten bei Katzen in verschiedenen Regionen der Welt

	Dermato- phyten	<i>M. canis</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>Arthroderma vanbreuseghemii</i>
Spanien 1986-95 Katzen mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 56) CABAÑES et al. (1997)	19 (34 %)	12 (63 %)	k.A.	k.A.	k.A.
Schweiz 2006-07 Katzen mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 140) DROUOT et al. (2009)	41 (30 %)	27 (66 %)	k.A.	k.A.	14 (34 %)
Nigeria 2006-09 Katzen mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 77) NWEZE (2011)	47 (61 %)	25 (53 %)	17 (36 %)	1 (2 %)	k.A.
Italien 1999-2005 Katzen ohne Hautveränderungen ( <i>n</i> = 248) CAFARCHIA et al. (2006)	70 (28 %)	58 (23 %)	k.A.	4 (1,6 %)	k.A.
Deutschland 2010-2011 Katzen im Tierheim ( <i>n</i> = 144) KOCH (2012)	18 (12,5 %)	4 (2,8 %)	k.A.	k.A.	k.A.
k.A. keine Angabe					

In einer Studie in den USA im Zeitraum Januar 1956 bis Juni 1957 wurden bei Hunden mit mykologisch verdächtigen Hautläsionen insgesamt 1659 Proben untersucht. Es konnten bei 15,19 % der Proben *M. canis* und in 4,1 % der Proben *M. gypseum* isoliert werden (KAPLAN et al. 1958). BAXTER (1973) nahm in den Jahren 1969 bis 1971 in einer Klinik für Kleintiere von den eingelieferten Patienten (*n* = 1742) Proben. Es galt, die Prävalenzen für Infektionen mit *M. canis* in der Region Palmerston Nord Neuseeland herauszufinden. Bei 1,3 % der Hunde konnten Dermatophyten nachgewiesen werden (BAXTER 1973).

In einer Schweizer Studie konnten Angaben zur Prävalenz von *M. canis* und *Arthroderma vanbreuseghemii* ermittelt werden. Von den 113 teilnehmenden Hunden mit Hautläsionen waren nach direkter mykologischer Untersuchung 7,08 % kulturell Dermatophyten positiv. In 12,5 % der Dermatophyten positiven Kulturen konnte *M. canis* nachgewiesen werden und in 87,5 % der Dermatophyten positiven Kulturen konnte *Arthroderma vanbreuseghemii* als teleomorphe Form von *T. mentagrophytes* nachgewiesen werden (DROUOT et al. 2009). Untersuchungen in Nigeria zeigen folgende Prävalenzen bei Hunden mit Hautläsionen: Dort waren Infektionen mit *M. canis* (mit 75 % aller dermatophytären Infektionen) vorherrschend, gefolgt von *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* und seltener *M. persicolor* (NWEZE 2011). In Indien zeigten von insgesamt 211 getesteten Hunden 42,18 % der Tiere positive Dermatophyten-Kulturen. Ausgehend von diesen Proben wurde für *T. mentagrophytes* mit 53 Tieren eine Prä-

## Literaturübersicht

valenz von 59,6 % festgestellt. *M. canis* konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden (RANGANATHAN et al. 1998).

Davon abweichend fanden CAFARCHIA et al. (2004) positive Dermatophyten-Nachweise bei 20,5 % der Hunde im Süden Italiens. *M. canis* war im Jahr 2004 mit 74,5 % der am häufigsten nachweisbare Dermatophyt (CAFARCHIA et al. 2004). Bei den Untersuchungen im Jahr 2006 waren erneut 20,5 % der untersuchten Hundeproben ( $n = 136$ ) Dermatophyten positiv. Es zeigte sich folgende Verteilung: *Trichophyton terrestre* 8,8 %, *M. gypseum* 7,4 % und *M. canis* mit 5,9 %. Die Untersuchung wurde bei asymptomatischen Hunden im Süden Italiens durchgeführt (CAFARCHIA et al. 2006). Im Jahr 2004 wurden Tiere mit Hautläsionen und im Jahr 2006 wiederum Hunde ohne Läsionen untersucht. In Tabelle 3 sind verschiedene Studien zur Prävalenz von Dermatophyten bei Hunden in einer Übersicht zusammengestellt. Auffallend ist, dass bezüglich der Erregerspektren regionale Unterschiede bestehen. Klimafaktoren wie beispielsweise Temperatur und Luftfeuchtigkeit scheinen die Prävalenzen zu beeinflussen.

## Literaturübersicht

Tabelle 3: Übersicht über das Vorkommen von Dermatophyten bei Hunden in verschiedenen Regionen der Welt

	Dermatophyten	<i>M. canis</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>Arthroderma vanbreuseghemii</i>
USA 1956-57 Hunde mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 1659) KAPLAN et al. (1958)	k.A.	252 (15,2 %)	41 (2,47 %)	68 (4,1 %)	k.A.
Italien 1999-2003 Hunde mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 268) CAFARCHIA et al. (2004)	55 (20,5 %)	41 (74,5 %)	1 (1,8 %)	4 (7,3 %)	k.A.
Schweiz 2006-07 Hunde mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 113) DROUOT et al. (2009)	8 (7,08 %)	1 (12,5 %)	k.A.	k.A.	7 (87,5 %)
Nigeria 2006-09 Hunde mit Hautveränderungen ( <i>n</i> = 105) NWEZE (2011)	52 (49,5 %)	39 (75 %)	9 (17,5 %)	k.A.	k.A.
Neuseeland 1969-71 Hunde mit u. ohne Hautveränderungen ( <i>n</i> = 1742) BAXTER (1973)	23 (1,3 %)	23 (1,3 %)	k.A.	k.A.	k.A.
Indien Hunde mit u. ohne Hautveränderungen ( <i>n</i> = 211) RANGANATHAN et al. (1998)	89 (42,2 %)	k.A.	53 (59,6 %)	29 (32,6 %)	k.A.
k.A. keine Angaben					

### 2.2.2 Übertragungswege

Bei der Übertragung von Dermatophyten spielen der direkte Kontakt und die indirekte Übertragung infizierter Haare oder Schuppen eine Rolle. Abiotische Vektoren wie beispielsweise Gegenstände können ebenso für eine indirekte Übertragung verantwortlich sein (MANCIANTI et al. 2003). Biotische Vektoren wie Milben, Flöhe, Läuse und Fliegen können auch zu einer Übertragung von Pilzelementen führen (BECK und CLARK 1998).

Zoophile Spezies wie *M. canis* oder *T. mentagrophytes* besiedeln zumeist Tiere. Jedoch verursachen sie bei Menschen hoch entzündliche Infektionen (WEITZMAN und SUMMERBELL 1995). Die Übertragung zoophiler Dermatophyten erfolgt zumeist direkt vom Tier auf den Menschen. Katzen sind ein ausschlaggebender Ursprung für die Kontamination der Umgebung mit infektiösfähigen Pilzelementen (MANCIANTI et al. 2003). Hunde hingegen besitzen eine untergeordnete Rolle bei der Umgebungskontamination (MANCIANTI et al. 2003).

Für anthropophile Dermatophyten wie *Trichophyton tonsurans* verläuft die Übertragung entgegengesetzt vom Menschen auf das Tier (BRILHANTE et al. 2006).

Manche Untersuchungen stellten heraus, dass durchaus auch eine reverse Transmission möglich zu sein scheint. So konnte *T. rubrum* (anthropophil) bei domestizierten Tieren nachgewiesen werden. Zusätzlich konnten im familiären Umfeld dieser Tiere positive Nachweise für *Tinea corporis* und *Tinea pedis* Infektionen durch *T. interdigitale* (anthropophil) geführt werden (RANGANATHAN et al. 1998).

In einigen Fällen kann die phänotypische Übereinstimmung von Pilzen (*Trichophyton rubrum*) untermauert werden durch die Analyse der ITS1-5.8S-ITS2 Region der Isolate. *T. rubrum* war in diesem Fall Ursache einer Infektion bei einem Hund, dessen Besitzer zuvor an *Tinea pedis* litt, aber zum Zeitpunkt der Untersuchung keine klinischen Symptome zeigte (VAN ROOIJ et al. 2012).

### 2.2.3 Symptomlose Sporenträger

Betrachtet man die Dermatophyten-Prävalenzen bei Untersuchungen an symptomlosen Tieren, ist davon auszugehen, dass ein hohes Risiko besteht, infektiöse Agenzien vom Tier auf den Menschen zu übertragen (CAFARCHIA et al. 2006). Bei einer saisonalen Studie von CABAÑES et al. (1996) in Barcelona konnten bei 8,14 % ( $n = 172$ ) der untersuchten Tiere Dermatophyten im Fell festgestellt werden. Die Hunde zeigten jedoch keinerlei Hautveränderungen, welche auf eine Infektion schließen ließ (CABAÑES et al. 1996).

Von großer Bedeutung bei der Verbreitung von Dermatophyten sind asymptomatische Katzen. Die Bedeutung asymptomatischer Sporenträger wurde unter anderem tiefgründig von CAFARCHIA et al. (2006) untersucht. In Italien in der Region Bari untersuchten die Autoren Proben von Hunden und Katzen. Asymptomatische Katzen zeigten eine Prävalenz von 23,4 % ( $n = 248$ ) für *M. canis*. 53,57 % der Katzen ( $n = 56$ ) waren für *M. canis* positiv, wenn auch bei ihren Besitzern ein positiver Nachweis erbracht werden konnte. Litten die Besitzer nicht an einer Mikrosporie, so lag die Nachweisrate für *M. canis* bei den untersuchten Katzen lediglich bei 14,6 % ( $n = 192$ ). Es zeigt sich ein direkter Zusammenhang zwischen dem Nachweis zoophiler Dermatophyten-Erkrankungen beim Menschen und dem Zusammenleben mit Trägartieren (CAFARCHIA et al. 2006; IORIO et al. 2007; MANCIANTI et al. 2003). In Untersuchungen von IORIO et al. (2007) ließ sich eine höhere Prävalenz von *M. canis* bei adulten Katzen aus privaten Haushalten ohne erkennbare Läsionen im Gegensatz zu unter einem Jahr alten Katzen aus privaten Haushalten nachweisen. 16,66 % der über einem Jahr alten Katzen ( $n = 72$ ) in privaten Haushalten zeigten positive Dermatophyten-Nachweise. Lediglich für

eine Katze, also bei 3,57 % ( $n = 28$ ) der unter einem Jahr alten Katzen in privaten Haushalten konnte ein positiver Dermatophyten-Nachweis geführt werden (IORIO et al. 2007). Hingegen konnten für streunende Katzen durch IORIO et al. (2007) deutlich höhere Prävalenzen in beiden Altersgruppen festgestellt werden. Insbesondere bei den streunenden Katzen konnte durch IORIO et al. (2007) festgestellt werden, dass 100 % der untersuchten und Dermatophyten positiven Tiere keine Symptome einer Dermatophytose zeigten.

Generell liegen die Nachweisraten von *M. canis* bei Hunden meist unter denen von Katzen. Somit ist davon auszugehen, dass Hunde eine geringere Rolle als asymptomatische Dermatophytenträger spielen. So konnten CAFARCHIA et al. (2006) in einer Besitzergruppe, welche keinerlei *M. canis* Infektionen zeigte, bei den dazugehörigen Hunden ebenfalls keinerlei *M. canis* nachweisen (CAFARCHIA et al. 2006).

Beim Zusammenleben von Mensch und Tier ist davon auszugehen, dass ebenso von Kleintieren wie Meerschweinchen oder Kaninchen eine zoonotische Gefahr, vor allem für Kinder, ausgehen kann. *T. mentagrophytes* als zoophiler Erreger konnte in einer Untersuchung von KRAEMER et al. (2012) bei 91,6 % der untersuchten Meerschweinchen ( $n = 431$ ) und bei 72,3 % der untersuchten Kaninchen ( $n = 83$ ) nachgewiesen werden (KRAEMER et al. 2012). Zusätzlich konnten KRAEMER et al. (2012) bei 8,5 % der vermeintlich gesunden Meerschweinchen *T. spp.* nachweisen. *Trichophyton sp.*, welche zur *A. benhamiae* / *T. benhamiae* Serie gehören, werden zunehmend für humane Infektionen mit zoophilen Dermatophyten verantwortlich gemacht (DROUOT et al. 2009; NENOFF et al. 2013).

### **2.2.4 Einflussfaktoren auf die Ausbildung einer Dermatophytose**

Es ist von großer Bedeutung, die Gesamtsituation der Tiere zu analysieren. So ist nicht nur allein das Tier oder der Erreger von Interesse, sondern auch das Zusammenleben von Mensch und Tier, die sozialen Kontakte unter Artgenossen sowie Klima und Umgebung sind von Bedeutung. Verschiedene Studien zeigen, dass Umweltfaktoren einen teilweise signifikanten Einfluss auf die Etablierung spezifischer Erkrankungen haben. Eine Vielzahl äußerer Faktoren beeinflusst eine Infektion mit Dermatophyten.

Temperaturen über 20 °C, kombiniert mit einer Luftfeuchtigkeit von 62 - 65 %, zeigte in Hasen-Farmen einen statistisch signifikanten Zusammenhang für die Prävalenz von positiven Dermatophyten-Kulturen (CAFARCHIA et al. 2010). Ein weiterer Faktor beziehungsweise Risikofaktor ist die Belastung der Umgebung mit infektiösem Material und das Vorhandensein von symptomlosen Sporenträgern (CAFARCHIA et al. 2010). Möglicherweise spielt auch die unmittelbare Nähe zu anderen, ähnlichen Einrichtungen eine Rolle. Das Verbringen

von Materialien sowie der Wechsel von Mitarbeitern zwischen den Einrichtungen kann zur Übertragung von Infektionen führen (CAFARCHIA et al. 2010).

Neben den äußeren Faktoren beeinflussen auch innere Faktoren das Auftreten von Erkrankungen. So ist der intakte Zustand der äußeren Haut von enormer Bedeutung. Bei Untersuchungen von humanen Dermatophyten-Infektionen zeigte sich, dass die äußere Haut als biologische Barriere eine wichtige Rolle spielt. Ein Zustand, der beim Menschen als Xerosis (trockene Haut) beschrieben wird, scheint ein prädisponierender Faktor für eine Infektion mit Dermatophyten beim Menschen zu sein (QADIM et al. 2013). Auch MORIELLO und DEBOER (1991) vermuteten bereits einen direkten Zusammenhang zwischen der intakten Zusammensetzung der Haut und dem Auftreten von Infektionen. Häufiges Waschen oder die Anwendung falscher Pflegemittel kann nicht nur beim Menschen Hautveränderungen hervorrufen (KOWNATZKI 2003). Ausgehend von der Erforschung der mikrobiellen Besiedlung und Zusammensetzung der Mikrobiota der menschlichen Haut ist davon auszugehen, dass die Veränderungen des Hautmikrobioms großen Einfluss auf die lokale immuntypische Abwehr haben können (SANFORD und GALLO 2013).

Weiterhin ist ein Organismus anfälliger gegenüber einer Infektion, wenn dieser durch eine bereits bestehende oder vorangegangene Erkrankung geschwächt ist. Abgeheilte Dermatophytosen oder Diabetes mellitus scheinen als Risikofaktoren für humane Infektionen eine Rolle zu spielen (PAPINI et al. 2015). Für Tiere sind diese prädisponierenden Faktoren ebenfalls mit in Betracht zu ziehen. Bei Katzen konnte gezeigt werden, dass Tiere, welche mit dem Felinen Immunodefizienz-Virus infiziert sind, eine signifikant höhere Infektionsrate mit *M. canis* aufzeigten (MANCIANTI et al. 1992). Im Gegensatz dazu konnten MIGNON et al. (1997) diesen Zusammenhang nicht nachweisen, wobei die mit dem Felinen-Immunodefizienz-Virus infizierten Katzen mit  $n = 2$  einen sehr geringen Bestand im Vergleich zu den nicht mit dem Felinen-Immunodefizienz-Virus infizierten Katzen mit  $n = 132$  darstellten (MIGNON und LOSSON 1997).

### 2.2.5 Erkrankungsformen

Eine *M. canis*-Infektion bei Katzen und Hunden ist zumeist an kreisrunden, haarlosen Stellen mit einer marginalen Rötung zu erkennen. Weiterhin können Krusten und Schuppen auftreten (BOND 2010). *T. mentagrophytes* verursacht zumeist stärkere Entzündungen der Haarfollikel bis hin zur Furunkulose. Als Differentialdiagnose sollte die Dermatophytose bei allen Hauterkrankungen in Betracht gezogen werden, welche mit Haarausfall, Rötung, Papeln und Krusten einhergehen (BOND 2010). Zumeist sind Infektionen mit Dermatophyten durch eindeutige



Läsionen geprägt. Diese messen beim Hund etwa 10 bis 40 mm. Als mögliche Differentialdiagnosen bei jungen Hunden sollten die bakterielle Haarfollikelentzündung und die Demodikose in Betracht gezogen werden (CHERMETTE et al. 2008). Eine besondere Form stellt die kanine nodulare (knötchenartige) Dermatophytose, auch Kerion genannt, dar. Ein Kerion tritt im Zusammenhang mit *T. mentagrophytes*-, *M. canis*- und *M. gypseum*-Infektionen auf (CHERMETTE et al. 2008). Das klinische Erscheinungsbild eines Kerion weicht von einer typischen Dermatophytose ab. Oft treten einzelne knötchenartige Läsionen in der Haut von Gesicht oder den Gliedmaßen auf (CHERMETTE et al. 2008). Differentialdiagnostisch sollten neoplastische Veränderungen in Betracht gezogen werden (CHERMETTE et al. 2008; CORNEGLIANI et al. 2009).

Das klinische Erscheinungsbild bei Katzen ist zumeist die miliare Dermatitis. Sie geht einher mit multifokalen papulären krustigen Erhabenheiten. Weitere Formen sind Akne am Kinn und Pseudomyzetome. Bei Katzen treten häufig klinisch gesunde, aber infizierte Tiere auf (BOND 2010). Zu den hauptsächlich betroffenen Körperregionen zählen unter anderem die Vordergliedmaßen, der Kopf mit den Ohren sowie die Lendenregion. Bei manchen Tieren kann eine Hyperpigmentation einzelner Körperpartien beobachtet werden (DROUOT et al. 2009).

### **2.2.6 Zoonoserisiko**

Die Gefahr der Übertragung von Infektionserregern von Tieren auf Menschen ist in vielen Bereichen des täglichen Lebens gegeben, insbesondere dort, wo ein intensiver Kontakt vorkommt. Um den Ursprung einer möglichen dermatophytären zoonotischen Infektion aufdecken zu können, sollte bei der Untersuchung der klinischen Fälle eine genaue Spezies-Diagnose erfolgen. In Neuseeland beruhen beispielsweise etwa 20 % der Dermatophytosen beim Menschen auf Infektionen durch zoophile Dermatophyten (PIER et al. 1994).

Greift man neben den klassischen Verfahren zur Identifikation von Dermatophyten auf DNA-basierte molekulare Methoden zurück, kann die Chance einer korrekten Diagnose signifikant erhöht werden (WIEGAND et al. 2016). Dies bietet im Nachfolgenden die größten Erfolgsaussichten einer korrekten Behandlung (NENOFF et al. 2007).

Abgesehen von der Bedeutung den Ursprung einer Zoonose ausfindig zu machen, besitzen individuelle Charakteristika der jeweiligen Wirte beziehungsweise Fehlwirte enormen Einfluss auf die Ausprägung einer Infektion. So könnten Kinder möglicherweise empfänglicher für eine Infektion sein als Erwachsene. DE LAMATER (1942) untersuchte den Einfluss des Alters auf die Ausbildung allergischer Hautreaktionen bei Meerschweinchen. Bei der Ausbildung einer Allergie auf Dermatophyten bestimmen verschiedene Reifungsfaktoren den Pro-

zess. Schon 1942 beobachtete DE LAMATER, dass jüngere Tiere empfänglicher für bestimmte Dermatophyten-Infektionen sind als ältere Tiere (DE LAMATER 1942). Weiterhin zeigen Untersuchungen an *T. mentagrophytes*, dass in 50 % der Haushalte ausschließlich Kinder betroffen waren. In vier von 18 Haushalten waren Erwachsene und Kinder betroffen (KRAEMER et al. 2013). Oft sind die Ursprünge einer Infektion die Haustiere. Bei Meerschweinchen oder Hasen treten zumeist *T. mentagrophytes* und *T. benhamiae* Infektionen auf (CABAÑES et al. 1997; DROUOT et al. 2009). Bei Hunden und Katzen tritt am häufigsten *M. canis* auf (PIER et al. 1994). KRAEMER et al. (2013) zeigten in einer Studie in München, dass Menschen, die zusammen mit Trichophytie-positiven Meerschweinchen, lebten, ein durchaus höheres Risiko hatten ebenfalls zu erkranken. Neben dem Zusammenleben von Mensch und Tier sind bestimmte Berufsgruppen besonders exponiert und gefährdet.

„In der tierärztlichen Sprechstunde, bei Haus- und Hofbesuchen in landwirtschaftlichen Betrieben treten von Zeit zu Zeit Fälle auf, bei denen Tierbesitzer, Tierpfleger, Melker und andere mit Tieren in Kontakt gekommene Personen über erythematöse Hautveränderungen klagen.“ (BECK und CLARK 1998)

Weiterhin geht eine erhöhte zoonotische Gefahr von jungen Katzen (unter einem Jahr) aus. Besonders von jungen Tieren erfolgt eine maßgebliche Kontamination der Umgebung (MANCIANTI et al. 2003). Trotzdem sind infizierte, adulte Katzen ebenso für die Kontamination der Umgebung ihrer Besitzer und auch möglicherweise für deren Infektion mit *M. canis* verantwortlich (MANCIANTI et al. 2003). KAPLAN et al. (1958) untersuchten die allgemeine Bedeutung der feline Dermatophytose, ihren Einfluss auf die öffentliche Sicherheit und das von ihr ausgehende Zoonose-Risiko. So zeigte sich, dass bei 200 untersuchten Katzen 63 familiäre Fälle einer entsprechenden Tinea nachweisbar waren (KAPLAN et al. 1958). Somit konnten die Autoren schlussfolgern, dass eine zoonotische Gefahr sowohl von juvenilen als auch von adulten Tieren ausgehen kann. Zusammenfassend scheint es, dass zoophile Dermatophyten ein signifikanter Grund für Dermatophyosen beim Menschen in vielen Regionen der Welt sind.

### **2.3 Die Immunantwort des Wirtes**

#### **2.3.1 Die unspezifische angeborene Immunantwort**

Die verschiedenen Stufen der Immunabwehr werden durch eine primäre Besiedlung der oberflächlichen Haut Schritt für Schritt aktiviert.

Betrachtet man die unspezifische angeborene Immunantwort des Wirtes, so sind ausgehend von den epidermalen Zellen eine Reihe Abwehrmechanismen vorhanden. Neben der mechanischen Barriere der Haut gibt es eine Vielzahl von Abwehrmöglichkeiten der Wirte, um einer Infektion mit Dermatophyten entgegenzuwirken. So kommt es im Randgebiet von humanen dermatophytären Läsionen zu einer erhöhten epidermalen Turn-over Rate. Die Keratinozyten reagieren direkt mit einer gesteigerten Zellteilungsrate auf die Besiedlung mit Dermatophyten (BERK et al. 1976). Erfolgt ein Kontakt der Keratinozyten mit bestimmten Antigenen, so werden spezifische Rezeptoren stimuliert. Es folgt die Sezernierung von Zytokinen. Diese wirken aktivierend, modulierend und regulierend auf die gesamte Immunantwort. Man unterscheidet pro-inflammatorische und anti-inflammatorische Zytokine. Zur erstgenannten Gruppe gehören beispielsweise Interleukine (IL-1, IL-6 und IL-12) sowie der Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Zu den anti-inflammatorischen Zytokinen zählt man IL-10 und IL-4. Zytokine regulieren somit ausgehend von einem lokalen Infektionsprozess eine Immunreaktion. Systemische Wirkungen von Zytokinen sind beispielsweise die Induzierung von Fieber, die Neubildung und Migration von Lymphozyten aus dem Knochenmark und eine vermehrte Freisetzung von Akute-Phase-Proteinen. Ausgehend von lokal begrenzten Infektionen wie beispielsweise Dermatophyten-Infektionen werden systemisch wirksame Botenstoffe ausgeschüttet. So zeigte der erste Kontakt von *Trichophyton* sp. mit Keratinozyten des Stratum corneum eine Induzierung der Zytokinproduktion, insbesondere konnten IL-8 und das growth related oncogen- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ ) nachgewiesen werden (TANI et al. 2007). Für *T. mentagrophytes* wurde außerdem die Produktion vom Tumornekrosefaktor- $\alpha$  und dem Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (GM-CSF) induziert (TANI et al. 2007). So führt die Synthese von IL-8 unter anderem zur Aktivierung von neutrophilen Granulozyten. Deren Aufgabe ist es Antigene zu phagozytieren oder sie durch Exozytose von Stoffen aus ihren Granula zu zerstören. TNF- $\alpha$  tritt bei Entzündungen jeglicher Art auf und ist zur Aktivierung von Makrophagen imstande. Diese spielen während der gesamten Infektion eine wichtige Rolle. Neben Phagozytose und Antigenpräsentation sind Makrophagen auch für den Abtransport von Zelldetritus verantwortlich. Die im Gewebe vorhandenen Makrophagen spielen eine Schlüsselrolle bei der Initiation der erworbenen Immunantwort durch die angeborene Immunantwort. Sie phagozytieren die eingedrungenen Mikroorganismen, werden aktiviert, sezernieren TNF- $\alpha$ , IL-1, -6, -8 und beginnen, die phagozytierten Antigene den anderen Immunzellen zu präsentieren. Des Weiteren sind Keratinozyten in der Lage, verschiedene Zytokine in Abhängigkeit von der eindringenden Dermatophyten-Spezies zu produzieren. Anthropophile Spezies verursachen beim Menschen weniger stark ausgeprägte entzündliche Immun-

## Literaturübersicht

reaktionen als zoophile Spezies. Unterschiedliche Virulenzen rufen ebenso unterschiedlich starke Immunreaktionen hervor (TANI et al. 2007). SHIRAKI (2006) zeigte für zoophile Dermatophyten der *Arthroderma benhamiae* / *T. benhamiae* Serie intensivere Entzündungsvorgänge und Abwehrreaktionen beim Menschen als anthropophile Spezies wie *T. tonsurans*. Die nachweisbaren Zytokine umfassten in dieser Untersuchung: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17 und IFN- $\gamma$  (Interferon- $\gamma$ ) für *T. benhamiae*. Für *T. tonsurans* waren lediglich Eotaxin-2, IL-8 und IL-16 nachweisbar (SHIRAKI 2006).

Im Rahmen der angeborenen Immunantwort sind verschiedene Zellen und Rezeptoren von Bedeutung. Neben den Keratinozyten der Haut sind auch Langerhans-Zellen, welche zur Gruppe der dendritischen Zellen gehören, im Verlauf der Immunabwehr von großer Bedeutung. Ihre Aufgabe besteht vor allem in der Antigenpräsentation gegenüber den T-Lymphozyten (BRAATHEN und KAAMAN 1983). Neutrophile Granulozyten, Makrophagen und die bereits genannten dendritischen Zellen stellen die zelluläre Komponente der angeborenen Immunantwort dar (IWASAKI und MEDZHITOV 2010). Diese antigenpräsentierenden Langerhans-Zellen werden durch die Anwesenheit und die Reaktion von Keratinozyten auf Antigene stimuliert. Über einen Liganden für den Toll-like Rezeptor-9 (TLR-9) steigt die Fähigkeit der Langerhans-Zellen zur Antigenpräsentation gegenüber den T-Zellen (SUGITA et al. 2007). Das Erkennen von pathogenen Strukturen auf Oberflächen von Antigenen erfolgt über sogenannte pattern-recognition-receptors (PRR). Diese befinden sich unter anderem auf den Oberflächen von Immunzellen in löslicher Form oder intrazellulär. Verschiedene Typen und Subtypen sind dazu in Lage, spezifisch Oberflächenantigene von Bakterien, Viren und Pilzen, sogenannte pathogen-associated-molecular-pattern (PAMP), zu erkennen und zu binden. Eine bedeutende Gruppe innerhalb dieser Rezeptortypen stellen die Toll-like Rezeptoren (TLR) dar. Bei menschlichen Keratinozyten konnten LEBRE et al. (2007) mRNA für eben diese Rezeptoren nachweisen. Es ist von einer Expression der TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-9 und TLR-10 auszugehen (LEBRE et al. 2007). Sind die TLR mit pathogenen Trigger-Substanzen konfrontiert, erfolgt eine spezifische Ausschüttung von Chemokinen, welche entsprechende Mechanismen der Immunabwehr aktivieren oder hemmen (LEBRE et al. 2007). In den Untersuchungen von GANTNER et al. (2003) konnte gezeigt werden, dass Interaktionen beziehungsweise eine Zusammenarbeit zwischen den PRR, wie TLR-2 und Dectin-1, vorhanden ist. Inwieweit die Rezeptoren der unspezifischen Immunantwort zusammen oder gegeneinander arbeiten, bleibt zukünftigen Studien überlassen (GANTNER et al. 2003).

Neben den beschriebenen Zusammenhängen spielt auch die Aktivierung der angeborenen humoralen Immunantwort insbesondere der alternative Weg des Komplementsystems eine Rolle bei den ersten Immunreaktionen des Körpers. Die Komponente C3b wird dabei unabhängig von der C3-Konvertase beim Kontakt mit Mikroorganismen gebildet. Sie lagert sich als Opsonin an deren Oberflächen und kennzeichnet diese für spätere Effektormoleküle oder Zellen (KOZEL 1998). Im späteren Verlauf erfolgt die Lyse und Phagozytose der opsonierten Mikroorganismen.

Ein weiterer Bestandteil der unspezifischen Immunabwehr sind antimikrobielle Peptide (AMP). Diese Effektor-Moleküle (etwa 3 bis 25 kDa) werden proteolytisch aus Vorläufermolekülen synthetisiert und verfügen über weitreichende antibakterielle, antivirale und antifungale Wirkungen bei der angeborenen Immunantwort (BOMAN 2000; IZADPANAHA und GALLO 2005).

BOMAN (2000) schreibt über die Rolle der AMP:

„Antimicrobial peptides are the main effector molecules found in innate immunity.“

Ihre aktive Rolle bei der Abwehr verschiedener Dermatophytenspezies zeigten FRITZ et al. (2012) bei in-vitro Untersuchungen. Die AMP umfassen unter anderem die Gruppen der Cathelicidine und Defensine. Erstgenannte konnten bei Entzündungen und in Keratinozyten nachgewiesen werden, letztere vor allem bei neutrophilen Granulozyten und Epithelzellen (IZADPANAHA und GALLO 2005). Eine ausführliche Abhandlung der Thematik der antimikrobiellen Peptide ist in der Übersichtsarbeit „Innate Immunity and the normal microflora“ von BOMAN (2000) zu finden. Reaktionsmechanismen verschiedener Rezeptortypen auf unterschiedliche Oberflächenstrukturen von Infektionserregern werden unter anderem in Zukunft Bestandteil der Forschung sein, unter ihnen beispielsweise der DC-SIGN Rezeptor, welcher bereits untersucht wurde (SERRANO-GÓMEZ et al. 2005).

### **2.3.2 Die erworbene spezifische Immunantwort**

Ausgehend von der Veröffentlichung „The Dermatophytes“ von WEITZMAN und SUMMERBELL (1995) lassen sich im Großen und Ganzen zwei typische Wege der spezifischen Immunantwort unterscheiden. Auf der einen Seite die zellvermittelte Immunantwort, welche durch eine verzögerte Überempfindlichkeitsreaktion gekennzeichnet ist, auf der anderen Seite die humorale Immunantwort, für die eine sofortige Überempfindlichkeitsreaktion charakteristisch ist. Von den initialen Immunabwehrmechanismen des angeborenen Immunsystems las-

sen sich verschiedene weitere Reaktionswege aufzeigen. So ist anzunehmen, dass jeder einzelne Pilz in Interaktion mit dem jeweiligen Wirt bei einer Infektion eine spezifische Immunreaktion auslöst.

WEITZMAN und SUMMERBELL (1995) gehen davon aus, dass bei Dermatophyten zwei Gruppen von Antigenen insbesondere mitwirken: Glykopeptide und Keratinasen. Untersuchungen von BARKER et al. (1962) zeigten, dass nach Degradation eines Zuckerbestandteils (Galaktose und Mannose) des Trichophytins eine Verminderung der sofortigen humoralen Überempfindlichkeitsreaktion zu beobachten war. Die verzögerte zellvermittelte Überempfindlichkeitsreaktion blieb unverändert (BARKER et al. 1962). Somit ist anzunehmen, dass ein Zuckerbestandteil des Trichophytins für die Induzierung der humoralen Immunantwort über B-Lymphozyten und Plasmazellen verantwortlich ist. Nach dem Ausschalten eines Peptidbestandteils des Trichophytins zeigte sich eine deutlich verminderte Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten zellvermittelten Typ (BARKER et al. 1962). So ist zu vermuten, dass Peptidanteile unter anderem für das Hervorrufen einer zellulären Immunantwort verantwortlich sind.

Bei Untersuchungen in der Humanmedizin konnten HONBO et al. (1984) feststellen, dass sowohl auf die Polysaccharide als auch auf die Proteinantigene von *T. mentagrophytes* adaptive humorale Immunreaktionen vorhanden sind. Die Antikörper reagierten zumeist stärker auf die Polysaccharid-Antigene als auf die Protein-Antigene. Weiterhin konnte das Ausmaß der Hautläsionen im Zusammenhang mit den Titern für Immunglobulin G und A (IgG und IgA) gebracht werden. Die IgE-Antikörper konnten nur im Zusammenhang mit dem Zuckeranteil nachgewiesen werden. Eine Signifikanz war nicht zu erkennen (HONBO et al. 1984).

Ausschlaggebend für weitere Immunreaktionen sind die Prozesse, welche durch das angeborene Immunsystem ausgelöst werden. Beim Übergang von der angeborenen zur erworbenen Immunantwort spielt die Phagozytose von fremdem antigenen Material eine entscheidende Rolle. In Abhängigkeit von den antigenpräsentierenden Zellen (Makrophagen und dendritische Zellen) und deren involvierten Rezeptoren werden verschiedene Mechanismen ausgelöst. So kommt unter anderem den T-Helferzellen (Th) bei der Immunantwort eine maßgebliche Bedeutung zu. Neben den zytotoxischen T-Zellen sind vor allem die Th-1 Zellen für die zelluläre Abwehr von Bedeutung. Die Ausschüttung von IL-2 und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) führt zu einer Aktivierung der Th-1 Zellen und somit zu einer protektiven zellvermittelten Immunreaktion beim Menschen (CRAMERI und BLASER 2002; MIGNON et al. 2008). Außerdem wird eine eingeschränkte IgG-Antikörperproduktion in B-Lymphozyten angeregt. Bei Mäusen erfolgt besonders die Bildung von IgG2a. Das ausgeschüttete IFN- $\gamma$  hemmt direkt die Th-2

## Literaturübersicht

zellvermittelte Immunreaktion (DAY et al. 2004). Diese zellvermittelte Immunreaktion ist gekennzeichnet durch die Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ (DTH). Über die Zytokin-Ausschüttung von unter anderem IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13 werden vermehrt die Th-2 Zellen aktiviert. Dies führt zur Ausreifung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen. IL-4 fördert den Immunglobulin-Isotypenwechsel von IgM und IgD zu IgE und IgG4 beim Menschen sowie IgG1 bei Mäusen. Weiterhin kommt es zur Aktivierung von Mastzellen und eosinophilen Granulozyten. IL-4 und IL-13 hemmen direkt die Th-1 Zellen (DAY et al. 2004). Eine Th-2 vermittelte humorale Immunreaktion vom Sofort-Typ (IH) ist gekennzeichnet durch eine sofortige Überempfindlichkeitsreaktion.

So beschreiben LEIBOVICI et al. (1995) den Zusammenhang von Interleukin-Ausschüttung und Immunglobulin-Sekretion beim Menschen:

„The presence of IgE and IgG4, together with the absence of DTH, suggests the involvement of Th2 helper T cells in the disease. The Th2 cells are helper cells which regulate humoral responses, mainly involving IgE and IgG4, through the secretion of cytokines such as IL-4, IL-5 and IL-10.”

Die Überempfindlichkeitsreaktion vom Sofort-Typ (IH), vermittelt durch Th-2 Zellen, stellt sich spätestens 24 bis 48 Stunden nach Inokulation der Antigene ein. Ausgeprägte Antikörpertiter für IgE und IgG4 sind nachweisbar und können auf ein chronisches Krankheitsgeschehen hinweisen (WOODFOLK 2005).

Überträgt man die Erkenntnisse der chronisch erkrankten Patienten aus der Humanmedizin auf den Bereich der zoophilen Erreger sind durchaus Parallelen erkennbar. DE BOER und MORIELLO (1993) untersuchten mit *M. canis* infizierte Katzen. Die humorale Immunabwehr infizierter Tiere (positive Pilzkultur) zeigte durchschnittlich die höchsten Anti-Dermatophyten-IgG-Titer im Plasma in Reaktion auf das Glykoprotein-Antigen von *M. canis*. Es zeigte sich auch hier eine Reaktion auf die Saccharid- und die Proteinanteile (DE BOER UND MORIELLO 1993). Nach WEITZMAN und SUMMERBELL (1995) stellen Keratina-sen die wesentliche Gruppe von Dermatophyten-Antigenen dar. Auch diese Enzyme induzieren auf unterschiedlichen Wegen die Immunabwehr. So stellten BROUTA et al. (2003) fest, dass es zu starken und zu schwächeren Immunreaktionen bei Meerschweinchen kommen kann. Einige antigene Substanzen induzieren sowohl die Antikörper-Produktion als auch die zellvermittelte Immunreaktion. Es zeigte sich die immunogene Wirkung der rekombinanten Metalloendoprotease 3 (r-MEP3; 43,5 kDa). Diese verursachte ebenso wie unbearbeitetes Exoantigen von *M. canis* einen signifikanten Anstieg der spezifischen Antikörperproduktion

bei Meerschweinchen (BROUTA et al. 2003). Die zelluläre Immunantwort auf beide Antigene (Exoantigen und r-MEP3) konnte ebenfalls durch BROUTA et al. (2003) nachgewiesen werden. VERMOUT et al. (2004) zeigten ein Jahr später, dass die vorangegangene Immunisierung von Meerschweinchen mit der r-MEP3 trotz Induzierung der zellulären und der humoralen Immunabwehr nicht verhinderte, dass es zur Ausbildung einer Infektion mit *M. canis* kam (VERMOUT et al. 2004). So ist zu vermuten, dass eine vorangegangene Immunisierung mit dieser Vakzine keinen dauerhaften protektiven Schutz vor einer Neuinfektion mit Dermatophyten gewährleistet. Höchstwahrscheinlich wird nur das Ausmaß der Erkrankung beeinflusst.

Bei der Untersuchung der antigenen Eigenschaften der 31,5 kDa Keratinase von *M. canis* bei Meerschweinchen zeigten MIGNON et al. (1999b), dass eine verzögerte Überempfindlichkeit (DTH) und somit eine signifikante zelluläre Immunantwort auf diese Keratinase vorhanden war. Bei der humoralen Immunantwort der Meerschweinchen zeigte sich im ELISA keine signifikante IgG-Antikörperbildung (MIGNON et al. 1999b).

In äquivalenten Untersuchungen bei Katzen, welche als Hauptträger von *M. canis* bekannt sind, konnten kaum positive IgG-Reaktionen auf die 31,5 kDa Keratinase nachgewiesen werden (MIGNON et al. 1999a). Es wurde daraufhin geschlossen, dass andere Bestandteile des Antigens die humorale Immunantwort induzieren (MIGNON et al. 1999b). Somit werden derartige Infektionen durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Der Grad der Ausbildung einer Infektion hängt sowohl vom ursprünglichen Wirt als auch von Umgebungs- und individuellen Eigenschaften der Dermatophyten ab.

So spielen nicht nur Tierart, Alter, Immunkompetenz, sondern auch Infektionsstatus eine Rolle für die Ausbildung einer protektiven zellvermittelten Immunreaktion (MORIELLO 2003).

## **2.4 C-reaktives Protein und Haptoglobin als Akute-Phase Proteine**

### **2.4.1 C-reaktives Protein**

Das C-reaktive Protein (CRP) zählt zu den Akute-Phase Proteinen (APP). Dessen Untereinheit hat ein Molekulargewicht von etwa 25 kDa. Fünf Monomere lagern sich scheibenförmig zu einem Pentamer zusammen. Die Namensgebung ist zurückzuführen auf TILLET und FRANCIS (1930). Im Serum an Pneumonie erkrankter Personen konnte ein Stoff nachgewiesen werden, der eine Reaktion mit dem C-Polysaccharid der Pneumokokken eingeht. So ergab sich der Name C-reaktives Protein (TILLET und FRANCIS 1930).



Das Protein tritt unter anderem bei Infektionen, Verletzungen und Entzündungen im Rahmen der angeborenen unspezifischen Immunabwehr auf. Es zählt neben Haptoglobin, Serum-Amyloid-A und anderen zu den positiven Akute-Phase Proteinen. CRP ist beteiligt an der Agglutination von Bakterien und hilft bei der Opsonierung und Aktivierung des Komplementsystems (MURATA et al. 2004). Ausgehend von lokalen Prozessen werden Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen und andere Zellen stimuliert und somit die unspezifische Abwehr induziert. Über die proinflammatorischen Mediatoren IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  werden weitere Reaktionen des Immunsystems eingeleitet (CERON et al. 2005). Besonders IL-1 und IL-6 induzieren beim Menschen die Produktion von CRP in der Leber (CASTELL et al. 1989). Zunehmende Bedeutung erlangt CRP gegenwärtig bei Untersuchungen in der Veterinärmedizin. So zeigten Studien an Hunden mit postoperativen Wundheilungsstörungen einen direkten zeitlichen Zusammenhang zwischen auftretenden Komplikationen wie Entzündungen oder Infektionen und den CRP-Konzentrationen im Blut. In fast allen Fällen konnte ein Wiederanstieg oder eine stetig hohe Blutserum-CRP-Konzentration festgestellt werden (KNAPP et al. 2009). Ein Anstieg der CRP-Konzentration im Blut konnte ebenso bei medizinischen operativen Eingriffen bei Hunden nachgewiesen werden (CASPI et al. 1987). Andere Forschungsgebiete untersuchen die CRP-Konzentrationen bei entzündlichen Erscheinungen infolge degenerativer Erkrankungen (POLIZOPOULOU et al. 2015).

Mit der Sammlung von Daten und der Evaluierung entsprechender klinischer Laborparameter wie dem CRP-Plasma-Spiegel in Verbindung mit verschiedenen Erkrankungen sollte es in Zukunft möglich sein, die entsprechenden Biomarker zu verifizieren (PROHL et al. 2015; TORRENTE et al. 2015).

### 2.4.2 Haptoglobin

Neben zahlreichen anderen, auch Tierart spezifischen Akute-Phase Proteinen wird Haptoglobin als  $\alpha$ -2-Glykoprotein gebildet und freigesetzt. Haptoglobin ist ein Plasmaprotein, welches aus vier Untereinheiten besteht. Zwei  $\alpha$ - und zwei  $\beta$ -Ketten sind über Disulfid-Brücken verbunden. Besonderheiten konnten bei Hunden im Bereich der Verbindung der  $\alpha$ -Untereinheiten sowie der Möglichkeit Zuckeranteile zu binden, festgestellt werden. Andere Tierart-spezifische-Unterschiede sind anzunehmen (MOMINOKI et al. 1995).

Es wird unter anderem in der Leber gebildet und ist in der Lage Hämoglobin hoch affin zu binden. Das bei hämolytischen Prozessen freigesetzte Hämoglobin ist im freien Zustand toxisch und würde über die Niere ausgeschieden werden. Bildet sich ein Haptoglobin-Hämoglobin-Komplex, kann dieser die Nierentubuli nicht passieren. Somit beugt die Kom-

## Literaturübersicht

plexbildung einem Eisenverlust und einer Schädigung der Tubuli vor. In der Veterinärmedizin liegen einige Untersuchungen zur Bedeutung des Laborparameters Haptoglobin bei verschiedenen Tierarten vor.

Haptoglobin zählt unter anderem bei Katzen zu den positiven Akute-Phase Proteinen. Die Konzentration kann bei Erkrankungen mit entzündlichem Charakter um mehr als 25 % ansteigen. Auf Grund dessen ist es möglich Haptoglobin als einen Marker für bestimmte Erkrankungen heranzuziehen.

In Tabelle 4 sind Referenzwerte für Haptoglobin aus verschiedenen Untersuchungen bei Katzen zusammengestellt.

Tabelle 4: Referenzwerte für Haptoglobin bei Katzen

	GIORDANO et al. (2004)	DUTHIE et al. (1997)	KAJIKAWA et al. (1999)
Haptoglobin in mg/ml bei Katzen	$1,3 \pm 0,64$	0,04 – 3,84	$0,416 \pm 0,367$

(aus KANN et al. 2012)

KANN et al. (2012) konnten bei Untersuchungen an Katzen einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Haptoglobin Blutspiegel und dem Krankheitsstatus der Tiere feststellen. Somit sind Anamnese und das Signalement direkt mit in die Beurteilung der Ergebnisse mit einzubeziehen. Sie stellten bei den Untersuchungen folgende Referenzwerte für gesunde und kranke Katzen zusammen (siehe Tabelle 5):

Tabelle 5: Referenzwerte für Haptoglobin bei gesunden und kranken Katzen

	Haptoglobin in mg/ml	
	gesunde Katzen ( $n = 22$ )	erkrankte Katzen ( $n = 18$ )
$\bar{x} \pm SD$	2,5 $\pm$ 2,1	5,6 $\pm$ 5,8
Median	1,8	3,6
Min - Max	0,1 – 7,4	0,8 – 20,4

(aus KANN et al. 2012)

Untersuchungen von CAMPBELL et al. (2004) zeigten keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter der Katzen und den Konzentrationen der Akute-Phase Proteine. Der wissenschaftliche Zusammenhang der verschiedenen APP muss Tierart spezifisch untersucht werden. Ein weiteres Beispiel dazu lieferten WESTERMAN et al. (2015). Bei Pferden konnte ein Zusammenhang zwischen hohen Haptoglobin-Konzentrationen im Blutserum und entzündlichen Erkrankungen im Darm und der Atemwege festgestellt werden. Inwieweit die gemessenen Konzentrationen Hilfestellungen bei Diagnosen und Prognosen liefern können, muss entsprechend weiter untersucht werden (BULLONE et al. 2015; WESTERMAN et al. 2015). Bei Katzen ist bekannt, dass Infektionen mit dem feline Immunodefizienz-Virus (FIV) die Reaktionen der Akute-Phase Proteine beeinflussen können. So zeigte sich, dass FIV positive Katzen signifikant höhere Haptoglobin-Konzentrationen nach experimentellen Infektionen mit anderen Erregern gegenüber FIV negativen Tieren entwickelten (KORMAN et al. 2012). Haptoglobin und möglicherweise auch die anderen Akute-Phase Proteine scheinen modulierend während der akuten Phase einer Entzündung einzugreifen. So konnte eine hemmende Wirkung auf Granulozyten festgestellt werden (ROSSBACHER et al. 1999). Die vollständige Wirkungsweise und alle Zusammenhänge müssen in weiterführenden Untersuchungen im Hinblick auf eine diagnostische Verwendung der Parameter geklärt werden.

## 2.5 Bekämpfungsmaßnahmen

### 2.5.1 Therapeutika bei nicht Lebensmittel liefernden Tieren, insbesondere Katzen und Hunden

Die Dermatophytose gilt in Fachkreisen als eine sich selbst limitierende Erkrankung. Bei intaktem Immunsystem ist davon auszugehen, dass eine Infektion vom Körper eliminiert werden kann. Bei der Behandlung einer klinisch manifestierten Dermatophytose gilt es, eine Kombination aus systemischer und topischer Therapie anzuwenden. Die systemische Thera-

pie hilft dem Körper die Infektion zu überwinden und verkürzt die Krankheitsdauer. Um einer Verbreitung der infektiösen Agenzien vorzubeugen, ist eine topische Anwendung mit antimykotisch wirksamen und sporoziden Arzneimitteln unbedingt durchzuführen. Die folgenden Hinweise zur Behandlung stammen von der Internetseite VETIDATA (Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht, zitiert vom 27. März 2017, [www.vetidata.de](http://www.vetidata.de) Wirkstoffgruppe Antimykotika).

Zur topischen Anwendung zugelassene Wirkstoffe sind Clotrimazol und Enilconazol. Die äußerliche Anwendung von Clotrimazol bei Hunden und Katzen sollte zwei- bis dreimal täglich erfolgen. Der Wirkstoff kann auf vorhandene Läsionen aufgetragen und einmassiert werden. Die Dauer der Behandlung umfasst etwa zwei bis vier Wochen. Bei der äußerlichen Anwendung von Enilconazol bei Katzen und Hunden sollte eine 2 %ige Lösung verwendet werden, um entsprechende Läsionen innerhalb von drei bis vier Tagen viermal zu waschen. Ebenso kann eine Anwendung als Waschung alle drei bis vier Tage für 12 bis 16 Tage mit einer 0,2 %igen Lösung erfolgen. Für die systemische Therapie von Dermatophyten sind die Wirkstoffe Itraconazol und Ketoconazol in Deutschland zugelassen. Itraconazol kann bei Hunden in folgenden Dosierungen verwendet werden:

- 1,5 bis 3 mg/kg per os einmal täglich; Therapiedauer etwa 15 Tage,
- 5 mg/kg per os zweimal täglich; vier Wochen nach Therapiebeginn erstmalige kulturelle Überprüfung des Therapieerfolges, weiterhin zwei Wochen nach Ende der Symptome kulturelle Überprüfung; Ende der Therapie, wenn zwei bis drei Ergebnisse in Folge negativ sind.

Bei Katzen erfolgt die systemische Therapie von Dermatophyten mit Itraconazol wie folgt:

- 1,5 bis 3 mg/kg (bis zu 5 mg/kg) per os einmal täglich für 15 Tage,
- 5 mg/kg per os zweimal täglich; für drei bis fünf Wochen bis zwei negative kulturelle Erregernachweise vorliegen,
- 10 mg/kg per os einmal täglich; für drei bis fünf Wochen bis zwei negative kulturelle Erregernachweise vorliegen.

Die systemische Anwendung von Ketoconazol gegen Dermatophyten erfolgt nach folgenden Dosierungen für Hunde:

- 5 bis 10 mg/kg per os zweimal täglich.

Für Katzen erfolgt die Therapie mit Ketoconazol wie folgt:

- 10 mg/kg per os einmal täglich; nach vier Wochen sollte die erste Kultur zur Überprüfung des Therapieerfolges angelegt werden. Des Weiteren sollte eine erneute kulturelle Überprüfung zwei Wochen nach Ende der Symptome erfolgen, so lange bis zwei bis drei negative Kulturergebnisse vorliegen.

(Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht, VETIDATA zitiert vom 27. März 2017; abgerufen von [www.vetidata.de](http://www.vetidata.de) Wirkstoffgruppe Antimykotika)

Andere Therapiewege werden zunehmend Bestandteil weiterführender Studien sein. So konnte für einige nicht-steroidale Antiphlogistika ein therapeutischer Effekt gegen Dermatophyten nachgewiesen werden. Die festgestellten, zum Teil sehr hohen minimalen Hemmkonzentrationen schließen auf eine entsprechende topische Anwendung. Eine systemische Anwendung würde voraussichtlich zu unerwünschten pharmazeutischen Nebeneffekten führen. Als sehr wirksam gegen Dermatophyten stellten sich die Wirkstoffe Diclofenac, Aspirin und Naproxen heraus (AL-JANABI 2011). Im zoologischen Bereich zeigte beispielsweise die orale Anwendung von Terbinafin in einer Dosis von 8,25 mg/kg Körpergewicht bei östlichen Vollbartmeerkatzen (*Cercopithecus lhoesti*) gegen Trichophytoninfektionen Erfolg. Zusätzlich erfolgte die topische Anwendung von Enilkonazol und entsprechende Desinfektionsmaßnahmen unterstützten die Therapie (KEEBLE et al. 2010). Im Rahmen der Forschung über Prä- und Probiotika konnte für *Lactobacillus reuteri* eine hemmende Wirkung gegenüber *M. canis*, *M. gypseum* und *Epidermophyton floccosum* festgestellt werden (GUO et al. 2012). Zu den prophylaktischen Bekämpfungsmaßnahmen zählt zunehmend der Einsatz von Impfungen. So ist es möglich, in besonders gefährdeten Einrichtungen wie Tierheimen und Tierpensionen eine prophylaktische Impfung durchzuführen. Somit kann zwar eine Infektion bzw. Erkrankung nicht zu 100 % vermieden werden, aber eine höhere Infektionsdosis wird nötig und die Ausbildung der Symptome erfolgt zumeist schwächer (EUROPEAN SCIENTIFIC COUNSEL COMPANION ANIMAL PARASITES 2009). Momentan sind folgende Impfstoffe zugelassen:

- Insol Dermatophyton der Firma Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH für Hund, Katze und Pferd,
- Insol Microsporum der Firma Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH für Katzen,
- Rivac Mikroderm der Firma Ecuphar N.V. für Hund und Katze,
- Virbagen Mikrophyt der Firma Virbac Tierarzneimittel für Hund und Katze.

(Paul-EhrlichInstitut - PEI, Stand Bekanntmachung Nr.430 im BAnz AT 31.03.2017 B7 unter <http://www.pei.de/DE/arzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere-node.html>)

### **2.5.2 Umgebungsdekontamination**

Natriumhypochlorid beziehungsweise Chlorbleiche gelten als Mittel der Wahl für die Dekontamination der Umgebung. Um die Umwelt konsequent von Sporen und infektiösen Arthronidien zu befreien, sollte einmal wöchentlich eine Desinfektion durchgeführt werden. Chlorbleiche ist besonders zur Schnelldesinfektion (unter zwei Minuten) und zur Langzeitdesinfektion (bis zu 24 Stunden) geeignet. Es ist in verschiedenen handelsüblichen Verpackungen und Konzentrationen erhältlich (EUROPEAN SCIENTIFIC COUNSEL COMPANION ANIMAL PARASITES 2009). Laut DVG-Liste vom 10. November 2015 sind auch Peressigsäure (7 % Lösung), Organische Säuren (9 %ige Lösung) und Wasserstoffperoxid (7 %ige Lösung) bei einer Temperatur bis 10 °C als fungizid einzustufen. In der Regel geht man davon aus, dass auf einer Fläche von 1 m<sup>2</sup> eine Menge von 0,4 l Gebrauchslösung anzuwenden ist (DVG 2011). Da Chlorbleiche extrem reizend wirkt und möglicherweise nicht auf allen Materialien angewendet werden kann, ist es möglich Enilconazol zur Oberflächendesinfektion anzuwenden. Dabei sind entsprechend abweichende Einwirkzeiten zu beachten. Vom Einsatz sogenannter „fogger“ beziehungsweise Verdampfer für Enilconazol rät die ESCCAP ab (EUROPEAN SCIENTIFIC COUNSEL COMPANION ANIMAL PARASITES 2009).

### **3 Materialien und Methoden**

#### **3.1 Tierheime und Tiere**

##### **3.1.1 Tierheim A**

Das Tierheim A liegt etwa 15 km außerhalb von N. auf dem Gelände eines alten Bauernhauses, welches als Tierheim aus- bzw. umgebaut wurde. Die Aufenthaltsräume der Hunde befinden sich im Inneren des Hauses sowie im Außenbereich des Geländes. Die innenliegenden Zimmer sind bis auf 1,80 m Höhe gefliest. Es befinden sich alte Holztürschwellen, alte Holztüren sowie Gitter an den Eingangstüren in jedem Raum. Die Außenanlagen der Hunde sind in Teilen der Werkstatt, im Geräteschuppen, der Scheune und dem Großtierstall untergebracht. Bis auf die Boxen im Großtierstall sind in allen Räumen Fliesen am Boden und an den Wänden vorhanden.

Die Katzen sind in einem Zimmer mit Auslauf untergebracht. Vom Katzensauslauf ist ein Kontakt zu den fünf streunenden, wild lebenden Katzen gegeben.

Zum Zeitpunkt der Untersuchungen lebten etwa 40 Hunde und 20 Katzen dort. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Untersuchung über 12 Wochen alt. Das Haus verfügt im Obergeschoss über ein Katzenquarantäne-Zimmer mit Einzelboxen. Vor dem Raum befindet sich eine Seuchenmatte, welche jedoch unregelmäßig gereinigt beziehungsweise mit Desinfektionsmittel aufgefüllt wird. Quarantänekleidung und Schuhe sind vorhanden, werden aber von den Mitarbeitern selten benutzt. Lediglich im Falle eines nachgewiesenen Infektionsfalles werden die Seuchenmatten mit Desinfektionsmittel bestückt. Das Haus verfügt eigentlich über ein Krankenzimmer, dieses wird jedoch als normales Hundezimmer benutzt. Die Eingangsunter-suchung durch den betreuenden Tierarzt erfolgt innerhalb der ersten ein bis drei Tage nach Ankunft im Tierheim. Der Aufenthalt der Tiere in der Quarantänestation wurde mit 10 bis 14 Tagen angegeben. Zur Eingangsunter-suchung wird das Tier zum Tierarzt nach N. in dem vorhandenen Fahrzeug gebracht. Der Transport erfolgt entsprechend in Katzen- und Hundebö-xen, welche nicht regelmäßig gereinigt und desinfiziert werden. Das Fahrzeug wird ebenso kaum gereinigt und war zum Zeitpunkt der Untersuchungen nicht desinfiziert oder gereinigt. Katzen kommen nach der Untersuchung in das Katzenzimmer. In diesem haben alle Katzen zueinander Kontakt und teilen sich einen gemeinsamen Auslauf. Hunde werden in entsprechend freie Zimmer verbracht. Die Hunde besitzen keine festen Räume. Je nach Verträglichkeit und ohne ersichtliche Ordnung wechseln die Hunde die Räumlichkeiten.

Die Ausläufe der Hunde werden abwechselnd besetzt, je nach Verträglichkeit und persönlicher Meinung der entsprechenden diensthabenden Person. Es besteht keine feste Hund-Auslauf-Zusammengehörigkeit. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war kein Desinfektionsplan vorhanden. Die Stuben wurden lediglich jeden Tag mit nicht korrekt verdünnter Dan-Klorix Lösung gewischt. Die Liegedecken der Hunde werden täglich gewechselt und gewaschen. Der persönlich subjektive Eindruck war, dass das Tierheim bzw. dessen Organisation sehr konfus und planlos erschien. Es besitzt zwar in dem Sinne eine Art Tierheimleiterin, welche aber nicht für die Organisation der Arbeitsabläufe zuständig ist. Die zwei festangestellten Mitarbeiterinnen, die die täglichen Arbeiten organisieren, wechseln sich im Dienst ab. Je nach dem, wer Dienst hat, wird dann der Tagesablauf anders geplant. Des Weiteren helfen unregelmäßig ehrenamtliche Mitarbeiter. Das im Tierheim vorhandene Desinfektionsmittel ist Lysoformin.

**Tiere:** Von den 20 ansässigen Katzen konnten 14 untersucht werden. Fünf Katzen waren unter einem Jahr alt, drei Tiere waren zwischen einem und drei Jahre alt und sechs Tiere waren über drei Jahre alt. Acht Tiere waren weiblich und sechs Tiere waren männlich. Von den 14 untersuchten Katzen wiesen sieben Tiere Vorerkrankungen auf. Darunter zeigten sich der Befall mit Ohrmilben, Flöhen sowie die Flohstich-Allergie. Weitere Erkrankungen waren Herzinsuffizienz, eine verkrüppelte Pfote sowie Veränderungen der Haut oder Haare.

Aus dem Bestand von circa 40 Hunden konnten 23 untersucht werden. Vier Hunde waren zwischen einem und drei Jahren alt, 19 Tiere waren über drei Jahre alt. Unter den untersuchten Tieren waren acht Hunde weiblich und 15 Hunde waren männlich. 12 der 23 Tiere litten unter Vorerkrankungen, nicht mit einbezogen wurden anamnestiche Daten wie Schuppenbildung, Knabberstellen und Hyperpigmentierung. Bei den Katzen im Tierheim A wurden zum Zeitpunkt der Untersuchung und im Jahr vor der Untersuchung keine Impfungen gegen Dermatophyten durchgeführt.

### 3.1.2 Tierheim B

Das Tierheim B ist zentral in der Stadt gelegen.

Das Hauptgebäude ist im Flachbaustil gebaut. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen war der Tierbestand bei 25 Hunden und 50 Katzen. Ausgelegt ist der Katzenbestand für 36 Tiere. Außerhalb des Gebäudekomplexes liegen die Auffangzwinger für die Hunde und die Auffangboxen für die Katzen. Beides wird nach Benutzung gereinigt und desinfiziert. Die Quarantäne-Einheiten befinden sich am Eingang des Komplexes und werden nur mit extra Kittel, Wechselschuhen und Handschuhen von einer Person am Tag betreten. Die vor dem Raum befindli-



## Materialien und Methoden

che Seuchenmatte wird alle zwei Tage aufgefüllt mit Natriumhypochlorid-Lösung 3 % der Firma Hedinger aus Stuttgart. Am Durchgang zu den Tierabteilen befindet sich eine weitere Seuchenmatte. Die Tiere verbleiben etwa sieben Tage in der Quarantänestation und werden durch den betreuenden Tierarzt nach zwei bis drei Tagen vor Ort untersucht. Die Quarantänestation verfügt über gesondertes Inventar und wird mit separaten Geräten gereinigt. Diese verbleiben vor Ort und werden nicht für andere Räume verwendet. Bei einer bestätigten Infektion mit Dermatophyten werden entsprechende Tiere von den Artgenossen abgesondert und separat in der Quarantänestation untergebracht. Die Hundezwinger sind gefliest und pro Hund mit je einer Holzhundehütte inklusive Kuschedecke ausgestattet. Die Außengehege sind betonierte und mit Gittern versehen. Auf den Hunde-Ausläufen befindet sich Naturboden. Die Tiere werden abwechselnd nach Plan auf den Außenanlagen verteilt. Die sieben Katzenstuben sind für 36 Tiere ausgelegt. Pro Stube befinden sich zumeist vier bis fünf Tiere. Jeder der Räume wird täglich gereinigt. Einmal pro Woche erfolgt eine Grunddesinfektion, bei der alles Inventar entfernt wird und für zwei bis drei Stunden desinfiziert wird. Jede Katzenstube verfügt über separate Pflegeutensilien für die Tiere.

Es befinden sich in der Regel drei festangestellte Fachkräfte vor Ort. Davon ist eine die Tierheimleiterin. Als Helfer sind ein Auszubildender und zwei Umschüler in der Regel täglich vor Ort. Es ist ein Reinigungs- und Desinfektionsplan vorhanden, welcher durch Gegenzeichnen quittiert wird.

### **Tiere:**

Von den 50 Katzen konnten 28 untersucht werden. Die restlichen Tiere waren ursprünglich wildlebende Katzen, welche eingefangen wurden. Diese konnten nicht untersucht werden.

Von den 28 untersuchten Katzen waren 16 männliche und 12 weibliche Tiere. 15 Katzen waren unter einem Jahr alt, acht Tiere waren zwischen ein bis drei Jahren alt und fünf Tiere waren älter als drei Jahre.

Unter den 28 Katzen wiesen zehn Tiere Vorerkrankungen auf. Darunter befanden sich Alopezie, Stomatitis-Komplex, Rhinitis-Katzenschnupfen und Ohrmilben. Von den zehn untersuchten Hunden waren jeweils fünf weiblich und fünf Tiere männlich. Es gab zum Zeitpunkt der Untersuchung kein Tier unter einem Jahr. Drei Hunde waren zwischen einem und drei Jahren alt. Sieben Tiere waren über drei Jahre alt. Bei den Hunden gab es sechs Tieren Vorerkrankungen.

Diese waren Diabetes mellitus, Konjunktivitis, Sarcoptes-Räude, Hotspots sowie Arthrose. In beiden Tierheimen werden alle Tiere jährlich geimpft und regelmäßig entwurmt. Die nicht

umgänglichen oder bissigen Tiere wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. In keinem der beiden Tierheime war auffälliger Schimmelpilzbefall an den Wänden oder Mauern vorhanden.

Bei den Katzen wurde zum Zeitpunkt der Untersuchung und innerhalb eines Jahres zuvor lediglich ein Tier mit Mikroderm® Rivac® geimpft. Dies war die Katze NK19. Die Impfungen erfolgten am 6.7.2012 und am 18.7.2012. Bei einer Katze (NK14) wurde laut Kartei zuvor ein Dermatophyten-Befall festgestellt.

### 3.2 Probenentnahme

#### 3.2.1 Tiere

Insgesamt konnten in beiden Tierheimen 75 Tiere (siehe Tabelle 6) klinisch untersucht werden. Nicht alle Tiere waren dem Umgang mit Menschen und den Untersuchungen zugänglich. Somit war es leider nicht möglich, alle Tiere aus beiden Einrichtungen zu untersuchen. Es erfolgte eine allgemeine klinische Untersuchung, um den Gesundheitszustand der Tiere festzustellen. Im Anschluss wurde eine weiterführende Untersuchung der Haut und Haare durchgeführt.

Tabelle 6: Anzahl der untersuchten Hunde und Katzen in beiden Tierheimen

	Tierheim A	Tierheim B
Katzen	14	28
Hunde	23	10

#### 3.2.2 Probenentnahme von der Haut und den Haaren

Bei allen untersuchten Tieren wurde zusätzlich eine Bürstenprobe genommen. Besteht der Verdacht einer dermatophytären Infektion sollten je nach befallener Körperregion folgende Verfahren für eine Probenentnahme genutzt werden. Bei betroffenen Hautstellen gilt es vom Rand der Läsionen, am Übergang von gesunder zu kranker Haut entsprechende Hautproben und Haarproben zu nehmen. Diese können entweder mittels Skalpell-Klinge oder einem scharfen Löffel gewonnen werden. Befinden sich Blasen auf der Läsion, sollten diese geöffnet werden und mit in das Probenmaterial einbezogen werden (WEITZMAN und SUMMERBELL 1995). Einige Autoren empfehlen, zusätzlich vor der Probenentnahme die entsprechenden Hautstellen mit Alkohol zu desinfizieren (SOLTYS und SUMNER-SMITH 1969). MACKENZIE (1963) beschrieb bei durchgeführten Untersuchungen an einer Schule oder in Tier-

heimen, dass zuvor autoklavierte oder sterilisierte Bürsten für die Ganzkörperprobenentnahme verwendet werden sollten. Dabei werden die Kopfhare oder dementsprechend das Fell der Tiere mit den Bürsten für eine festgelegte Zeit gebürstet. Eine ähnliche Untersuchung, lediglich mit einfachen Staubtüchern führten CARLOTTI et al. (2010) in einem Tierheim durch. Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen durchgeführten Probenentnahmen wurden speziell mit der Haarbürsten-Technik durchgeführt. Es wurden kommerziell erhältliche, einfache Naturhaarbürsten aus einem Einzelhandelsgeschäft (1,29 €/Stück) verwendet. Diese wurden im Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät in Leipzig autoklaviert. Die einzelnen Bürsten wurden unmittelbar vor den jeweiligen Probenentnahmen aus ihren Verpackungen entfernt, um mögliche Kontaminationen zu minimieren. Es wurde ausgehend vom Rücken, zu den Flanken beiderseits, übergehend zu den Hinterläufen von proximal nach distal, zu den Vorderläufen über die Halsregion am Kopf endend mehrmals gebürstet. Bei der Probenentnahme am Kopf wurde besonderes Augenmerk darauf gelegt beide Ohren gleichmäßig und vollständig zu bürsten. Bei Hunden, die über einen ausreichend großen Nasenrücken verfügten, wurde dieser ebenso wie die kutane Lefzengegend gebürstet. Es wurde darauf geachtet, dass jede Probenentnahme über den gleichen Zeitraum von 60 Sekunden erfolgte. Konnten auf dem gerade untersuchten Tier typische Hautpilzläsionen festgestellt werden, so endete die Probenentnahme auf diesen. Nach Abschluss der Probenentnahme ist die Bürste inklusive anhaftender Haare in eine Industrie-sterile, verschließbare Plastikbeutelverpackung verbracht worden. Die Aufbewahrungsbeutel wurden eindeutig beschriftet und entsprechende Listen wurden angelegt.

### **3.2.3 Blutentnahme und Aufbereitung**

Für die Plasmagewinnung wurden konventionelle medizinische Lithium-Heparin-Plasma Vacuette® 4 ml Blutröhrchen verwendet. Zur Blutentnahme wurde bei Hunden und Katzen die Vena cephalica oder in Ausnahmefällen die Vena saphena lateralis verwendet. Die Blutproben wurden innerhalb der ersten zwei Stunden nach Entnahme bei 2700 Umdrehungen pro Minute (676 x g) für 10 min in einer Hettich® EBA 3S (vier Röhrchen) zentrifugiert. Abgesetztes Plasma wurde unter Verwendung von Einmalpipetten in zuvor autoklavierte Eppendorf®-Gefäße verbracht. Diese wurden eindeutig beschriftet und innerhalb der nächsten Stunde in eine Gefriertruhe verbracht. Die Lagerung erfolgte bei -22 °C.

### 3.2.4 Probenentnahme aus der Umgebung

Die Beprobung der direkten Umgebungen der Tiere erfolgte mit Tupferproben (Applied SA). Zur Tupferprobenentnahme wurden einzeln verpackte, steril eingeschweißte Einmal-Tupfer verwendet. Unmittelbar vor Probenentnahme der Umgebung wurden diese aus ihrer Verpackung entfernt und im Folgenden etwa 20 Sekunden mäanderförmig über die jeweiligen Oberflächen geführt. Nach Beendigung der Probenentnahme wurden die einzelnen Tupfer wieder in ihre ursprüngliche Verpackung verbracht, die Verpackung verschlossen und beschriftet. Bei Hunden wurden pro Tier drei Proben aus der direkten Umgebung genommen. Es wurde darauf geachtet, dass an den gleichen Stellen in den verschiedenen Zwingern Proben gewonnen wurden. Diese Stellen waren das Körbchen und die darin liegende Decke. Falls eine Decke mit genügend Haarmaterial vorhanden war, wurden einige Haare mit Hilfe einer sterilisierten Pinzette in ein autoklaviertes, fest verschließbares Probenröhrchen verbracht. Weiterhin wurden Fliesen im unteren hinteren Bereich des Zwingers sowie die Außenseite der Hundebox oder die Gitterstäbe am Eingangsbereich untersucht. Eine Übersicht über die Bereiche, bei denen Proben genommen wurden, ist Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Übersicht über untersuchte Umgebungsproben in beiden Tierheimen

	Tierheim A	Tierheim B
Katzenbereich	20	54
Hundebereich	87	51
Katzenquarantäne	14	14
Maulkörbe	4	nicht untersucht
Transportkisten/Fahrzeug	14	nicht vorhanden
Umgebungsproben gesamt	139	119

Untersuchte Bereiche im Tierheim A:

- Körbchen,
- Fliesen in der Ecke,
- Gitterstäbe,
- Türklinken,
- Katzensauslauf mit Näpfen, Liegeplätzen, Wasserwanne,
- Katzen-Quarantäne-Boxen,
- Kratzbäume,
- Maulkörbe,

- Transportfahrzeug,
- Transportboxen,
- Hundeboxen im Fahrzeug.

Untersuchte Bereiche im Tierheim B:

- Körbchen,
- Fliesen in der Ecke / Linoleum,
- Liegebretter,
- Kratzbäume,
- Hundeboxen,
- Hundekorbchen,
- Katzen-Quarantäne-Boxen.

### **3.3 Dermatophyten-Nachweis**

Die mykologische Diagnostik erfolgte im Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Wieland Schrödl.

#### **3.3.1 Pilzkultur**

Die Haar- bzw. Hautproben wurden unmittelbar nach Probeneingang auf Dermatophyten-Agar (SIFIN, Berlin, Germany) aufgebracht. Jede Naturbürste wurde vorsichtig zweimal im Winkel von 90° angedrückt und vorhandenes Haarmaterial aufgebracht. Die Agarplatten wurden anschließend mit Parafilm verschlossen. Es folgte die Beschriftung und die Inkubation vor Ort im Institut bei 28 °C für 4 Wochen. Eine visuelle Kontrolle des Pilzwachstums erfolgte regelmäßig alle zwei Tage. Bei bestehendem Verdacht oder unklarer Klassifizierung der gewachsenen Kulturen wurden diese auf frischem Dermatophyten-Agar subkultiviert, später auf Sabouraud-2 %-Dextrose-Agar (ohne Cycloheximid) abgeimpft und weiter kultiviert. Bei den ersten zehn Bürstenproben wurde parallel jeweils der Taplin-Agar (OXOID, Wesel, Germany) mitgeführt. Die Dermatophyten-Differenzierung erfolgte nach Aspekten der Koloniemorphologie und mikromorphologischen Eigenschaften, wie septierte Hyphen, Hyphen-Myzel Formen, dem Vorhandensein und der Form von Mikro- und Makrokonidien.

### 3.3.2 MALDI–TOF–Massenspektrometrie

Bei einigen Dermatophyten verdächtigen Isolaten erfolgte zur Bestätigung eine Überprüfung im MALDI-TOF Massenspektrometer (Biotyper®, Bruker Daltonik GmbH, Germany) gegen die vorhandene Massenspektren–Pilzdatenbank durch Herrn T. Heydel. Die Proben wurden dabei wie bezüglich der Mucorales beschrieben aufgearbeitet (SCHROEDL et al. 2012).

### 3.3.3 DNA–Sequenzierung

Einige der Pilzisolat konnten nicht durch die koloniemorphologischen bzw. mikromorphologischen Eigenschaften eindeutig einer Dermatophytenart zugeordnet werden. Aus diesem Grund wurden diese Proben an Frau Dipl. Ing. Sc. Natalya Rangno und das Mykolabor Dresden im Institut für Holztechnologie Dresden gemeinnützige GmbH übersandt.

Die molekulardiagnostische Pilzbestimmung erfolgte auf Basis der Sequenzanalyse der ITS-Region der ribosomalen DNA (rDNA) und des Beta–Tubulin–Bereiches mittels PCR. Die Identifizierung der Pilzarten erfolgte durch den Vergleich der ermittelten ITS-Sequenzen mit Referenzsequenzen (GenBank) aus der internationalen NCBI–Datenbank (National Center for Biotechnology Information, USA).

## 3.4 Nachweis der humoralen Wirtsabwehr

### 3.4.1 Dermatophyten-Extraktantigen für den indirekten ELISA

Die Herstellung eines Extraktantigens erfolgte aus folgenden Dermatophytenisolaten: *M. canis* (Isolat aus dieser Studie mit der Bezeichnung NK14B), *T. mentagrophytes* (Referenzstamm des Institutes für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig, Germany) und *M. gypseum* (Referenzstamm des Institutes für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät Universität Leipzig, Germany). Die Dermatophyten wurden auf 2 % Glukose-Sabouraud–Agar mit Chloramphenicol (SIFIN, Berlin, Germany) unter aeroben Bedingungen bei 28 °C über zwei Wochen kultiviert. Im Anschluss wurde Koloniematerial mit der Impfnadel entnommen und in Flüssigkulturmedium (10 ml Medium in 50 ml Zellkulturflaschen) überführt. Als Flüssigkulturmedium wurde Würze–Bouillon (Merck, Darmstadt, Germany) und 2 % Glukose-Sabouraudbouillon (SIFIN, Berlin, Germany) jeweils mit den Zusätzen 10 µg/ml Polymyxin B, 100 IE/ml Penicillin und 20 µg/ml Gentamicin verwendet. Die Zellkulturflaschen wurden nach dem Zusatz von Pilzmaterial sechs Tage bei 30 °C aerob inkubiert. Danach wurde die Pilzkultur bei 2000 x g zentrifugiert und der klare Überstand bei 0,45 µm und 0,2 µm filtriert. Der zellfreie Kulturüberstand

wurde bei einer Ausschlussgrenze von 10 kDa eingeeengt (Zentrifugalfiltration, VIVASPIN® 20, Membran: 10.000 MWCO PES, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen, Germany), anschließend in PBS nach Dulbecco (ohne Kalzium und Magnesium, pH 7,35) aufgenommen und entsprach dann dem Kulturüberstandsantigen (KÜ–Ag). Der Proteingehalt wurde mit Advanced™-Protein-Assay-Reagent nach Angaben des Herstellers (Cytoskeleton Inc., Denver, Colorado, USA) bestimmt. Von dem hergestellten Pilzzentrifugat wurde eine Stichprobe auf 2 % Glukose-Sabouraud-Agar (SIFIN, Berlin, Germany) und auf Schafblutagar (Oxoid, Wesel, Germany) aufgebracht, verteilt und für fünf Tage aerob bei 30 °C zur Kontrolle auf Schimmelpilz- und Bakterienwachstum inkubiert. Die Ergebnisse dieser Kontrollen waren negativ.

### **3.4.2 ELISA für die Bestimmung der Anti-Dermatophyten–Antikörper im Blutplasma**

Die ELISA wurden in den folgenden Punkten einheitlich durchgeführt:

1. Die ELISA Platten (96-Kavitäten, Costar®, Corning Inc., Acton, Massachusetts, USA) mit einer hohen Proteinbindungskapazität wurden zu 100 µl pro Kavität mit Dermatophyten–Antigen beschichtet. Das Dermatophyten–Antigen war in 0,9 % NaCl–Aqua dest. Lösung zu 1 µg/ml verdünnt und wurde bei 4 bis 6 °C über Nacht inkubiert.
2. Am nächsten Tag wurden die Kavitäten zweimal mit Waschlösung (0,9 % NaCl – Aqua dest., 0,1 % Tween 20) unter Verwendung eines 12–Kanal- Immunowaschkammes (Nunc GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Germany) gewaschen. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von 100 µl pro Kavität verdünnten Blutplasmaproben. Die Verdünnungslösung setzte sich dabei aus folgenden Bestandteilen zusammen: 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7,35) mit 0,9 % NaCl, 0,1 % Tween 20, 1 mM Na<sub>2</sub>-EDTA, 1 % Fischgelatine, 0,1 % Hefeextrakt, 1 % Sabouraudbouillon und 1 % Würze-Bouillon (siehe oben, Flüssigkulturmedium).
3. Die Vorinkubation in der Verdünnungslösung erfolgte für mindestens eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Orbitalmikrotiterplattenschüttler (OS) bei 500 rpm.
4. Im Anschluss an die Inkubation erfolgte ein dreimaliges Waschen mit Waschlösung und danach die Zugabe von 100 µl Anti-Speziesimmunglobulin-Peroxidase-Konjugat (siehe oben, Verdünnungslösung) pro Kavität.
5. Die ELISA-Platten wurden erneut für eine Stunde bei Raumtemperatur auf dem Orbitalmikrotiterplattenschüttler bei 500 rpm inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit Waschlösung erfolgte die kolometrische Bestimmung der Peroxidase durch Zugabe

von 100 µl pro Kavität TMB-Substrat (3 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 1 mM 3,3', 5,5'- Tetramethylbenzidin in 0,2 M Citratpuffer pH 3,95) bei Raumtemperatur.

6. Das Stoppen der Substratreaktion erfolgte durch Zugabe von 50 µl 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in jede Kavität.
7. Die Messung der optischen Dichte erfolgte bei 450 nm gegen eine Referenzwellenlänge von 620 nm (Anthos III, anthos Mikrosysteme GmbH, Krefeld, Germany).
8. Eine Blutplasmapoolprobe von über 100 Katzen und über 100 Hunden wurde bei jedem ELISA als laborinterner Bezugsstandard mitgeführt, wobei der relative Antikörpergehalt in dieser Poolprobe je Antikörperklasse und Tierart auf 100 relative Einheiten (RE) je Milliliter definiert wurde. Die optischen Dichte-Werte der Proben wurden unter Beachtung der Verdünnungsfaktoren darauf umgerechnet.

In Tabelle 33 und Tabelle 34 (siehe Anhang Punkt 9.4.1) sind die genauen Verdünnungen und Konzentrationen zu der Durchführung der ELISAs zusammengefasst.

### **3.5 Bestimmung der Akute-Phase Proteine**

#### **3.5.1 Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) in den Blutplasmaproben der Hunde**

Mit einem Zweiseitenbindungstest (ELISA) erfolgte die quantitative Bestimmung des CRP in den Blutplasmaproben der Hunde.

1. Die Beschichtung der 96-Kavitäten-ELISA Platten (Costar®, Corning Inc., Acton, Massachusetts, USA) erfolgte mit 3 µg/ml IgG (Ziege)-anti-CRP-Hund (Bethyl, Laboratories, Montgomery, USA), der Verdünnungspuffer war dabei 0,1 M NaHCO<sub>3</sub>.
2. Nach einer Stunde Inkubation bei Raumtemperatur auf dem Orbitalmikrotiterplattenschüttler bei 500 rpm erfolgte ein zweimaliges Waschen der ELISA-Platten mit Waschlösung (0,9 % NaCl – Aqua dest., 0,1 % Tween 20).
3. Die Proben wurden 1/1000 beziehungsweise 1/2000 in PBS nach Dulbecco mit 0,1 % Tween 20, 10 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 0,1 % Casein verdünnt und zu 100 µl pro Kavität zugegeben.
4. Als Standard wurde ein Hundeserum mit definierter CRP-Konzentration mitgeführt (Standardverdünnungen im Bereich von 100 ng/ml bis 1,6 ng/ml).
5. Nach Inkubation bei Raumtemperatur auf dem Orbitalmikrotiterplattenschüttler erfolgte eine viermalige Waschung.



6. Im Anschluss wurden 0,5 µg/ml IgG (Ziege)-anti-CRP-Hund konjugiert mit Peroxidase (Verdünnungslösung siehe oben) zu 100 µl pro Kavität zugegeben.
7. Nach erneuter Inkubation bei Raumtemperatur für eine Stunde auf dem Orbitalmikrotiterplattenschüttler erfolgte nach viermaligem Waschen mit Waschlösung die Zugabe des kolorimetrischen Substrates (3 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 1 mM 3,3', 5,5'- Tetramethylbenzidin in 0,2 M Citratpuffer pH 3,95).

Nach 15-minütiger Substratreaktion bei Raumtemperatur erfolgte das Stoppen der Enzymreaktion und die Messung der optischen Dichte (450 nm gegen eine Referenzwellenlänge von 620 nm; Anthos III, anthos Mikrosysteme GmbH, Krefeld, Germany). Die CRP-Konzentrationen in den Proben wurden über die Standardkonzentrationen unter Beachtung der Verdünnungsfaktoren berechnet.

### **3.5.2 Bestimmung des Haptoglobins (Hp) in den Blutplasmaproben der Katzen**

Die Haptoglobin-Konzentrationen im Blutplasma der Katzen wurden enzymatisch über die Peroxidaseaktivität des Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes bestimmt.

1. Zunächst erfolgte die Verdünnung der Plasmaproben in 0,9 % NaCl-Aqua bidest.-Lösung auf 1/10 und höher.
2. Als Standard wurde Precinorm® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) mit einer definierten Haptoglobinkonzentration verwendet. Jeweils 50 µl dieser verdünnten Proben und der Standardverdünnungen (50 bis 0,78 µg/ml) wurden mit 50 µl 100 µg/ml Hämoglobin (Human, Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) in 0,9 % NaCl-Aqua-bidest.-Lösung gemischt und 30 Minuten bei Raumtemperatur auf dem Orbitalmikrotiterplattenschüttler (500 rpm) inkubiert.
3. Danach erfolgte die additive Zugabe von 50 µl 0,1 M Natriumazetatlösung (pH 4,0) und eine Inkubation bei Raumtemperatur für 30 Minuten.
4. Mit der Zugabe von 100 µl Substratlösung (1 mM TMB und 3 mM Wasserstoffperoxid in 0,2 M Citratpuffer (pH 3,95) wurde die Peroxidaseaktivität bestimmt.
5. Nach einer 10-minütigen Substratreaktionszeit erfolgte die Zugabe von 50 µl 1 M Schwefelsäure und die sofortige Messung der optischen Dichte bei 450 nm.

Durch die parallel mitgeführten Haptoglobinstandardkonzentrationen wurde unter Beachtung der jeweiligen Probenverdünnung die Haptoglobinkonzentration in den entsprechenden Blutplasmaproben berechnet.

### **3.6 Aufarbeitung der Daten und statistische Analyse**

Die Aufarbeitung der Daten erfolgte mit dem Tabellenprogramm EXCEL der Firma Microsoft™ Corporation.

Zur statistischen Analyse wurde das Open-Source-Programm PSPP verwendet. Eine weitere statistische Überprüfung der Ergebnisse sowie das Erstellen von Grafiken und Abbildungen wurde mit dem Programm Graph Pad Prism 6 durchgeführt.

### 4 Ergebnisse

Ziel der Untersuchungen war es, das Vorkommen von Dermatophyten in den Tierheimen A und B zu untersuchen. Weiterhin galt es herauszufinden, ob sich das Tierheim im ländlichen Bereich vom urbanen Tierheim im städtischen Bereich in der Vorkommenshäufigkeit von Dermatophyten unterscheidet. Beide Tierheime zeigten auffallende Unterschiede in Punkten der Hygiene sowie der Organisation der Abläufe. Des Weiteren stellte sich die Frage, wenn Unterschiede bestehen, welche Faktoren dies möglicherweise beeinflussen könnten. Es wurden aus der direkten Umgebung der Tiere Tupferproben entnommen, um die Belastung der Umgebung mit Pilzen in die Bewertung mit einzubeziehen. Zunächst wurde bei allen Tieren eine umfangreiche Anamnese durchgeführt. Im Folgenden wurden Bürstenproben und wenn möglich Blutproben entnommen. Es erfolgte eine kulturelle, gegebenenfalls eine massenspektrometrische Untersuchung. Serologisch wurden die IgG-Konzentrationen gegen die Dermatophyten *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* und das Akute-Phase Protein Haptoglobin bei den Katzen bestimmt. In den Hundegruppen wurden die IgG, IgA, IgM und IgE gegen *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* sowie das Akute-Phase Protein CRP bestimmt. Im ersten Teil der Auswertung wird auf die Katzen-Gruppe und Hunde-Gruppe als Gesamtheit eingegangen. Im zweiten Teil der Auswertung wird auf die Tiergruppen in den beiden Tierheimen separat eingegangen.

#### 4.1 **Klinische Untersuchung**

##### 4.1.1 **Katzen**

Im Zeitraum Oktober bis November 2012 wurden im Tierheim A von den dort lebenden 20 Katzen 14 (siehe Tabelle 8 Katze eins bis 14) untersucht. Die nicht untersuchten Katzen waren durch das Personal nicht zu kontrollieren und stark aggressiv. Von den 14 untersuchten Katzen wiesen sieben Tiere Vorerkrankungen auf. Darunter befanden sich der Befall mit Ohrmilben, Flöhen sowie die Flohstich-Allergie. Weitere Erkrankungen waren Herzinsuffizienz, eine verkrüppelte Pfote sowie Veränderungen der Haare. Im Tierheim B wurden die Katzen im Zeitraum November bis Dezember 2012 untersucht. Von circa 50 ansässigen Katzen konnten 28 (siehe Tabelle 8: Katze 15 bis 42) untersucht werden. Die restlichen Tiere waren zuvor wildelebende Katzen und konnten nicht mit einbezogen werden. Sie reagierten sehr aggressiv auf Manipulationen durch den Menschen. Unter den 28 Katzen wiesen 10 Tiere Vorerkrankungen auf. Darunter befanden sich Alopezie, Stomatitis-Gingivitis Komplex, Rhinitis-Katzenschnupfen Komplex, Ohrmilben sowie ein Tier, welches unter chronischem Durchfall

## Ergebnisse

litt (siehe Tabelle 8). Bei der klinischen Untersuchung der Katzen in beiden Tierheimen konnten bei einigen Tieren Veränderungen an der Haut oder den Haaren festgestellt werden. Es wurden kaum typische Merkmale einer Dermatophytose als Hinweis auf ein derartiges Infektionsgeschehen gefunden. Aus der Anamnese der Katzen ergab sich, dass etwa die Hälfte der Tiere (47,62 %) unter einem Jahr alt war. Der Rest der Tiere teilte sich gleichmäßig auf die Altersgruppen zwischen ein bis drei Jahren auf beziehungsweise war älter als drei Jahre. In der Katzengruppe zeigte sich annähernd eine Gleichverteilung der Geschlechter. Auffallend war, dass in 30,95 % der Kulturen aus den Katzenproben *M. canis* kultiviert werden konnten, aber nur 19,05 % der untersuchten Katzen Veränderungen der Haut und Haare zeigten (siehe Tabelle 9).

## Ergebnisse

Tabelle 8: Übersicht über anamnestische Daten der Katzen

Probe Nr. Katzen	Geschlecht	Alter in Monaten	Haut- und Haarveränderungen	Dermatophytenkultur	Diagnose
1	weiblich	5	nein	negativ	Ohrmilben
2	männlich	5	nein	negativ	o.b.B.
3	männlich	4	nein	negativ	o.b.B.
4	weiblich	4	nein	negativ	o.b.B.
5	weiblich	96	ja	negativ	Haarveränd.
6	männlich	4	nein	negativ	o.b.B.
7	männlich	36	nein	negativ	o.b.B.
8	männlich	35	ja	negativ	Alopezie, Flohbefall
9	weiblich	14	nein	negativ	o.b.B.
10	weiblich	60	nein	negativ	o.b.B.
11	weiblich	41	nein	negativ	Herzinsuffizienz
12	weiblich	37	nein	negativ	verkrüppelte Pfote
13	weiblich	120	ja	negativ	Haarveränd.
14	männlich	96	nein	negativ	Haarveränd.
15	männlich	5	ja	negativ	Alopezie
16	männlich	5	nein	negativ	o.b.B.
17	weiblich	5	nein	negativ	Stomatitis
18	männlich	6	nein	negativ	o.b.B.
19	männlich	5	nein	negativ	o.b.B.
20	weiblich	5	nein	negativ	o.b.B.
21	männlich	5	nein	negativ	Ohrmilben
22	männlich	6	nein	positiv	Dermatophytose
23	männlich	5	nein	positiv	Dermatophytose
24	männlich	5	nein	positiv	Dermatophytose
25	weiblich	5	nein	negativ	o.b.B.
26	männlich	5	nein	negativ	Ohrmilben
27	männlich	5	nein	negativ	o.b.B.
28	männlich	8	nein	positiv	Dermatophytose / Ohrmilben
29	weiblich	18	nein	positiv	Dermatophytose
30	weiblich	60	nein	positiv	Dermatophytose
31	weiblich	18	nein	negativ	o.b.B.
32	männlich	48	nein	positiv	Dermatophytose
33	weiblich	18	ja	negativ	Alopezie
34	weiblich	18	nein	negativ	o.b.B.
35	männlich	18	nein	positiv	Stomatitis / Dermatophytose
36	weiblich	48	nein	negativ	o.b.B.
37	weiblich	24	nein	negativ	Rhinitis
38	männlich	8	nein	positiv	Dermatophytose
39	weiblich	18	ja	positiv	Dermatophytose / Rhinitis
40	männlich	72	ja	positiv	Dermatophytose / Diarrhoe
41	weiblich	42	nein	positiv	Dermatophytose
42	männlich	18	ja	positiv	Dermatophytose

## Ergebnisse

Tabelle 9: Übersicht über relative Häufigkeiten der epidemiologisch erfassten Daten der Katzen

		Katzen ( $n = 42$ )	
		absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %
Alter	< 1 Jahr	20	47,62
	1 -3 Jahre	11	26,19
	> 3 Jahre	11	26,19
Geschlecht	männlich	22	52,38
	weiblich	20	47,62
Haut- u. Haarveränderungen	positiv	8	19,05
	negativ	34	80,95
Dermatophytenkultur	positiv	13	30,95
	negativ	29	69,05

### 4.1.2 Hunde

Die Hunde im Tierheim A (siehe Tabelle 10: Nummer 1 bis 23) wurden im September 2012 untersucht. Die Hunde im Tierheim B (siehe Tabelle 10: Nummer 24 bis 33) wurden im Januar 2013 untersucht. Die bei der klinischen Untersuchung festgestellten Erkrankungen waren sehr vielgestaltig. Einige Hunde zeigten mehrere Erkrankungen gleichzeitig. Folgende Erkrankungen wurden bei der Anamnese aufgenommen: Flohbefall, Hotspots, Niereninsuffizienz, Liegeschwielen / Knabberstellen / mechanische Alopezie, Hamartome, Epilepsie, Otitis externa, Hyperpigmentierung, hyperkeratotische Dermatitis, Hauteffloreszenzen, Diabetes mellitus, Artherome und Sarkoptesräude. Einige Hunde zeigten Alopezie, darunter zwei Tiere, bei denen dies als Chinesische Nackthunde-Mix rassetypisch vorkommt. Die Anamnese der Hunde ergab, dass kein Hund unter einem Jahr in der Gruppe vorhanden war. Hingegen war die Anzahl der Hunde über drei Jahren mit 78,79 % ( $n = 26$ ) verhältnismäßig hoch. In der Hundegruppe waren 60,61 % ( $n = 20$ ) der Tiere männlich sowie 39,39 % ( $n = 13$ ) weiblich. Parallel zu der großen Anzahl an Vorerkrankungen zeigten 66,67 % der Hunde Veränderungen der Haut und Haare. Es konnte in einer Haarprobe eines Hundes ein Dermatophytenbefall mit *T. mentagrophytes* kulturell nachgewiesen werden. Dieses Tier zeigte bei der klinischen Untersuchung am gesamten Rumpf einen Verlust des Unterhaarkleides sowie beginnende symmetrische Alopezie im linken Brustbereich. Eine Übersicht über die Ergebnisse der Anamnese und der klinischen Untersuchung gibt Tabelle 10. In Tabelle 11 ist eine Übersicht über die ermittelten epidemiologischen Variablen und deren relative Häufigkeiten bei den Hunden dargestellt. In der Hundegruppe gab es anamnestisch keine weiteren Auffälligkeiten. Aufgrund der Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung der Tiere konnte mit dem exak-

## Ergebnisse

ten zweiseitigen Test nach Fisher mit  $p < 0,05$  ein signifikanter Unterschied zwischen Hunden und Katzen beim Auftreten von Haut- und Haarveränderungen festgestellt werden.

Tabelle 10: Übersicht über anamnestisch erfasste Daten der Hunde in beiden Hundegruppen

Probe Nr. Hund	Geschlecht	Alter in Monaten	Haut- und Haarveränderungen	Dermatophyten- kultur	Diagnose
1	männlich	18	ja	negativ	Alopezie / Flöhe
2	männlich	54	nein	negativ	rassetyp. Alopezie
3	männlich	54	ja	negativ	rassetyp. Alopezie / periorale Dermatitis
4	weiblich	108	ja	negativ	Dermatitis, Hotspots
5	männlich	192	ja	negativ	Schuppenbildung
6	männlich	132	nein	negativ	Niereninsuffizienz / Hotspots
7	weiblich	156	ja	negativ	Liegeschwielen
8	männlich	72	ja	negativ	Hotspots / Alopezie
9	weiblich	120	ja	negativ	Hamartom / Alopezie
10	männlich	144	ja	negativ	Hotspots / Epilepsie
11	männlich	14	nein	negativ	o.b.B.
12	männlich	120	ja	negativ	Otitis externa
13	weiblich	60	nein	negativ	o.b.B.
14	männlich	72	nein	negativ	o.b.B.
15	männlich	14	ja	negativ	Alopezie / Flohbefall
16	männlich	24	nein	negativ	o.b.B.
17	männlich	72	ja	negativ	Knabberstellen
18	weiblich	84	ja	negativ	Hyperpigmentierung
19	weiblich	120	ja	negativ	Hyperkeratotische Dermatitis
20	männlich	48	nein	negativ	o.b.B.
21	weiblich	72	ja	negativ	Hauteffloreszenzen
22	weiblich	96	nein	negativ	o.b.B.
23	männlich	84	ja	negativ	mechan. Alopezie
24	weiblich	40	nein	negativ	o.b.B.
25	männlich	24	nein	negativ	o.b.B.
26	männlich	36	ja	negativ	Diabetes mellitus / Alopezie
27	männlich	24	nein	negativ	o.b.B.
28	männlich	108	ja	negativ	stumpfes Haarkleid
29	weiblich	144	ja	negativ	Haut Erytheme
30	weiblich	72	ja	negativ	Sarkoptesräude
31	männlich	120	ja	positiv	Schuppen, Alopezie, Dermatophytose
32	weiblich	156	ja	negativ	Artherome / Arthrose
33	weiblich	72	ja	negativ	Hotspots

## Ergebnisse

Tabelle 11: Übersicht über relative Häufigkeiten der epidemiologisch erfassten Daten der Hunde

		Hunde ( <i>n</i> = 33)	
Alter		absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %
	< 1 Jahr	0	0
1 - 3 Jahre	7	21,21	
> 3 Jahre	26	78,79	
Geschlecht	männlich	20	60,61
	weiblich	13	39,39
Haut- u. Haarveränderungen	positiv	22	66,67
	negativ	11	33,33
Dermatophytenkultur	positiv	1	3,03
	negativ	32	96,97

Im Vergleich zeigte die Gruppe der Katzen deutlich weniger Veränderungen der Haut und Haare. So waren bei 19,05 % der Katzen und bei 66,67 % der Hunde makroskopische Veränderungen der Haut und Haare feststellbar. Bei einem Hund konnte wie oben bereits beschrieben eine anfängliche symmetrische Alopezie nachgewiesen werden. Typische kreisrund haarlose Stellen waren nicht zu finden. Die Veränderungen der Haut und Haare bei den Katzen zeigten sich beispielsweise in struppigem, ungepflegtem Fellkleid sowie Bruch der Haare im Tierheim A. Im Tierheim B konnten bei der klinischen Untersuchung folgende Veränderungen festgestellt werden: Eine Katze zeigte kleine, haarlose runde, etwa 1 cm große Stellen an den Ohren. Eine andere Katze hatte haarlose Areale an den Ohrenaußenflächen ohne Krusten. Ein drittes Tier besaß kleine multifokale Krusten, welche zusammen mit den darauf befindlichen Haaren ablösbar waren.

## 4.2 Vergleich der beiden Tierheimgruppen

### 4.2.1 Katzen

In beiden Tierheimen wurden in den Katzensgruppen verschiedene anamnestiche und epidemiologische Daten (siehe Tabelle 12) erfasst. Betrachtet man die Altersverteilung der Katzen in beiden Tierheimen so fällt auf, dass im Tierheim A 42,86 % der Tiere über drei Jahre alt waren. Im Gegensatz dazu waren im Tierheim B lediglich 17,86 % der Katzen über drei Jahre alt. Auffallend ist weiterhin, dass im Tierheim B über die Hälfte der untersuchten Katzen jünger als ein Jahr war. Die Geschlechter zeigten in beiden Tierheimen ähnliche Verteilungen. Die relative Häufigkeit für vorhandene Haut- und Haarveränderungen betrug im Tierheim A 21,43 % und im Tierheim B 17,86 %.



## Ergebnisse

In den Parametern Geschlechterverteilung und Veränderungen der Haut und Haare unterschieden sich die beiden Katzensgruppen kaum voneinander. Die Anzahl der positiven Pilzkulturen für Dermatophyten hingegen unterschied sich enorm. Im Tierheim A konnten bei keiner Katze Dermatophyten kulturell nachgewiesen werden. Wohingegen im Tierheim B 46,43 % der Pilzkulturen auf Dermatophyten positiv waren. Die einzelnen Daten sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Häufigkeiten der epidemiologischen Daten, der klinischen Untersuchung und der Dermatophytenkulturen bei den Katzen

		Tierheim A (n = 14)		Tierheim B (n = 28)	
Alter		absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %
		< 1 Jahr	5	35,71	15
	1 - 3 Jahre	3	21,43	8	28,57
	> 3 Jahre	6	42,86	5	17,86
Geschlecht	männlich	6	42,86	16	57,14
	weiblich	8	57,14	12	42,86
Haut- u. Haarveränderungen	positiv	3	21,43	5	17,86
	negativ	11	78,57	23	82,14
Dermatophytenkultur	positiv	0	0	13	46,43
	negativ	14	100	15	53,57

Von den 13 Katzen, deren Kulturen positiv auf Dermatophyten waren, zeigten bei der klinischen Untersuchung drei Tiere (23 %) Veränderungen der Haut und Haare (siehe oben). 77 % der Katzen, deren Kulturen positiv auf Dermatophyten reagierten, wiesen bei der klinischen Untersuchung keine Veränderungen der Haut und Haare auf. Es konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Tierheimen und dem Ergebnis der Dermatophytenkultur bei Katzen mit dem zweiseitigen Exakten Test nach Fisher mit  $p = 0,01$  nachgewiesen werden. Im Tierheim B zeigten signifikant mehr Katzenproben positive kulturelle Dermatophyten-Nachweise.

### 4.2.2 Hunde

In beiden Tierheimen wurden in den Hundegruppen, ebenso wie bei den Katzen, anamnestische und epidemiologische Daten (siehe Tabelle 13) erfasst. Zum Zeitpunkt der Untersuchung gab es in beiden Hundegruppen kein Tier, welches unter einem Jahr alt war. Im Tierheim A lagen 17,39 % im Altersabschnitt von einem bis drei Jahren und in Tierheim B waren 30 % der Tiere im gleichen Altersabschnitt. Über drei Jahre alt waren in A 82,61 % der Hunde. Im Tierheim B war die Anzahl mit 70,00 % der Hunde (über drei Jahre) ähnlich hoch. Im Tier-

## Ergebnisse

heim B lag eine Geschlechtergleichverteilung vor und in Tierheim A waren 65,22 % der Hunde männlich und 34,78 % weiblich.

Tabelle 13: Zusammenfassung der Häufigkeiten der epidemiologischen Daten, der klinischen Untersuchung und der Dermatophytenkulturen bei den Hunden

		Tierheim A (n = 23)		Tierheim B (n = 10)	
Alter		absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit in %
		< 1 Jahr	0	0,00	0
	1 - 3 Jahre	4	17,39	3	30,00
	> 3 Jahre	19	82,61	7	70,00
Geschlecht	männlich	15	65,22	5	50,00
	weiblich	8	34,78	5	50,00
Haut- u. Haarveränderungen	positiv	15	65,22	7	70,00
	negativ	8	34,78	3	30,00
Dermatophytenkultur	positiv	0	0,00	1	10,00
	negativ	23	100,00	9	90,00

Beide Tierheime zeigten ähnliche Vorkommenshäufigkeiten für Haut- und Haarveränderungen. Im Tierheim A lag die Nachweisrate bei 65,22 % und im Tierheim B bei 70,0 %. Im letztgenannten Tierheim konnte bei einem 10 Jahre alten Hund eine positive Pilzkultur für Dermatophyten (*T. mentagrophytes*) nachgewiesen werden. Dieser zeigte bei der klinischen Untersuchung Haut- und Haarveränderungen. Im Tierheim A gab es keinen positiven kulturellen Nachweis für Dermatophyten. Weiterhin ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Hundepopulationen bezüglich Geschlechterverteilung, Altersgruppen, Haut- und Haarveränderungen und Dermatophytenkultur mit  $p > 0,05$  mit dem Exakten Test nach Fisher nachweisen.

### 4.3 Mykologische Ergebnisse

#### 4.3.1 Tiere allgemein

Der verwendete Dermatophyten-Agar (SIFIN, Berlin; Germany) enthält neben Chloramphenicol (100 µg/ml) als Breitbandantibiotikum auch Cycloheximid (0,5 mg/ml), welches als fungizides Antibiotikum zur kulturellen Wachstumshemmung von unter anderem auch Schimmelpilzen eingesetzt wird. Bei der zu erwartenden hohen Belastung mit Umgebungs-kontaminationen sollte dies die selektive Bestimmung von Dermatophyten ermöglichen. Trotz der zugesetzten Hemmstoffe wuchsen auf dem Kulturmedium eine Vielzahl von Pilzen, unter anderem *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Chrysosporium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Candida* sp.,

## Ergebnisse

*Alternaria* sp.. Eine vollständige Auflistung aller nachgewiesenen Pilze ist nicht dargestellt. Die mykologischen Ergebnisse müssen aufgrund der Vielzahl der gewachsenen Keime reduziert dargestellt werden. Ein Großteil der gewonnenen Proben war mit mehreren Pilzen gleichzeitig belastet.

Einzelnen aufgeführt sind die kulturellen Nachweise der Dermatophyten, Schimmelpilze und anderen keratinophilen Pilze. Andere keratinophile Pilze kommen zumeist in der Umgebung vor. Diese sind in der Regel Bodenbewohner und ernähren sich u.a. von Keratin, welches im Boden vorkommt. Durch die Fähigkeit Keratin zu verarbeiten, ist es ihnen möglich Infektionen beim Menschen und bei Tieren hervorzurufen. Die positiven kulturellen Nachweise folgender Spezies werden unter den Nachweisen als andere keratinophile Pilze zusammengefasst: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Chrysosporium* sp. (ANBU et al. 2006; LANGE et al. 2016; RODRIGUES MARCONDES et al. 2008), *Acremonium* sp. (MARTINEZ-HERRERA et al. 2015), *Alternaria* sp. (APPRICH et al. 2006; PAKSHIR et al. 2013) *Chaetomium* sp. (ABDEL-GAWAD 1997; CABAÑES et al. 1996; HUBKA et al. 2011) und *Verticillium* sp. (FILIPELLO et al. 1991). Im Tierheim B konnten aus den kulturell untersuchten Proben in drei Proben *Cladophialophora* sp. isoliert werden. Diese Gattung wird in Zusammenhang mit Pilzinfektionen beim Menschen gebracht (BRASCH et al. 2011).

In drei der untersuchten Hundeproben aus dem Tierheim A konnte kulturell *Auxarthron umbrinum* nachgewiesen werden (HUBKA et al. 2013). Dieser wurde bei Erfassung der anderen keratinophilen Pilze berücksichtigt. Inwieweit dieser Vertreter in der Lage ist Keratin zu verarbeiten, ist bis jetzt nicht bekannt. ZHOU et al. (2014) und ALTUN et al. (2014) bringen *Rhodotorula* sp. mit dem Auftreten von Onychomykose in Verbindung. NENOFF et al. (2014a) beschreiben die Gefahr einer Hefepilz-Infektion vor allem bei immunsupprimierten Personen.

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der kulturellen Untersuchung der Katzen in den beiden Tierheimen in den Gruppen Dermatophyten-Nachweise, andere keratinophile Erreger sowie *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus fumigatus* sowie Schwärzepilze zusammen dargestellt. In einer Probe konnte der Pilz *Auxarthron umbrinum* nachgewiesen werden. Diese Gattung kann möglicherweise in Zusammenhang mit der Onychomykose gebracht werden.

## Ergebnisse

Tabelle 14: Übersicht über mykologische Ergebnisse der Katzensgruppen in beiden Tierheimen

Keim	Tierheim A (n = 14)		Tierheim B (n = 28)	
	positive Kulturen	relative Häufigkeit in %	positive Kulturen	relative Häufigkeit in %
Dermatophyten	0	0	13	46,43
andere Keratinophile Pilze	11 <sup>1</sup>	78,57	18 <sup>2</sup>	64,29
<i>Aspergillus</i> sp.	10	71,43	3	10,71
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	35,71	2	7,14
<i>Penicillium</i> sp.	2	14,29	12	42,86
Schwärzepilze	3	21,43	4	14,29
1 <i>Auxarthron</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.				
2 <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Scopulariopsis</i> sp., <i>Acremonium</i> sp.,				

Die kulturellen Ergebnisse der Hundeproben sind nach gleichen Gruppen geordnet, zusammengefasst in Tabelle 15 aufgeführt.

Tabelle 15: Übersicht über mykologische Ergebnisse der Hundegruppen in beiden Tierheimen

Keim	Tierheim A (n = 23)		Tierheim B (n = 10)	
	positive Kulturen	relative Häufigkeit in %	positive Kulturen	relative Häufigkeit in %
Dermatophyten	0	0,00	1	10,00
andere Keratinophile Pilze	22 <sup>1</sup>	95,65	10 <sup>2</sup>	100,00
<i>Aspergillus</i> sp.	5	21,74	3	30,00
<i>Penicillium</i> sp.	10	43,48	9	90,00
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	8,70	0	0,00
Schwärzepilze	18	78,26	7	70,00
1 <i>Chrysosporium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Rhodotorula</i> sp., <i>Chaetomium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Auxarthron</i> sp., <i>Verticillium</i> sp.,				
2 <i>Penicillium</i> sp., <i>Verticillium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Cladophialophora</i> sp., <i>Chrysosporium</i> sp.,				

### 4.3.2 Dermatophyten

Im Tierheim B konnten bei den Katzen Nachweise für *M. canis* geführt werden. Es zeigten hier 46,43 % einen positiven kulturellen Nachweis für *M. canis*.

In Tabelle 16 sind die Zusammenhänge zwischen positiver Dermatophytenkultur, Alter, Geschlecht und vorhandenen Haut- beziehungsweise Haarveränderungen bei den untersuchten Katzen dargestellt. Ziel war es mögliche Zusammenhänge zwischen den epidemiologischen Variablen (Alter, Geschlecht, Veränderungen der Haut- und Haare) und dem Ergebnis der Dermatophytenkultur zu finden. Hierbei sind zwei Betrachtungsebenen gewählt: beide Katzensgruppen (aus dem Tierheim B und dem Tierheim A) zusammen sowie eine nach Tierheimen getrennte Auflistung. So sind beide Tierheime im Vergleich sowie die Gesamtheit der

## Ergebnisse

untersuchten Katzen betrachtet. Lediglich 33 % der Katzen in Tierheim B im Alter von unter einem Jahr waren in der Dermatophytenkultur positiv. Im Gegensatz dazu waren 50 % der ein- bis dreijährigen und 80 % der über drei Jahre alten Katzen im Tierheim B kulturell Dermatophyten positiv. Auffallend war weiterhin der hohe Anteil Dermatophyten positiver Pilzkulturen bei männlichen Katzen (56 %) im Tierheim B. Im Gegensatz dazu waren lediglich 33 % der weiblichen Tiere in der Pilzkultur Dermatophyten positiv. Mit dem Exakten Fisher-Test mit  $p > 0,05$  konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern im Bezug zu dem kulturellen Nachweis von Dermatophyten gezeigt werden.

Tabelle 16: Übersicht der Häufigkeiten von positiven Dermatophyten Nachweisen in den epidemiologischen Gruppen der Katzen

Variablen		Gesamt		Tierheim A		Tierheim B	
		positive/n	%	positive/n	%	positive/n	%
Alter	< 1 Jahr	5/20	25,00	0/5	0,00	5/15	33,00
	1 - 3 Jahre	4/11	36,00	0/3	0,00	4/8	50,00
	> 3 Jahre	4/11	36,00	0/6	0,00	4/5	80,00
Geschlecht	männlich	9/22	41,00	0/6	0,00	9/16	56,00
	weiblich	4/20	20,00	0/8	0,00	4/12	33,00
Haut- und Haarveränderungen	positiv	3/8	38,00	0/3	0,00	3/5	60,00
	negativ	10/34	29,00	0/11	0,00	10/23	43,00

Bei einem Hund im Tierheim B konnte *T. mentagrophytes* nachgewiesen werden.

### 4.3.3 Andere keratinophile Pilze

In der Katzensgruppe des Tierheims A konnten in 78,57 % der Proben andere keratinophile Pilze nachgewiesen werden. Im Tierheim B stellte sich ein positiver Nachweis von 64,29 % bei den Katzenproben für andere keratinophile Erreger ein. In der Katzensgruppe aus dem Tierheim A zählen zu den anderen kulturell nachgewiesenen keratinophilen Pilzen unter anderem, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., und *Auxarthron umbrinum*. Im Tierheim B konnten bei der Katzensgruppe folgende andere keratinophile Pilze kulturell nachgewiesen werden: *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Scopulariopsis* sp. sowie *Acremonium* sp. . Die Hundepopulation im Tierheim A zeigte einen kulturellen Nachweis von anderen keratinophilen Pilzen von 95,65 % der untersuchten Proben. Unter den nachgewiesenen anderen keratinophilen Pilzen befanden sich *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Chrysosporium* sp., *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., *Auxarthron* sp., *Verticillium* sp.. Hingegen waren in

100 % der untersuchten Hundeproben andere keratinophile Pilze im Tierheim B nachweisbar. Die nachweisbaren Pilze waren: *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Chrysosporium* sp., *Alternaria* sp., *Cladophialophora* sp., *Chaetomium* sp., *Verticillium* sp.. Betrachtet man die Katzen- und Hundegruppen (Tierheim A  $n = 37$  und Tierheim B  $n = 38$ ) zusammen, so zeigten 83,78 % der kulturell untersuchten Tierproben im Tierheim A andere keratinophile Pilze. Im Tierheim B konnten andere keratinophile Pilze bei 73,68 % der kulturell untersuchten Proben nachgewiesen werden. So zeigten sich lediglich geringe Unterschiede bei der Gesamtbelastung der Tiere mit anderen keratinophilen Pilzen. Bei den kulturellen Nachweisraten anderer keratinophiler Pilze konnten mit  $p > 0,05$  mit dem zweiseitigen Exakten Fisher-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Tierheimen nachgewiesen werden.

### 4.3.4 Weitere Pilznachweise

Im Tierheim A konnte als Begleitflora in den kulturell untersuchten Katzenproben mit 71,43 % am häufigsten *Aspergillus* sp. isoliert werden, darunter besonders mit 35,71 % *Aspergillus fumigatus*. *Penicillium* sp. konnten in 14,29 % der Katzenproben kulturell nachgewiesen werden. Im Tierheim B hingegen waren bei den Katzenproben lediglich 10,71 % für *Aspergillus* sp. kulturell positiv. *Penicillium* sp. wurden bei 42,86 % der kulturell untersuchten Katzenproben identifiziert. *Aspergillus fumigatus* trat nur bei 7,14 % auf. Ein statistisch signifikanter Unterschied mit  $p < 0,05$  kann beim Auftreten von *Aspergillus* sp. zwischen den beiden Katzensgruppen der Tierheime mit dem zweiseitigen Exakten Fisher-Test nachgewiesen werden. Im Tierheim A konnte somit ein signifikant häufigeres Auftreten von *Aspergillus* sp. mit  $p < 0,05$  und insbesondere *Aspergillus fumigatus* mit  $p < 0,05$  in der Katzensgruppe im Vergleich zu der Katzensgruppe im Tierheim B nachgewiesen werden. Die unterschiedliche Anzahl der kulturellen Nachweise für *Penicillium* sp. bei den Katzensgruppen stellte sich mit  $p = 0,088$  als nicht signifikant dar. Die Unterschiede in der Belastung mit *Penicillium* sp. stellt sich zwar als nicht signifikant dar, jedoch lässt sich eine Tendenz im Auftreten dieser Spezies erkennen. Zwischen den Hundegruppen der beiden Tierheime gab es kaum Unterschiede der positiven kulturellen Nachweise für andere Pilze. Lediglich *Penicillium* sp. konnten im Tierheim B in 90 % der entnommenen Proben kulturell nachgewiesen werden. Im Tierheim A lag der positive kulturelle Nachweis von *Penicillium* sp. bei 43,48 % der Proben. Somit ließen sich mit dem zweiseitigen Exakten Fisher-Test mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede beim kulturellen Nachweis von *Penicillium* sp. zwischen den Hundegruppen der beiden Tierheime nachweisen. Des Weiteren sind im Tierheim B generell bei den Hunden und Katzen prozentual häufiger *Penicillium* sp. als im Tierheim A nachweisbar.

### 4.3.5 Umgebungsanalyse

#### 4.3.5.1 Allgemein

Die Umgebungsproben wurden homogen mit einem sterilen Tupfer aus dem direkten Umfeld der Tiere in beiden Tierheimen genommen. Unmittelbar vor Probenentnahme wurden die Tupfer aus der sterilen Verpackung entnommen und unverzüglich nach Beendigung wieder in diese verbracht.

Tabelle 17: Übersicht über nachweisbare Pilze in der Umgebung im Tierheim A

Pilze	kulturell positive Umgebungsproben
Schimmelpilze	79
<i>Penicillium</i> sp.	58
<i>Penicillium atrium</i>	2
<i>Pen. expansum</i>	1
<i>Pen. brevicompactum</i>	1
<i>Pen. notatum</i>	1
<i>Talaromyces purpurgenum</i>	1
<i>Aspergillus</i> sp.	28
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11
<i>Aspergillus versicolor</i>	4
<i>Acremonium</i> sp.	4
<i>Chrysosporium</i> sp.	3
<i>Auxarthron umbrinum</i>	1
<i>Aphanoascus fulvescens</i>	1
<i>Paecilomyces</i> sp.	1
<i>Verticillium</i> sp.	1
<i>Geotrichum candidum</i>	4
<i>Arthrographis</i> sp.	2
<i>Arthrographis kalrae</i>	1
<i>Botrytis</i> sp.	1
Schwärzepilze	28
<i>Alternaria alternata</i>	11
<i>Cladosporium</i> sp.	2
<i>Phialophora</i> sp.	1
<i>Fonsecaea</i> sp.	1
<i>Exophiala</i> sp.	1
<i>Aureobasidium</i> sp.	1
<i>Ulocladium</i> sp.	1
<i>Beauvaria bastiana</i>	1
Hefen	32
<i>Rhodotorula</i> sp.	16

## Ergebnisse

Tabelle 18: Übersicht über nachweisbare Pilze in der Umgebung im Tierheim B

Pilze	kulturell positive Umgebungsproben
<i>Microsporum canis</i>	5
Schimmelpilze	77
<i>Penicillium</i> sp.	9
<i>Aspergillus fumigatus</i>	55
<i>Aspergillus niger</i>	1
<i>Aspergillus</i> sp.	58
Schwärzepilze	4
<i>Alternaria alternata</i>	1
<i>Chaetonium</i> sp.	2
<i>Acremonium</i> sp.	3
<i>Chrysosporium</i> sp.	1
<i>Fusarium</i> sp.	1
Hefen	2
<i>Geotrichum candidum</i>	2
<i>Candida albicans</i>	1
<i>Auxarthron umbrinum</i>	1
<i>Syncephalastrum brevicaulis</i>	1
<i>Verticillium</i> sp.	1

Eine Auflistung der kulturell nachweisbaren Pilze aus den Umgebungsproben ist in Tabelle 17 für das Tierheim A und in Tabelle 18 für das Tierheim B dargestellt. Im Tierheim A wurden 139 Proben aus der direkten Umgebung der Tiere entnommen. 65,47 % der Proben waren kulturell mit Pilzen belastet. Im Tierheim B wurden insgesamt 119 Proben aus der Umgebung gewonnen. 58,82 % der Proben im Tierheim B waren kulturell mit Pilzen belastet.

Die Umweltproben wurden in beiden Tierheimen homogen von vergleichbaren Stellen entnommen. Eine grobe Einteilung erfolgte in Hundezwinger-, Katzenstuben- und Katzenquarantäne-Bereiche. Eine Auflistung der kulturell positiven Pilzproben im Tierheim A ist Tabelle 19 sowie für das Tierheim B Tabelle 20 zu entnehmen.

Tabelle 19: Übersicht über positive Pilzproben in der Umgebung im Tierheim A

Entnahmestelle	Tierheim A (n = 139)	
	positiv	%
Katzenbereich (n = 20)	14	70,00
Hundebereich (n = 87)	55	63,22
Katzenquarantäne (n = 14)	5	35,71
Maulkörbe (n = 4)	4	100,00
Transportkisten / Fahrzeug (n = 14)	13	92,86



Tabelle 20: Übersicht über positive Pilzproben in der Umgebung im Tierheim B

Entnahmestelle	Tierheim B ( $n = 119$ )	
	positiv	%
Katzenbereich ( $n = 54$ )	54	100,00
Hundebereich ( $n = 51$ )	15	29,41
Katzenquarantäne ( $n = 14$ )	1	7,14
Maulkörbe	nicht ermittelt	nicht ermittelt
Transportkisten / Fahrzeug	nicht ermittelt	nicht ermittelt

Der Vergleich der Ergebnisse der Katzenstuben ergab keine signifikanten Unterschiede. Mit dem zweiseitigen Exakten Fisher-Test zeigten die Stuben im Tierheim B mit  $p > 0,05$  keine signifikant stärkere Belastung der Umgebungsproben mit Pilzen als die Katzenstuben im Tierheim A. Mit Hilfe des zweiseitigen Exakten Fisher-Test konnte mit  $p < 0,05$  ein signifikanter Unterschied in der Belastung der Umgebungsproben der Hunde mit Pilzen nachgewiesen werden. Die Hundezwinger im Tierheim A waren in 63,22 % der Pilzproben kulturell positiv. Die Pilzkultur positiven Proben aus der Umgebung der Hundezwinger waren im Tierheim B mit 29,41 % und  $p < 0,05$  signifikant geringer. Die Untersuchung der Katzenquarantänebereiche ergab eine prozentual unterschiedliche Belastung mit Pilzen. Beide Quarantänebereiche waren generell aber gering mit Pilzen belastet. Es konnten mit  $p > 0,05$  keine signifikanten Unterschiede zwischen den Quarantänebereichen der Tierheime nachgewiesen werden.

#### 4.3.5.2 Dermatophyten

Im Tierheim A konnte in keiner der Tupferproben aus der Umgebung eine Dermatophytenspezies nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigten 4,2 % der Proben aus der Umgebung der Tiere im Tierheim B einen positiven Nachweis für *M. canis*. Mit dem Exakten Fisher-Test konnten somit signifikante Unterschiede mit  $p < 0,05$  beim Auftreten von Dermatophyten in der Umgebungsflora der beiden Tierheime nachgewiesen werden. Alle *M. canis*-Isolate aus der Umgebung im Tierheim B wurden in der Katzenstube II nachgewiesen.

#### 4.3.5.3 Andere keratinophile Erreger

Zu den anderen keratinophilen Pilzen gehören bei der Umgebungsanalyse folgende Gattungen und Arten: *Acremonium* sp. (MARTINEZ-HERRERA et al. 2015), *Chrysosporium* sp. (ANBU et al. 2006), *Alternaria alternata* (APPRICH et al. 2006; PAKSHIR et al. 2013), *Cladosporium* sp. (CARETTA et al. 1989), *Aureobasidium* sp. (BERNHARDT et al. 2015), *Ulocladium* sp. (KACHUEI et al. 2012; ALTMAYER und SCHON 1981), *Phialophora* sp.

als ein Erreger der Chromomykose, *Exophiala* sp. (BERNHARDT et al. 2015) als ein Erreger von Phaeophycomykosen, *Verticillium* sp. (FILIPELLO et al. 1991; RODRIGUES MARCONDES et al. 2008), *Beauveria bassiana* (RODRIGUES MARCONDES et al. 2008), *Auxarthron umbrinum* (HUBKA et al. 2013), *Aphanoascus* sp. (CANO et al. 1991; CARETTA et al. 1989), *Talaromyces* sp. (*Talaromyces marneffeii* als Synonym für *Penicillium marneffeii*) als Erreger der Penicilliosis marneffeii (XIANG et al. 2015) sowie *Paecilomyces* sp. als Erreger der Hyalohyphomykose, die ebenso in der Lage sind Keratinasen zu produzieren (GRADISAR et al. 2005). Weiterhin konnten die Pilze *Syncephalastrum* sp., *Fusarium* sp. und *Verticillium* sp. mit in die anderen keratinophilen Pilze mit einbezogen werden. Da diese durchaus die Fähigkeiten besitzen, keratine Strukturen zu verstoffwechseln (GODHEJA und SHEKHAR 2014). Bei der Auswertung der Umgebungsanalyse zeigte sich, dass beide Tierheime ähnliches Auftreten von anderen keratinophilen Pilzen aufwiesen. Das Tierheim A zeigte in 59,71 % der untersuchten Proben keratinophile Pilze. Das Tierheim B zeigte mit 58,82 % annähernd gleich viele positive Proben für andere keratinophile Pilze. Die Zusammensetzung aller nachweisbaren Pilze im Tierheim A zeigte sich deutlich umfangreicher als im Tierheim B. Wie in Tabelle 17 und Tabelle 18 dargestellt, konnten im Tierheim A weitaus mehr Spezies, als im Tierheim B nachgewiesen werden.

#### 4.3.5.4 Andere Erregernachweise

Die aus der Umgebung im Tierheim A entnommenen Proben zeigten eine hohe Belastung an Schimmelpilzen. Darunter waren verschiedene *Penicillium* sp. mit 41,73 % und Schwärzepilze mit 20,14 %. Weiterhin wurden im Tierheim A in lediglich 20,14 % der Proben *Aspergillus* sp. nachgewiesen. Im Gegensatz dazu wurden im Tierheim B in 48,74 % der Umgebungsproben *Aspergillus* sp. nachgewiesen. Wie Tabelle 17 und Tabelle 18 zu entnehmen, zeigt auch das Auftreten von *Aspergillus fumigatus* und *Penicillium* sp. auffallende Unterschiede auf. *Aspergillus* sp. und *Aspergillus fumigatus* traten im Tierheim B signifikant häufiger (mit  $p < 0,05$ ) als im Tierheim A auf. Hingegen war das Auftreten von *Penicillium* sp. signifikant (mit  $p < 0,05$ ) häufiger im Tierheim A nachweisbar.

Auch das Vorkommen von Schwärzepilzen unterschied sich in beiden Tierheimen. So waren im Tierheim A Schwärzepilze signifikant häufiger (mit  $p < 0,05$ ) nachweisbar.

#### 4.3.5.5 Umgebungsuntersuchung nach Einsatz eines Ozongerätes im Tierheim B

Zum Zeitpunkt der Probenentnahme gab es die Möglichkeit, einen direkten Vergleich mit Vorher- und Nachher-Probenentnahme nach dem Einsatz eines Ozongerätes (AIR CLEANER

## Ergebnisse

OZ 1000) durchzuführen. In einer Katzenstube wurden 13 Proben aus der Umgebung entnommen. Für fünf Stunden war das Ozongerät in diesem Raum im Einsatz. Nach Abschluss der Raumdeseinfektion wurden erneut 13 Tupferproben von den gleichen Stellen entnommen. Vor der Ozonbehandlung gab es bei der Auswertung zwei positive Proben mit Schwärzepilzen, eine positive Probe mit *Penicillium* sp. sowie Bakterien und ein positiver Nachweis einer *Emmonsia* sp.. Nach Beendigung des Ozongeräteinsatzes konnte in 0 % der entnommenen Tupferproben ein Erregernachweis geführt werden. Mittels Exaktem Fisher-Test (mit  $p > 0,05$  und  $n = 13$ ) sind keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisbar, jedoch ist eine deutliche Tendenz der Ergebnisse zu erkennen. Aufgrund der zu geringen Probenanzahl (von  $n = 13$ ) sind die Ergebnisse auf signifikante Unterschiede bedingt zu interpretieren.

### **4.4 MALDI-TOF-Massenspektrometer-Analyse**

Die kultur- und mikromorphologisch erhobene Dermatophyten-Diagnose konnte massenspektrometrisch im Biotyper (Firma Bruker) bestätigt werden. In Abbildung 1 sind drei typische Massenspektren für *M. canis* im Vergleich zu Referenzspektren der internen Datenbank dargestellt.

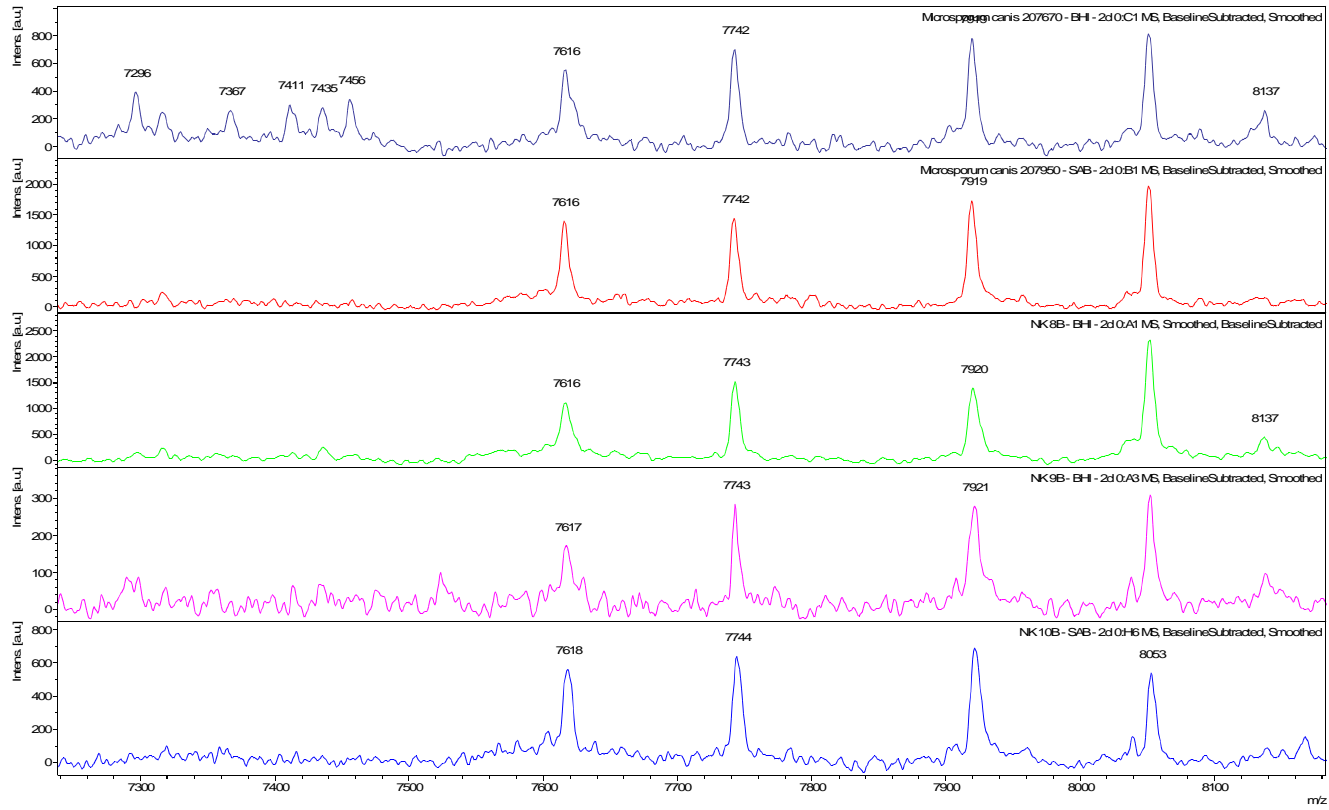


Abbildung 1: zwei MALDI-TOF Referenzspektren von *M. canis* (oben), die unteren 3 Spektren wurden isoliert aus Katzenproben des Tierheims B

## Ergebnisse

Die beiden oberen Spektren in Abbildung 1 stellen Referenzspektren aus der vorhandenen MALDI-TOF-Massenspektren-Datenbank des Instituts für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig dar. Die drei unteren Spektren stammen von *M. canis*-Isolaten von Katzen aus dem Tierheim B. Die untersuchten Proben waren hierbei NK8B, NK9B und NK10B. Anhand der massenspektrometrischen Untersuchung konnten die kulturellen Diagnosen bestätigt werden.

Die Peaks mit der höchsten Intensität stimmen mit denen der Referenzstämme überein.

Weiterhin ist zu erkennen, dass der Stamm aus der Probe NK 8B über einen zusätzlichen Peak bei 8.137 m/z verfügt. Dieser Peak ist beim ersten Referenzstamm wiederzufinden.

Die in Abbildung 1 gezeigten beispielhaften Spektren der *Microsporium canis* Isolate weisen im Vergleich zu den Referenzstämmen einen Score Wert  $> 2$  auf. In Abbildung 2 sind die Verwandtschaftsverhältnisse einiger *M. canis* Isolate mittels Dendrogramm nach MALDI-TOF-Massenspektrometer-Analyse dargestellt. Die Nähe zur rechten y-Achse wird als Grad der Verwandtschaft angesehen. Je näher Isolate an dieser Achse liegen desto größer ist ihr Verwandtschaftsgrad.

Zu erkennen sind vier Cluster: Cluster I bestehend aus *M. canis* Referenzstamm 207950 und den Proben NK 26 B, NU 2-5 b, NK 10 B, NK 16 B-b, NK14 B; im Cluster II befinden sich die Proben NK 9 B, NK 15 B, NK 16 B-a, NK 8 B; Cluster III mit den beiden Proben NU 2.1 und NK 24 B sowie dem Cluster IV bestehend aus dem Referenzstamm *M. canis* 207670 und der Probe NK 25 B.

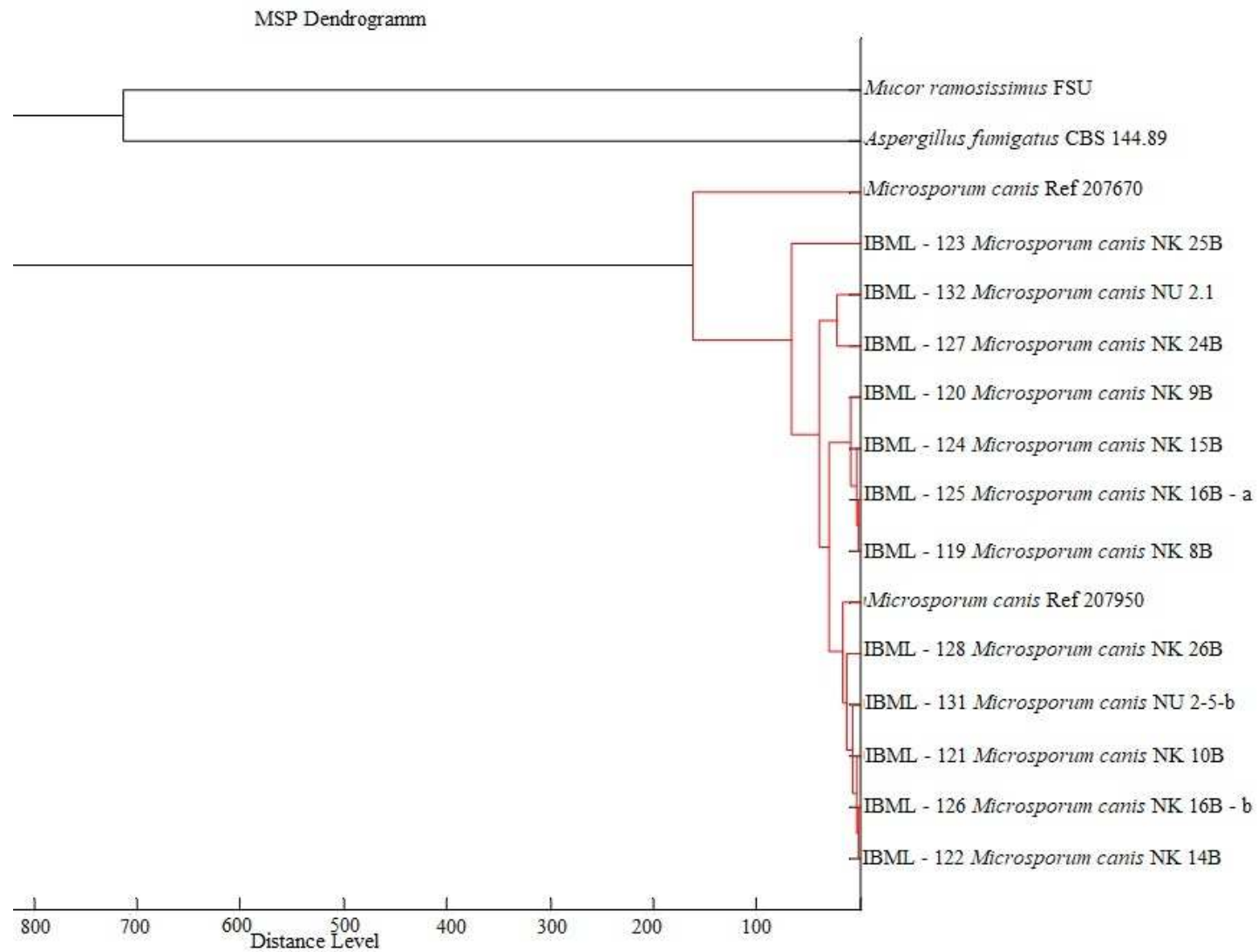


Abbildung 2: Dendrogramm für einige auf *M. canis* untersuchte Proben

### 4.5 Pilzbestimmung mittels rDNA-Analyse

Bei der kulturellen Auswertung Dermatophyten-verdächtiger-Proben konnten nicht immer eindeutige Isolate hinsichtlich des Dermatophytenwachstums identifiziert werden. Somit wurden Kulturen subkultiviert und teilweise zur rDNA-Analyse weitergeleitet. In Tabelle 21 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Aufgrund der Koloniemorphologie bestand der Verdacht auf Dermatophyten. Die nachfolgend aufgeführten Pilzspezies wuchsen auf Dermatophyten-Agar unter Zusatz von Chloramphenicol und Cycloheximid. Als Beispiel zeigen die Abbildung 10 sowie Abbildung 11 (siehe Anhang) den Verdacht der Probe SH18B auf Dermatophyten. Diese wurde dann per ITS-Analyse der rDNA als *Chrysosporium articulatum* identifiziert.

In Abbildung 12 und Abbildung 13 (siehe Anhang) sind wie oben beschrieben, Dermatophyten verdächtige Pilzkolonien der Proben SH3B, SH16B und die Probe SU 23.3(1) abgebildet. Kulturell bestand der Verdacht auf *M. canis*. Aufgrund der ITS-Analyse der rDNA konnte für diese Proben der Pilz *Auxarthron umbrinum* nachgewiesen werden. In Abbildung 14 und in Abbildung 15 (siehe Anhang) sind für die Probe SK1B die Kolonieunterseite und die Kolonieoberseite abgebildet. Kulturell bestand der Verdacht auf *M. canis*. Aufgrund der ITS-Analyse der rDNA konnte auch für diese Probe *Auxarthron umbrinum* nachgewiesen werden. In vier Proben konnten mittels Analyse der ITS-Regionen der rDNA *Chrysosporium* sp. nachgewiesen werden.

## Ergebnisse

Tabelle 21: Übersicht über Ergebnisse der ITS-PCR Analyse ausgewählter Isolate

Probe	Anzahl ermittelte Basenpaare (ITS rDNA)	NCBI - Ergebnis	Anzahl ermittelte Basenpaare (Beta Tubulin)	NCBI - Ergebnis	Bemerkung
SK1B	535 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	574 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	Punktmutation in ITS
SH16B	534 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	576 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	100 % identisch mit SU 23.3 (3)
SH3B	534 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	576 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	Punktmutation in ITS
SU23.3 (3)	534 bp (kontaminiert)	<i>Auxarthron umbrinum</i>	576 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	100 % identisch mit SH16B
SU23.3 (1)	570 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	527 bp	<i>Auxarthron umbrinum</i>	100 % identisch mit SH16B
SU 19.3	526 bp	<i>Beauveria bassiana</i> ( <i>Cordyceps bassiana</i> )	599 bp	<i>Beauveria bassiana</i> ( <i>Cordyceps bassiana</i> )	insektenpathogener Pilz
SU5.9	kontaminiert	<i>Tyrophagus</i> spp., keine Referenzsequenz für d. Artdiff.	592 bp	<i>Talaromyces purpurogenum</i>	eigentlich nicht pathogen
SH17B	565 bp	<i>Chrysosporium articulatum</i> o. <i>Chrysosporium keratinophilum</i>	633 bp	keine Referenzsequenz	ITS Sequenz ist mit 99 % zu beiden Arten identisch
SH21B	538 bp	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	516 bp	keine Referenzsequenz	
SH18B	578 bp	<i>Chrysosporium articulatum</i>	654 bp	keine Referenzsequenz	
SH19B	kontaminiert	<i>Tyrophagus</i> spp., keine Referenzsequenz für d. Artdiff.	446 bp	keine Referenzsequenz	93 % verwandt mit <i>Auxarthron</i> spp.
SU23.2	560 bp	<i>Chrysosporium articulatum</i> o. <i>Chr. keratinophilum</i>	635 bp	keine Referenzsequenz	ITS Sequenz ist mit 99 % zu beiden Arten identisch
SU 23.3 (2)	570 bp	<i>Aphanoascus fulvescens</i>	527 bp	keine Referenzsequenz	

In einer Probe konnte *Beauveria bassiana* (Insekten pathogener Pilz) mit gleicher Methode bestimmt werden. Ein weiteres Dermatophyten verdächtiges Isolat aus der Umgebungsprobe



## Ergebnisse

SU23.3(2) konnte mit Hilfe der ITS-Analyse als *Aphanoascus fulvescens* identifiziert werden. In Abbildung 16 und Abbildung 17 (siehe Anhang) sind entsprechende Kulturen dargestellt. Im Vergleich dazu ein Isolat aus einer Katzenhaarprobe aus dem Tierheim B mit positivem *M. canis* Nachweis. In Abbildung 18 und Abbildung 19 (siehe Anhang) sind entsprechend die Kolonien mit Unterseite und Oberseite dargestellt.

In einigen Proben zeigte sich eine Kontamination mit *Tyrophagus* spp. (Vorratsmilben, siehe Anhang Abbildung 20). Dies beeinflusste die Pilzsequenzanalyse der Dermatophyten verdächtigen Isolate enorm. Schon 1989 wurden diese Milben im Zusammenhang mit *M. canis* beziehungsweise Pilzinfektionen beobachtet (CARETTA et al. 1989). Möglicherweise spielen sie eine Rolle bei der Verbreitung der infektiösen Pilzelemente. In den vorliegenden Untersuchungen konnte die Milben-DNA mit den pilzspezifischen Primern für den ITS-Bereich der rDNA amplifiziert werden. Dies war zuvor nicht bekannt. Demzufolge konnten einige Pilzsequenzen nicht weiter analysiert werden. Die ITS-Sequenzen der untersuchten Milben-Proben konnten nach einem Vergleich mit der NCBI-Datenbank mit großer Wahrscheinlichkeit der Vorratsmilbe *Tyrophagus* spp. zugeordnet werden.

## 4.6 Serologische Ergebnisse

### 4.6.1 Serologische Auswertung der Katzengruppen in beiden Tierheimen

Nach der kulturellen Pilzdiagnostik erfolgte die Auswertung der serologisch untersuchten Blutproben. In beiden Tierheimen konnten bei einigen Hunden und Katzen Blutproben gewonnen werden. In Tabelle 22 sind die gewonnenen Daten der Katzen in beiden Tierheimen zusammengefasst. Für den Vergleich der beiden Tierheime wurden jeweils Mittelwert, Standardabweichung, Median sowie Minimal- und Maximalwert berechnet. Bei den relativen Anti-Dermatophyten-Antikörperkonzentrationen sind Werte ab 300 RE/ml als erhöht bewertet worden. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen im Tierheim A war bei einer Katze (SK 9) das Immunglobulin G gegen *M. canis* (302 RE/ml) und *M. gypseum* (611 RE/ml) erhöht.

Im Tierheim B lagen von den untersuchten Serumproben ( $n = 18$ ) fünf deutlich über ( $> 300$  RE/ml) dem internen Laborstandard (100 RE/ml) für die relativen Anti-Dermatophyten-Antikörper gegen *M. canis*. Das betraf die Proben NK 15, NK 16, NK 17, NK 19 und NK 23 (Probennummer 29, 30, 31, 33 und 37). In Tabelle 22 sind die entsprechenden Einzelwerte dargestellt. Zur Veranschaulichung der ermittelten Werte der Katzen und Hunde sind in Abbildung 3 bis Abbildung 9 Boxplot Diagramme einiger Untersuchungsparameter der untersuchten Vergleichsgruppen dargestellt. Die Box wird dabei durch das untere und obere Quartil begrenzt (25 % - 75 %). Innerhalb der Box ist als Kennwert der jeweilige Median der Verteilung zu erkennen. Die unteren und oberen Antennen (Whisker) stellen jeweils den Minimum- bzw. den Maximumwert der Verteilung dar. Dies gilt für alle dargestellten Box-Plot Diagramme.

Um einen Überblick über die serologischen Ergebnisse beider Tierheime zu erlangen, wurden entsprechende statistische Kennzahlen ermittelt. In Tabelle 23 sind die Werte der Katzen in beiden Tierheimen, A und B, im Vergleich dargestellt.

Tabelle 22: Übersicht der Serumwerte der Katzen in beiden Tierheimen (n.e. nicht ermittelt)

Proben Nummer Katze	Haut- u. Haarveränderungen	Dermatophytenkultur	Diagnose	IgG-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M. gypseum</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T. mentagrophytes</i> (RE/ml)	Haptoglobulin (mg/ml)
1	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
2	negativ	negativ	o.b.B.	38	114	43	1,86
3	negativ	negativ	o.b.B.	10	18	14	0,88

## Ergebnisse

Proben Nummer Katze	Haut- u. Haar- veränderungen	Dermato- phyten- kultur	Diagnose	IgG-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M.</i> <i>gypseum</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T. menta- gro- phytes</i> (RE/ml)	Hapto- globin (mg/ml)
4	negativ	negativ	o.b.B.	11	30	14	1,85
5	positiv	negativ	Haar- veränder- ungen	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
6	negativ	negativ	o.b.B.	10	34	12	0,67
7	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
8	positiv	negativ	Alopezie, Floh- befall	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
9	negativ	negativ	o.b.B.	302	611	146	2,81
10	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
11	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
12	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
13	positiv	negativ	Haar- veränder- ungen	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
14	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
15	positiv	negativ	Alopezie	46	136	35	2,97
16	negativ	negativ	o.b.B.	98	259	92	5,06
17	negativ	negativ	o.b.B.	16	41	8	1,14
18	negativ	negativ	o.b.B.	112	94	48	2,33
19	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
20	negativ	negativ	o.b.B.	27	59	27	4,53
21	negativ	negativ	o.b.B.	20	51	14	3,27
22	negativ	positiv	Dermato- phytose	45	81	45	2,93
23	negativ	positiv	Dermato- phytose	32	77	25	1,94
24	negativ	positiv	Dermato- phytose	58	90	21	1,44
25	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
26	negativ	negativ	o.b.B.	23	41	16	3,85
27	negativ	negativ	o.b.B.	107	93	48	3,94
28	negativ	positiv	Dermato- phytose	123	195	87	1,42

## Ergebnisse

Proben Nummer Katze	Haut- u. Haar- veränderungen	Dermato- phyten- kultur	Diagnose	IgG-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M.</i> <i>gypseum</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T. menta-</i> <i>gro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	Hapto- globin (mg/ml)
29	negativ	positiv	Dermato- phytose	2373	2076	3555	1,35
30	negativ	positiv	Dermato- phytose	527	742	314	1,88
31	negativ	negativ	o.b.B.	1858	1738	1797	1,73
32	negativ	positiv	Dermato- phytose	262	739	350	2,11
33	positiv	negativ	Alopezie	362	796	687	1,51
34	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
35	negativ	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
36	negativ	negativ	o.b.B.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
37	negativ	negativ	o.b.B.	1894	1767	2228	1,33
38	negativ	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
39	positiv	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
40	positiv	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
41	negativ	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
42	positiv	positiv	Dermato- phytose	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.

## Ergebnisse

Tabelle 23: Übersicht über statistische Kennzahlen der Serumwerte der Katzen in beiden Tierheimen

	Tierheim A						Tierheim B					
	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Median	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Median	<i>Min</i>	<i>Max</i>
IgG-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	5	74,2	127,91	11	10	302	18	443,5	754,07	102,5	16	2373
IgG-anti- <i>M. gypseum</i> (RE/ml)	5	161,4	254,19	34	18	611	18	504,17	676,44	115	41	2076
IgG-anti- <i>T. mentagrophytes</i> (RE/ml)	5	45,8	57,47	14	12	146	18	522,06	989,5	48	8	3555
Haptoglobin (mg/ml)	5	1,61	0,86	1,85	0,67	2,81	18	2,48	1,21	2,02	1,14	5,06

Nach Kolmogorov-Smirnov liegt in der gesamten Gruppe der Katzen mit einer Signifikanz von  $p < 0,05$  keine Normalverteilung der Serumantikörper IgG-anti-*M. canis* ( $p = 0,01$ ) und IgG-anti-*M. gypseum* mit ( $p = 0,02$ ) sowie IgG-anti-*T. mentagrophytes* ( $p < 0,01$ ) vor.

Haptoglobin (in mg/ml) liegt mit einer Signifikanz von  $p > 0,05$  (mit  $p = 0,42$ ) normalverteilt vor. Daraus ergibt sich die Auswertung der Anti-Dermatophyten-Antikörper über den Vergleich der Mediane mit dem U-Test nach Mann-Whitney sowie die weitere Auswertung der Haptoglobinwerte über den Vergleich der Mittelwerte und den Exakten Test nach Fisher.

Die Mediane der felines IgG-Antikörper gegen die untersuchten Dermatophytenextraktantigene zeigten im Tierheim B deutlich höhere Werte als im Tierheim A. Entsprechende Mediane der IgG-Antikörper beider Tierheime sind Tabelle 23 zu entnehmen.

Nach Überprüfung mit dem Mann-Whitney-Test zeigt sich, dass sich die IgG-Antikörper Konzentrationen gegen *M. canis* in beiden Tierheimen mit  $p < 0,05$  ( $p = 0,047$ ) signifikant unterscheiden. Für *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* zeigten sich mit  $p > 0,05$  keine signifikanten Unterschiede der relativen Antikörperkonzentrationen zwischen den beiden Katzengruppen (Tierheim B zu Tierheim A). Bringt man die relativen Anti-Dermatophyten Immunglobulin Konzentrationen in einen Bezug zu den erfassten epidemiologischen Variablen, so sind Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Antikörperkonzentrationen zu erkennen. Besonders auffallend sind die ermittelten Antikörperkonzentrationen der weiblichen Katzen sowie der Katzen zwischen ein und drei Jahren (siehe Abbildung 3, Abbildung 4 und Abbildung 5).

## Ergebnisse

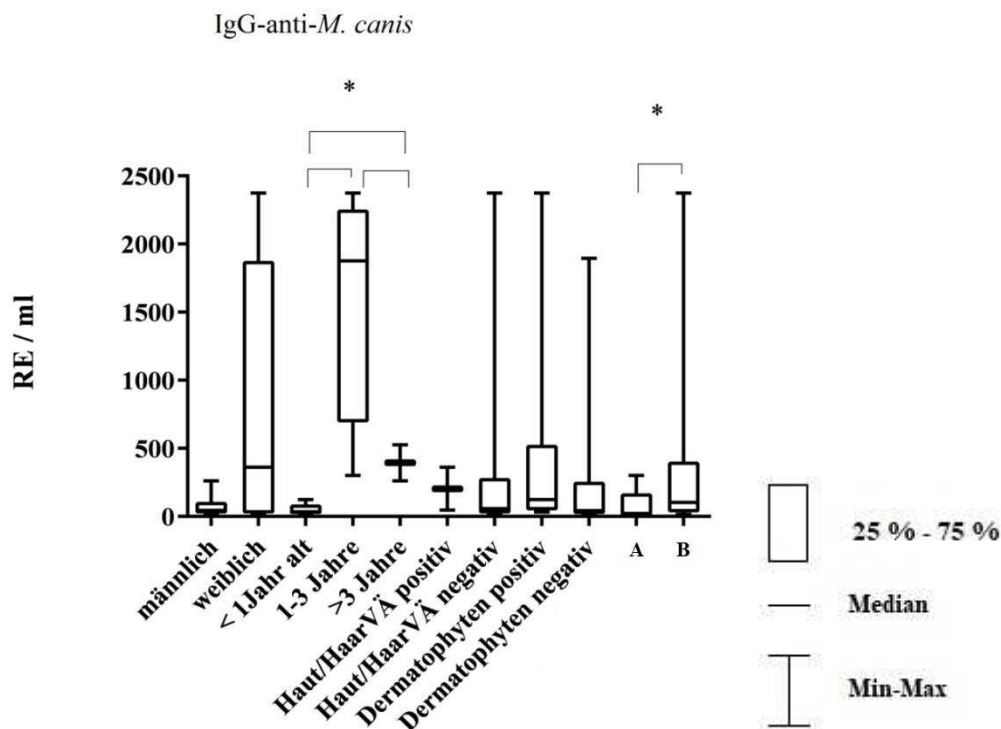


Abbildung 3: Boxplot-Diagramm für IgG-anti-*M. canis* der einzelnen Katzensgruppen ( $*p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24

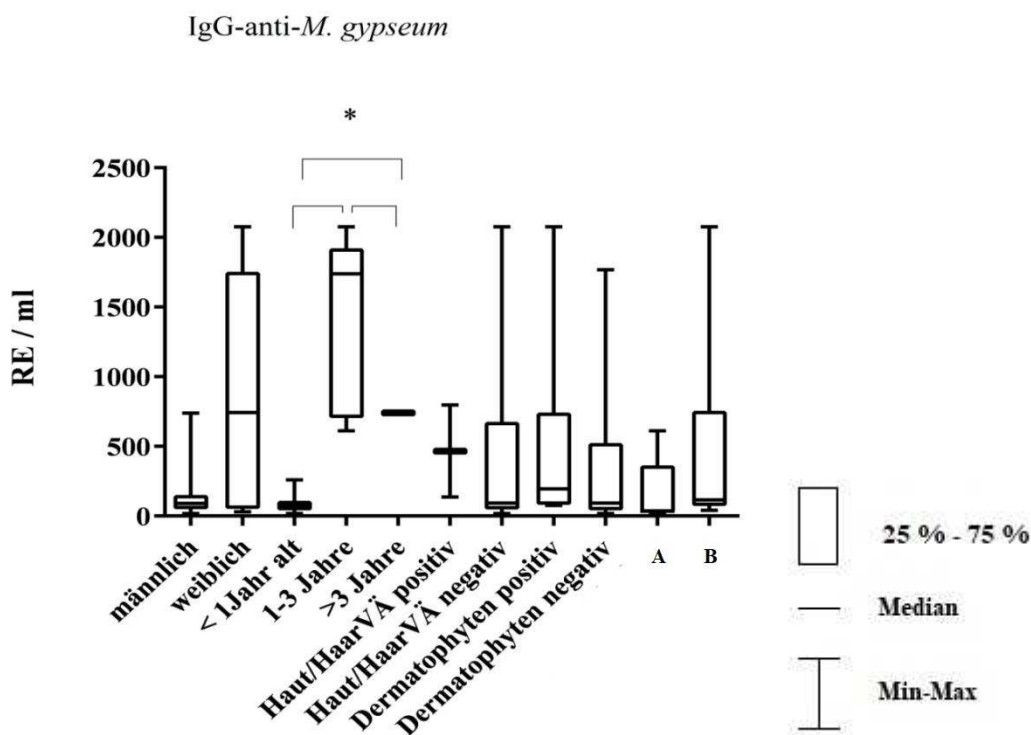


Abbildung 4: Boxplot-Diagramm für IgG-anti-*M. gypseum* der einzelnen Katzensgruppen ( $*p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24

IgG-anti-*T. mentagrophytes*

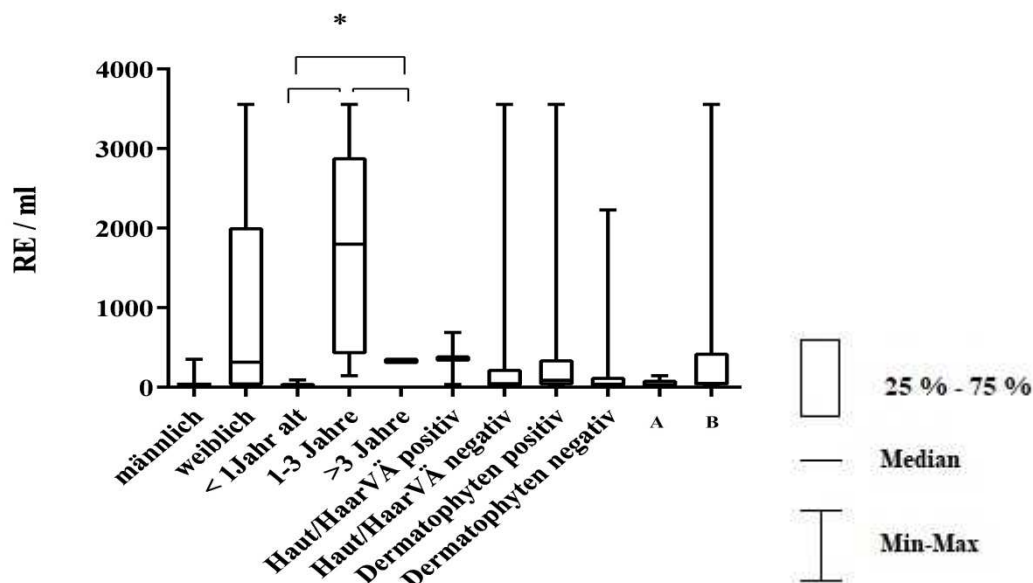


Abbildung 5: Boxplot-Diagramm für IgG-anti-*T. mentagrophytes* der einzelnen Katzenruppen (\* $p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24

Tabelle 24: Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen zum Vergleich der serologischen Parameter

Alter	< 1 Jahr	16
	1 – 3 Jahre	5
	> 3 Jahre	2
Geschlecht	männlich	14
	weiblich	9
Haut- und Haar- veränderungen	positiv	2
	negativ	21
Dermatophyten- kultur	positiv	7
	negativ	16
Tierheim A		5
Tierheim B		18

Die relativen IgG-Konzentrationen gegen *M. canis* zeigen wie in Abbildung 3 bereits dargestellt im Vergleich der beiden Tierheime A und B signifikant, mit  $p < 0,05$ , unterschiedliche Werte.

Betrachtet man die anderen epidemiologischen Variablen, so sind bis auf die Altersgruppen (mit  $p < 0,05$ ) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Katzensgruppen feststellbar. Die festgestellten Unterschiede zwischen den weiblichen und männlichen Katzen stellen sich mit  $p > 0,05$  als nicht signifikant dar. Für die anderen Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede mit  $p > 0,05$  nachgewiesen werden. Der Vergleich der Altersgruppen mittels dem

## Ergebnisse

nicht parametrischen Testverfahren nach Kruskal-Wallis zeigt, dass sich die zentralen Tendenzen der Immunglobuline G zwischen den drei Altersgruppen signifikant für alle drei Dermatophyten mit  $p < 0,0001$  (IgG-anti-*M. canis*),  $p < 0,0008$  (IgG-anti- *M. gypseum*) und  $p < 0,0008$  (IgG-anti- *T. mentagrophytes*) voneinander unterscheiden. Bei den durchgeführten serologischen Untersuchungen sind die teilweise geringen Stichprobenumfänge einzelner epidemiologischer Gruppen bei den Katzen zu beachten (siehe Tabelle 24). So ist beispielsweise bei den über drei Jahre alten Katzen sowie den Katzen mit Haut- oder Haarveränderungen mit  $n = 2$  ein sehr geringer Stichprobenumfang vorhanden. Hier kann auf eine Bedeutung der Ergebnisse nur vorsichtig geschlossen werden. Weiterhin wurde untersucht, ob eine Korrelation der untersuchten Anti-Dermatophyten-Immunglobulin-G-Konzentrationen in Bezug zu den verschiedenen Altersgruppen besteht. Bei allen drei erfassten Anti-Dermatophyten-Immunglobulin-G-Konzentrationen besteht eine Korrelation zwischen dem Alter und der Höhe der Antikörper-Konzentrationen. In Tabelle 25 sind einzelne Werte zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 25: Korrelation Alter und Immunglobulin G Konzentrationen  
(\*  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$ )

	IgG-anti- <i>M. canis</i>	IgG-anti- <i>M. gypseum</i>	IgG-anti- <i>T. mentagrophytes</i>
Alter/Pearson Korrelation	0,5168*	0,6778**	0,4633*
Sig. (2-seitig)	0,0116	0,0004	0,0260
Anzahl <i>n</i>	23	23	23

Da für die Haptoglobin-Konzentration eine Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov vorliegt, erfolgte der Test auf Varianzhomogenität auf dem Signifikanzniveau von 95 %.

Mit einer Signifikanz von  $p = 0,25$  kann Varianzhomogenität angenommen werden. Im Tierheim B wurde ein höherer Mittelwert ( $\bar{x} = 2,48$ ,  $SD = 1,21$ ) der Haptoglobin-Konzentration als im Tierheim A ( $\bar{x} = 1,61$ ,  $SD = 0,86$ ) festgestellt. Dieser Unterschied war bei  $p > 0,05$  nicht signifikant (siehe Tabelle 26).



## Ergebnisse

Tabelle 26: Levene-Test auf Varianzhomogenität der Haptoglobin Werte (n.e. nicht ermittelt)

		F	Sig.	t	df	Sig. (2-seitig)	mittlere Differenz	Standardfehler des Mittelwertes	95 % Konfidenz Intervall der Differenz	
									untere	obere
Haptoglobin	Varianzen sind gleich	1,42	0,25	-1,5	21	0,15	-0,87	0,48	-1,87	0,13
	Varianzen sind nicht gleich	n.e.	n.e.	-1,8	8,93	0,1	-0,87	0,48	-1,96	0,22

Betrachtet man die Haptoglobin-Konzentrationen in Bezug zu den epidemiologisch erfassten Daten, so lässt sich aus Abbildung 6 erkennen, dass kaum auffallende Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Geschlecht, Alter, Haut- und Haarveränderungen, Tierheime) bestehen.

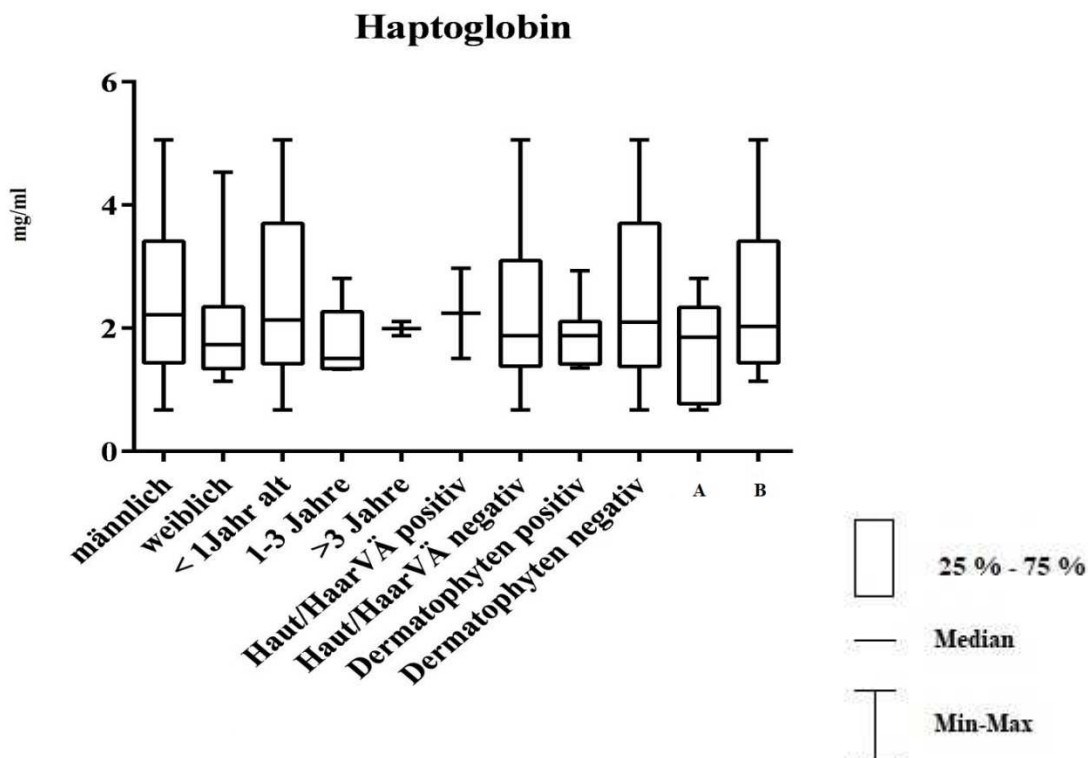


Abbildung 6: Boxplot-Diagramm Haptoglobin Werte in den einzelnen Gruppen der Katzen; Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24

Wie in Abbildung 6 und Tabelle 27 erkennbar, sind in den Gruppen der unter einem Jahr alten Katzen, der männlichen Tiere sowie der Dermatophyten-Kultur negativen Tiere höhere Mittelwerte feststellbar.

## Ergebnisse

Tabelle 27: Statistische Kennzahlen Haptoglobin in den Katzensgruppen (n.d. nicht durchgeführt)

			Haptoglobin (mg/ml)		
		<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Standardfehler ( <i>SE</i> )
Alter	< 1 Jahr	16	2,50	1,34	0,33
	1 – 3 Jahre	5	1,75	0,62	0,28
	> 3 Jahre	2	1,99	n.d.	n.d.
Geschlecht	männlich	14	2,48	1,26	0,34
	weiblich	9	2,01	1,06	0,35
Haut- und Haar- veränderungen	positiv	2	2,24	n.d.	n.d.
	negativ	21	2,30	1,22	0,27
Dermatophyten- kultur	positiv	7	1,87	0,55	0,21
	negativ	16	2,48	1,34	0,34

Es konnten keine signifikanten Unterschiede mit Hilfe des t-Testes nachgewiesen werden. Negative Ergebnisse sind nicht aufgeführt. Zu erkennen ist jedoch, dass die Katzen zwischen einem und drei Jahren sowie die kulturell auf Dermatophyten positiven Katzen die niedrigsten Mittelwerte für Haptoglobin zeigen (siehe Tabelle 27).

### 4.6.2 Serologische Auswertung der Hundegruppen in beiden Tierheimen

In den Hundegruppen wurden zur serologischen Beurteilung folgende Parameter untersucht: Die Immunglobuline G, M, A, E gegen *M. canis*, gegen *T. mentagrophytes* und gegen *M. gypseum* sowie das Akute-Phase Protein CRP. Einzelne Serumwerte sind Tabelle 28 zu entnehmen. Da es nicht möglich war bei allen Hunden Serumproben zu gewinnen, sind diese in der Tabelle 28 mit n.e. (nicht erfasst) gekennzeichnet. Der Vergleich der Serumantikörper zeigt, dass im Tierheim A ein Hund in den Parametern IgM- und IgE-anti-*M. canis*, IgM-anti-*M. gypseum* sowie einem CRP-Wert von 34,50 deutlich erhöhte Werte zeigte. Ein Hund zeigt einen deutlich erhöhten Wert in dem Parameter IgG-anti-*M. gypseum*. Ein weiterer Hund zeigt erhöhte Werte in den Parametern IgG- und IgA-anti-*M. canis*, sowie IgG- und IgA-anti-*T. mentagrophytes* sowie IgG-anti-*M. gypseum*. Zwei Hunde zeigten in dem Parameter IgM-anti-*T. mentagrophytes* erhöhte Werte sowie einer der Hunde zusätzlich einen erhöhten CRP-Wert von 17,90. Im Tierheim B zeigte ein Hund einen deutlich erhöhten CRP-Wert von 18,41. Ein weiterer Hund hatte in den Parametern IgA-anti-*M. canis*, IgA-anti-*T. mentagrophytes*, sowie IgA-anti-*M. gypseum* deutlich erhöhte Werte. Ein dritter Hund fiel durch erhöh-

## Ergebnisse

te Werte in den Parametern IgG- und IgE-anti-*T. mentagrophytes*, sowie IgG-anti-*M. gypseum* auf. Eine Übersicht der einzelnen ermittelten Werte ist in Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: Übersicht über Serumwerte der Hunde in beiden Tierheimen (n.e. nicht ermittelt)

Proben Nr. Hund	IgG- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgM- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	CRP in (µg/ml)
1	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
2	64	448	50	304	68	278	56	273	102	593	92	294	34,5
3	77	299	18	116	78	180	14	211	65	340	21	118	3,38
4	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
5	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
6	124	112	133	108	180	174	133	145	149	154	123	105	1,66
7	39	120	50	103	97	195	45	189	107	118	67	151	7,7
8	99	74	514	116	180	127	763	186	158	82	407	145	2,08
9	45	99	43	82	135	194	50	239	154	96	60	170	1,67
10	352	22	320	66	309	32	456	101	332	23	237	98	1,75
11	81	181	59	174	251	347	79	258	103	210	62	166	2

Proben Nr. Hund	IgG- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgM- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	CRP in (µg/ml)
12	54	31	9	35	183	47	10	82	167	34	23	66	4,65
13	43	53	60	38	93	91	101	64	80	73	77	53	1,7
14	98	108	84	120	343	295	133	189	290	226	79	115	17,9
15	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
16	41	102	38	85	248	143	49	223	71	194	46	128	1,7
17	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
18	101	106	40	95	228	119	35	76	242	121	39	127	7,24
19	51	82	7	48	127	86	3	123	74	80	7	67	3,94
20	22	60	7	42	98	66	0	70	40	57	5	61	3,35
21	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
22	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
23	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.

Proben Nr. Hund	IgG- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgM- anti- <i>M.</i> <i>canis</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. canis</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>T.</i> <i>mentagro-</i> <i>phytes</i> (RE/ml)	IgG-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgM-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgA-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	IgE-anti- <i>M. gyp-</i> <i>seum</i> (RE/ml)	CRP in (µg/ml)
24	55	128	13	133	128	158	11	217	90	114	24	148	18,41
25	45	138	14	114	92	188	23	305	55	162	15	158	3,07
26	91	127	745	206	72	142	999	239	131	162	440	260	3,49
27	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
28	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
29	66	61	25	55	91	93	37	85	72	60	31	65	2,14
30	145	142	112	93	694	223	177	424	365	115	106	87	9,97
31	48	78	80	48	100	115	79	57	75	93	78	61	7
32	88	51	30	57	88	46	27	42	73	34	44	75	3,81
33	36	81	72	46	77	81	63	29	112	149	101	99	3,9

## Ergebnisse

Bei der Analyse der Daten zeigte sich, dass nur für IgE-anti-*M. gypseum*, IgM und IgE-anti-*T. mentagrophytes* mit  $p > 0,05$  eine Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov angenommen werden kann (siehe Tabelle 30). Aufgrund dessen erfolgte hier der Vergleich der relativen Antikörper-Konzentrationen zwischen den beiden Tierheimen über die Mittelwerte. Die anderen Anti-Dermatophyten-Antikörper-Konzentrationen wurden über die Mediane verglichen. Der Mittelwert der IgE-anti-*M. gypseum* Konzentrationen sowie der IgM-anti-*T. mentagrophytes* Konzentration ist im Tierheim A höher als im Tierheim B. Hingegen war der IgE-anti-*T. mentagrophytes*-Mittelwert im Tierheim B höher als im Tierheim A. Beim Vergleich der Mediane, der nicht normalverteilten Parameter, stellen sich im Tierheim A folgende Anti-Dermatophyten-Antikörper Mediane erhöht dar: IgG-anti-*M. canis*, IgE-anti-*M. canis*, IgG-anti-*T. mentagrophytes*, IgG-anti-*M. gypseum*, IgM-anti-*M. gypseum* und geringfügig IgA-anti-*M. gypseum*. Im Tierheim B wiesen lediglich die IgM-anti-*M. canis* sowie die IgA-anti-*M. canis* Konzentration geringfügig höhere Median auf (siehe Tabelle 29).

Tabelle 29: Übersicht über statistische Kennzahlen der Serumwerte der Hunde in beiden Tierheimen

		Tierheim A						Tierheim B					
	in RE /ml	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Median	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Median	<i>Min</i>	<i>Max</i>
Anti- <i>M. canis</i>	IgG	15	86,07	79,03	64,00	22,00	352,00	8	71,75	35,60	60,50	36,00	145,00
	IgM	15	126,47	111,18	102,00	22,00	448,00	8	100,75	36,81	104,00	51,00	142,00
	IgA	15	95,47	139,41	50,00	7,00	514,00	8	136,38	248,50	51,00	13,00	745,00
	IgE	15	102,13	67,55	95,00	35,00	304,00	8	94,00	55,78	75,00	46,00	206,00
Anti- <i>T. mentagrophytes</i>	IgG	15	174,53	86,07	180,00	68,00	343,00	8	167,75	213,31	91,50	72,00	694,00
	IgM*	15	158,27	93,10	143,00	32,00	347,00	8	130,75	58,54	128,50	46,00	223,00
	IgA	15	128,47	208,05	50,00	0,00	763,00	8	177,00	336,29	50,00	11,00	999,00
	IgE*	15	161,93	72,22	186,00	64,00	273,00	8	174,75	144,32	151,00	29,00	424,00
Anti- <i>M. gypseum</i>	IgG	15	142,27	85,88	107,00	40,00	332,00	8	121,63	101,31	82,50	55,00	365,00
	IgM	15	160,07	146,54	118,00	23,00	593,00	8	111,13	47,09	114,50	34,00	162,00
	IgA	15	89,67	104,74	62,00	5,00	407,00	8	104,88	139,81	61,00	15,00	440,00
	IgE*	15	124,27	60,21	118,00	53,00	294,00	8	119,13	67,49	93,00	61,00	260,00
CRP µg/ml		15	6,35	8,87	3,35	1,66	34,50	8	6,47	5,45	3,86	2,14	18,41

\* normalverteilt, Auswertung erfolgt über Vergleich der Mittelwerte



Tabelle 30: Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov für die Serumparameter der Hunde

						Kolmogorov-Smirnov	
	in RE/ml	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>SD</i>	Median	<i>Z</i>	<i>p</i> -Wert
Anti- <i>M. canis</i>	IgG	23	81,09	66,53	64,00	1,21	0,0006
	IgM	23	117,52	91,95	102,00	1,27	0,0002
	IgA	23	109,70	180,04	84,00	1,63	< 0,0001
	IgE	23	99,30	62,52	116,00	0,94	0,0217
Anti- <i>T. mentagrophytes</i>	IgG	23	172,17	138,57	127,00	1,08	0,0035
	IgM*	23	148,70	82,37	142,00	0,54	> 0,1000*
	IgA	23	145,35	253,15	50,00	1,66	< 0,0001
	IgE*	23	166,39	99,92	186,00	0,67	> 0,1000*
Anti- <i>M. gypseum</i>	IgG	23	135,09	89,78	103,00	1,01	0,0097
	IgM	23	143,04	122,22	115,00	1,06	0,0049
	IgA	23	94,96	115,13	62,00	1,38	< 0,0001
	IgE*	23	122,48	61,34	115,00	0,63	> 0,1000*
CRP $\mu$ g/ml		23	6,39	7,71	3,49	1,37	< 0,0001
* normalverteilt							

## Ergebnisse

Für die normalverteilten Parameter IgE-anti-*M. gypseum*, IgM-anti-*T. mentagrophytes* und IgE-anti-*T. mentagrophytes* erfolgt die Signifikanzanalyse mit Hilfe des zweiseitigen t-Tests. Es ergaben sich für IgE-anti-*M. gypseum* mit  $p > 0,05$ , für IgM-anti-*T. mentagrophytes* mit  $p > 0,05$  und für IgE-anti-*T. mentagrophytes* mit  $p > 0,05$  keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tierheimen.

Für die nach Kolmogorov-Smirnov nicht normalverteilten ( $p < 0,05$ ) anti-*M. canis* (IgG, IgM, IgA und IgE), anti-*M. gypseum* (IgG, IgM, IgA) sowie anti-*T. mentagrophytes* (IgG, IgA) und die CRP-Konzentrationen erfolgte die Signifikanzanalyse zum Vergleich der Tierheimgruppen über den Mann-Whitney U-Test. Die Ergebnisse sind in Tabelle 31 zusammengefasst. Für keinen der untersuchten Parameter sind signifikante ( $p < 0,05$ ) Unterschiede zwischen den Hundegruppen in den beiden Tierheimen feststellbar.

Tabelle 31: U-Test nach Mann-Whitney für die nicht-normalverteilten Serumparameter der Hunde in beiden Tierheimen

	IgG-anti- <i>M.</i> <i>canis</i>	IgM-anti- <i>M.</i> <i>canis</i>	IgA-anti- <i>M.</i> <i>canis</i>	IgE-anti- <i>M.</i> <i>canis</i>	IgG-anti- <i>M.</i> <i>gypseum</i>	IgM-anti- <i>M.</i> <i>gypseum</i>	IgA-anti- <i>M.</i> <i>gypseum</i>	IgG-anti- <i>T.</i> <i>mentagro</i> <i>phytes</i>	IgA-anti- <i>T.</i> <i>mentagro</i> <i>phytes</i>	CRP
<i>U</i>	59,5	56,0	57,0	58,5	47,0	53,5	56,0	34,0	57,5	41,0
asymptomatische Sign. <i>p</i>	0,987	0,925	0,986	0,937	0,428	0,692	0,825	0,097	0,887	0,232

Betrachtet man die untersuchten serologischen Parameter in Bezug zu den erfassten epidemiologischen Variablen Geschlecht, Alter, Veränderungen der Haut und Haare und dem Ergebnis der Dermatophytenkultur ergeben sich folgende Zusammenhänge. Diese sind in den unten aufgeführten Boxplot-Diagrammen dargestellt. Bei der Beurteilung der Boxplot-Diagramme ist zu beachten, dass für die Variable Alter, unter einem Jahr, kein Hund in den Gruppen vorhanden war (siehe Tabelle 32). Weiterhin ist die Variable Dermatophytenkultur mit nur einer positiven kulturellen Probe nur bedingt auszuwerten.

Tabelle 32: Anzahl der Hunde in den einzelnen Gruppen der Hunde zum Vergleich der serologischen Parameter

Alter	< 1 Jahr	0
	1 – 3 Jahre	4
	> 3 Jahre	19
Geschlecht	männlich	13
	weiblich	10
Haut-und Haar- veränderungen	positiv	14
	negativ	9
Dermatophyten- kultur	positiv	1
	negativ	22
Tierheim A		15
Tierheim B		8

Betrachtet man die weiteren ermittelten epidemiologischen Daten, so ergibt sich Folgendes: Die Immunglobuline G zeigten in den einzelnen Gruppen Geschlecht, Alter, Veränderungen der Haut und Haare und Dermatophytenkultur keine deutlichen Unterschiede im Vergleich der Mediane. Entsprechende Boxplot-Diagramme für die IgG-anti- *M. canis*, IgG-anti-*M. gypseum* sowie IgG-anti-*T. mentagrophytes* sind nicht dargestellt.

Für die IgM-Konzentrationen gegen *M. canis* sind geringe Unterschiede zwischen den Medianen der Vergleichsgruppen zu erkennen. Eine Abbildung des Boxplot-Diagrammes ist nicht dargestellt. Lediglich für die IgM-anti-*M. gypseum*-Konzentrationen konnte mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests gezeigt werden, dass zwischen den Altersgruppen ein bis drei Jahre und über drei Jahre mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede (siehe Abbildung 7) bestehen. Für die übrigen IgM-anti-*M. gypseum*-Konzentrationen konnten zwischen den Vergleichsgruppen keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Für IgA-anti-Dermatophyten-Antikörper konnten zwischen den Vergleichsgruppen ebenso keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Es sind keine entsprechenden Abbildungen dargestellt. Die IgE-Konzentrationen gegen *M. canis* zeigten keine besonderen Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen (Abbildung nicht dargestellt). Für die IgE-Konzentrationen gegen *M. gypseum* mit  $p = 0,0434$  und *T. mentagrophytes* mit  $p = 0,0449$  konnten mit Hilfe des t-Tests mit  $p < 0,05$  beim Vergleich der Altersgruppen ein bis drei Jahre und über drei Jahre signifikante Unterschiede festgestellt werden. In Abbildung 8 und Abbildung 9 sind anhand von Boxplot-Diagrammen entsprechende IgE-Konzentrationen gegen *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* dargestellt. Betrachtet man die CRP-Konzentration in Bezug zu den epidemiologischen Variablen, so sind nur geringfügig Unterschiede zwischen den Gruppen feststellbar. Eine Boxplot-Abbildung ist nicht dargestellt.

Ergebnisse

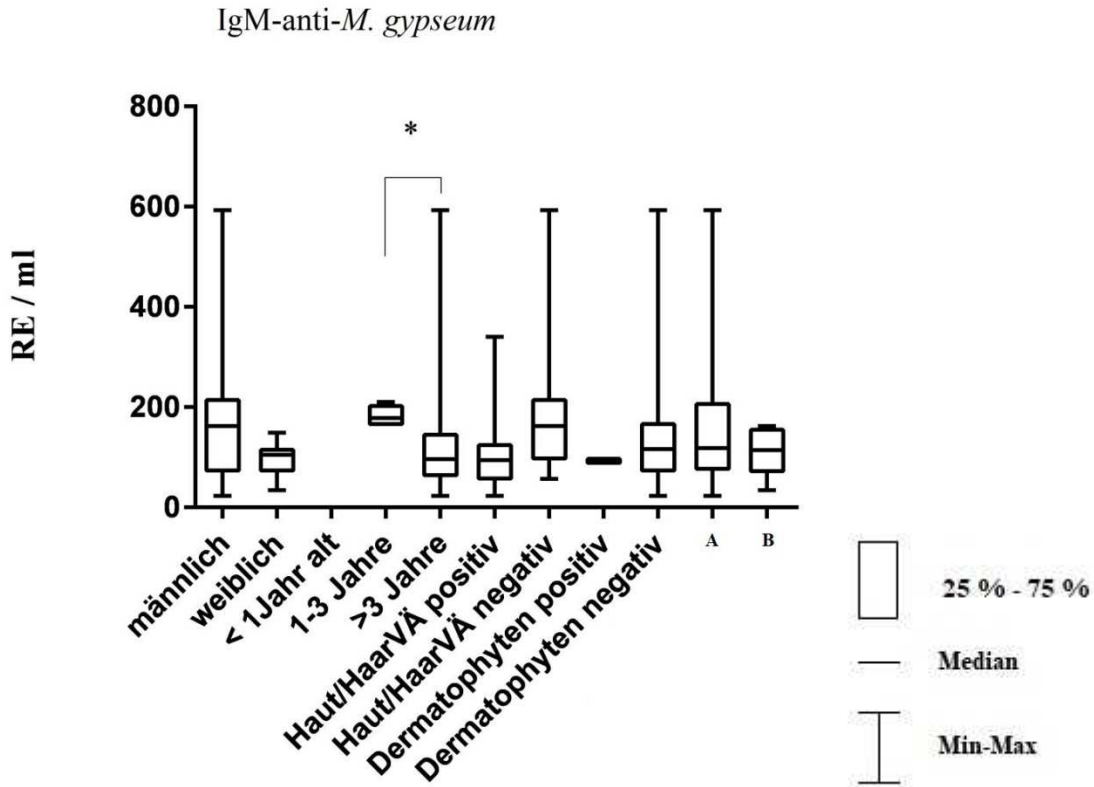


Abbildung 7: Boxplot-Diagramm für IgM-anti-*M. gypseum* (Alter unter einem Jahr,  $n = 0$ ;  $*p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32

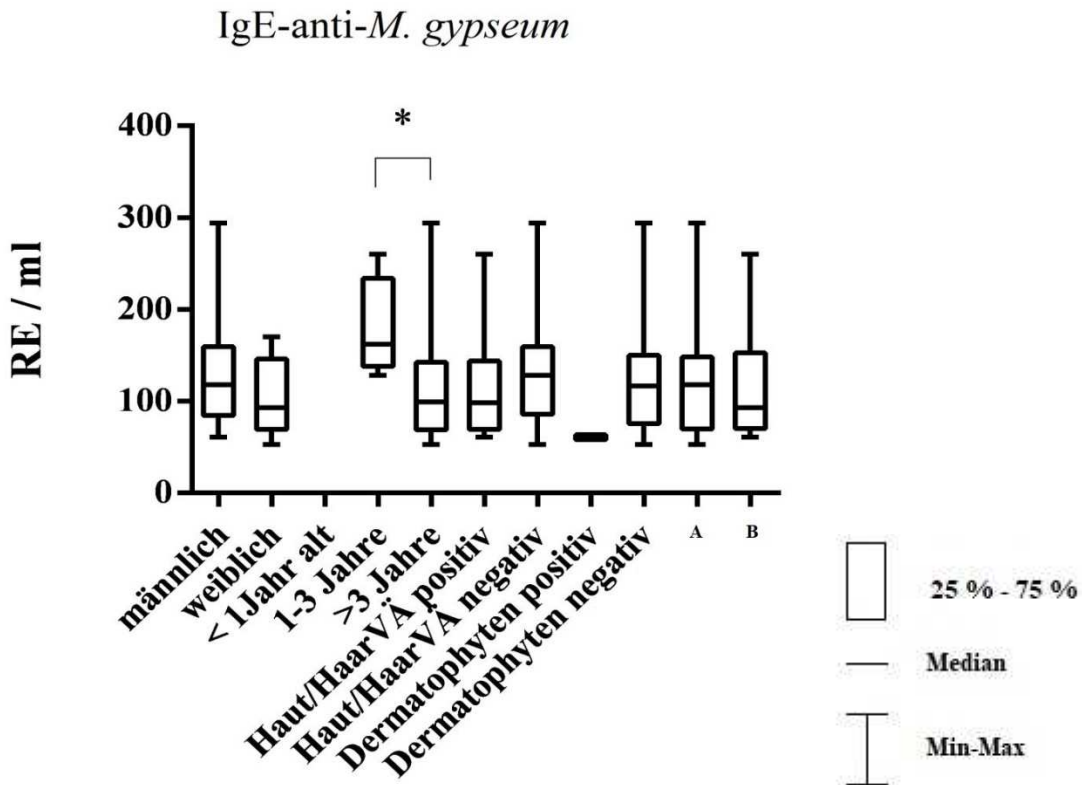


Abbildung 8: Boxplot-Diagramm für IgE-anti-*M. gypseum* (Alter unter einem Jahr,  $n = 0$ ;  $*p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32

IgE-anti-*T. mentagrophytes*

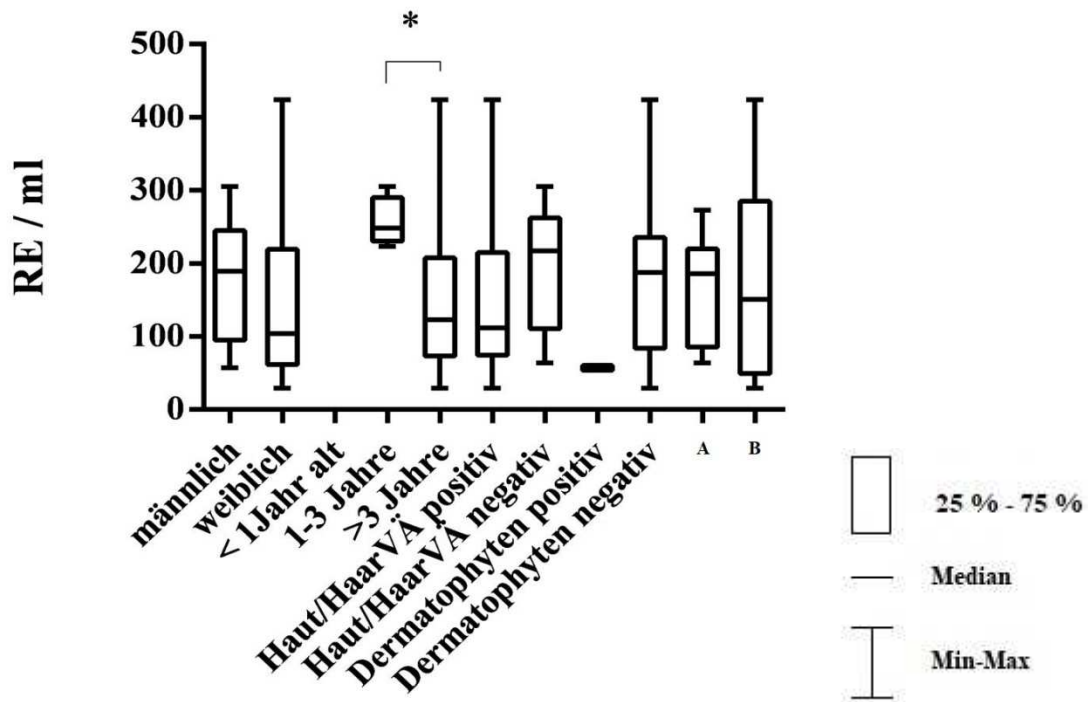


Abbildung 9: Boxplot-Diagramm IgE-anti-*T. mentagrophytes* (Alter unter einem Jahr,  $n = 0$ ;  $*p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32

## 5 Diskussion

### 5.1 Unterschiede der untersuchten Tiere und Tierheime–Tierheime als besondere Infektionsquellen

Ziel der Untersuchung war es zwei verschiedene, örtlich weitgetrennte Tierheime auf das Vorkommen von Dermatophyten zu vergleichen. Im Vorfeld war die aktuelle Dermatophyten-Problematik in dem Tierheim B bekannt. Im Gegensatz dazu stand die unauffällige Infektionslage mit Dermatophyten in dem Tierheim A. Es konnte ein Großteil der Tiere in beiden Tierheimen untersucht werden. Insgesamt wurden  $n = 42$  Katzen und  $n = 33$  Hunde in die Untersuchung mit einbezogen. Bezüglich des Alters der Katzen in beiden Tierheimen ließen sich Unterschiede herausstellen. 42,86 % der Katzen in dem Tierheim A waren über drei Jahre alt, in dem Tierheim B waren dies lediglich 17,86 % der Katzen. Des Weiteren waren 35,71 % der Katzen in dem Tierheim A und 53,57 % der Katzen in dem Tierheim B unter einem Jahr alt. Die Gruppe der Katzen in dem Tierheim A zeigte sich beständiger und dauerhafter. Hingegen kommt es in dem Tierheim B eher zur Fluktuation mit zahlreichen Neuzugängen, von vermehrt juvenilen Katzen. Juvenile Katzen besitzen eine besondere Bedeutung bezüglich Dermatophytosen. Sie zeigen zumeist häufiger Infektionen mit *M. canis* als adulte Katzen (CAFARCHIA et al. 2004; MURMU et al. 2015). Beide Tierheime liegen in sehr unterschiedlichen Gegenden, das Tierheim A im ländlichen Raum, ein altes Bauernhaus umgebaut zum Gnadenhof sowie das Tierheim B, städtisch gelegen und im flachen Neubaustil. Im städtischen Bereich zeigen sich deutlich mehr Zu- und Abgänge in den Tierheimen sowie Zutritt für betriebsfremde Personen, die beispielsweise mit den Hunden spazieren gehen. Diese Umstände können dazu führen, dass Infektionen vermehrt übertragen oder weiter verbreitet werden. Im Vorfeld der Untersuchung war bekannt, dass im Tierheim B das häufige Auftreten von Dermatophyten ein Problem darstellte. Weiterhin war bekannt, dass ebenso im Tierheim A in der Vergangenheit Dermatophyten nachgewiesen werden konnten, derzeit aber keine bestätigten Dermatophyten-Infektionen aufgetreten sind. Eine besondere Zoonosegefahr für Kontaktpersonen geht insbesondere von Tierheimen und damit intensiven Tierhaltungen aus. Ziel der Tierheime und der damit verbundenen Organisationen ist es so viele Tiere wie möglich an neue Besitzer zu vermitteln. Besonders im städtischen Bereich werden diese zunehmend von Familien insbesondere mit kleinen Kindern besucht. Die zunehmende Entfremdung, der fehlende Bezug zur Natur und zu Tieren verleitet Eltern dazu Haus- bzw. Heimtiere in die Familien zu holen. Dies stellt eine besondere zoonotische Gefahr für die ganze Familie dar. Daraus resultierend liegt ein besonderes Augemerck auf Einrichtungen im städtischen Be-

reich. In Europa bestehen hohe Nachweisraten für die Onychomykose sowie für zoophile Dermatophyten (ASTICIORI et al. 2008; ROSEEUW 1999). Tierheime und die von dort vermittelten Tiere stellen ein Risiko als Infektionsquellen dar. Besonders gefährdet und zunehmend von Infektionen betroffen sind junge und ältere Personen (ABECK et al. 2000). Der fortschreitende demografische Wandel in unserer Gesellschaft wird diese Probleme weiterhin verstärken (BiB 2017). Diesen steigenden Gefahren und den damit verbundenen Kosten gilt es einfache, aber präzise Managementpläne für viele Bereiche des öffentlichen Lebens entgegenzusetzen. Ein Teil des Ganzen wäre demnach entsprechende Maßnahmepläne oder Managementpläne für Tierheime im Hinblick auf Zoonosen zu entwickeln. Dies setzt natürlich entsprechende diagnostische Möglichkeiten und standardisierte Vorgehensweisen voraus. Gezielte Eingangsuntersuchungen und anschließend eine separate Unterbringung der Tiere in verschiedenen Bereichen (Quarantäne) wären notwendig und würden vermutlich der Verbreitung von Infektionen vorbeugen können. Im Zuge dessen wäre zu diskutieren in wie weit aus den genannten Eingangsuntersuchungen entsprechende Meldepflichten etabliert werden müssten. Im Sinne der Tiere und auch der Tierheime ist das besagte Ziel so viele Tiere wie möglich in Familien oder an Personen, zu vermitteln. Dementsprechend wichtig sind die infekti- onsepidemiologischen Kenntnisse und der Gesundheits- sowie Infektionsstatus.

## 5.2 Mykologie

### 5.2.1 Unterschiede in den Vorkommenshäufigkeiten von Dermatophyten zwischen dem Tierheim A und dem Tierheim B–Effizienz der kulturellen Diagnostik

Die Untersuchung der Katzensgruppen in beiden Tierheimen ergab deutliche Unterschiede bezüglich der Vorkommenshäufigkeit von positiven Dermatophyten-Kulturen. So konnten im Tierheim A keine Dermatophyten in den Kulturen nachgewiesen werden. Im Tierheim B waren 46,43 % der untersuchten Katzen Dermatophyten positiv. Ähnlich hohe Dermatophyten-Nachweise konnten auch NWEZE (2011) in Nigeria bei Katzen mit bestehenden Hautveränderungen feststellen. In dieser Studie aus dem Jahr 2011 waren 53 % der Katzen mit *M. canis* belastet. Es wurden Proben von Tierärzten und Tierkliniken miteinbezogen. Höchstwahrscheinlich ist davon auszugehen, dass unter anderem die unterschiedlichen klimatischen Bedingungen für die abweichenden Prävalenzen mit verantwortlich sein können. In der vorliegenden Studie ist die hohe Prävalenz von Dermatophyten-Infektionen vermutlich auf weitere bzw. andere Ursachen zurückzuführen. Die Haltung von Katzen in Tierheimen stellt dabei einen wichtigen Faktor dar. Viele Tiere in relativ kleinen Räumen zu halten bedingt einen höheren Infektionsdruck gegenüber der Haltung in privaten Haushalten mit Einzeltieren.

CAFARCHIA et al. (2006) konnten in Italien bei asymptomatischen Tieren aus Privathaltungen deutlich geringere Prävalenzen feststellen. CAFARCHIA et al. (2006) ermittelten Prävalenzen für *M. canis* bei asymptomatischen Katzen von 23 % sowie generell für Dermatophyten von 28 %. Die ermittelten Prävalenzen im Tierheim B liegen deutlich über denen, die bei Katzen ohne Anzeichen einer Infektion mit Dermatophyten zu finden sind. Die geringe Nachweisrate von Dermatophyten bei Hunden in vorliegender Studie deckt sich mit anderen Untersuchungen (CAFARCHIA et al. 2004; RANGANATHAN et al. 1998). Hier zeigen sich Nachweisraten für Dermatophyten regional unterschiedlich von 1,8 % bis 59,6 %.

Die Effizienz (eine Maßnahme ist geeignet ein bestimmtes Ziel bestmöglich zu erreichen) des kulturellen Nachweises von Dermatophyten gegenüber neueren molekularbiologischen Methoden ist eher gering. Der kulturelle Nachweis ist zeitintensiv mit einer Inkubationszeit von vier Wochen bei 28 °C sowie mit viel Erfahrung durch die beurteilende Person verbunden (NENOFF und KRÜGER 2012; SANTANA et al. 2018). KUPSCH et al. (2017) hingegen beschreiben eine Inkubationsdauer von etwa zwei Wochen bei Raumtemperatur bezüglich des *T. benhamiae*-Nachweises bei Meerschweinchen. Selbst diese Zeitspanne ist neueren Methoden zeitlich deutlich unterlegen (SANTANA et al. 2018). Ein weiterer Nachteil der initialen kulturellen Diagnostik sind die nicht zu vernachlässigbaren falsch-negativen und falsch-positiven Befunde. In vorliegender Untersuchung zeigten sich nach kultureller Bestimmung zunächst die Proben SK1B, SH3B, SU23.3, und SH16B als Dermatophyten verdächtige Proben mit atypischen *M. canis* Isolaten. Diese Isolate konnten dann anhand der PCR-Analyse der ITS-Regionen als *Auxarthron umbrinum* identifiziert werden. Falsch-negative Befunde fanden im Vergleich dazu KUPSCH et al. (2017). Hier konnte in 25 von 36 gewonnenen Zahnbürsten Proben bei Meerschweinchen *T. benhamiae* nachgewiesen werden. 11 Proben waren demnach kulturell negativ. Bei ebendiesen Proben konnte per DNA-Extraktion und PCR-Analyse *T. benhamiae* nachgewiesen werden (KUPSCH et al. 2017). Das heißt 11 der 36 Proben waren eigentlich als falsch-negativ beurteilt worden und somit wäre die Effizienz des kulturellen Nachweises als eher schlecht einzuschätzen. Denkbar wäre hier ein gleichzeitiger diagnostischer Ansatz auf verschiedenen Wegen. Ansatzpunkte hierfür wären wie KUPSCH et al. (2017) beschreiben die gleichzeitige Entnahme und kulturelle Untersuchung von Zahnbürstenproben sowie die PCR-Analyse von Tupferproben. Weitere Maßnahmen um die Effizienz der kulturellen Analyse zu verbessern, wären mehrere Proben von dem gleichen Tier zu nehmen und diese gleichzeitig zu untersuchen. Ebenso wäre denkbar die Untersuchung verdächtiger Pilzkulturen per MALDI-TOF Analyse als parallel laufendes Verfahren einzuführen. Dies setzt natürlich eine umfassende Datenbank mit Referenzspektren voraus.



### **5.2.2 Unterschiede in den Vorkommenshäufigkeiten von Dermatophyten in den verschiedenen Altersgruppen–Stress im Tierheim**

Auffallend ist die sehr unterschiedliche Altersverteilung der Katzen in beiden Tierheimen. So sind im Tierheim A vorwiegend ältere beziehungsweise über drei Jahre alte Katzen vertreten. Hingegen sind im Tierheim B zum Zeitpunkt der Untersuchung 53,57 % der Katzen unter einem Jahr alt. Bei der Betrachtung der Dermatophyten-Kulturergebnisse im Tierheim B ergab sich, dass bei 33 % der unter einem Jahr alten Katzen und bei 50 % der ein bis drei Jahre alten Katzen ein positiver Dermatophyten-Nachweis geführt werden konnte. 80 % der über drei Jahre alten Katzen im Tierheim B waren Dermatophyten positiv. Dies ist bedingt zu interpretieren, da eine Gruppenzusammensetzung mit vergleichsweise wenigen über drei Jahre alten Katzen vorlag. Die geringere Nachweisrate von Dermatophyten bei jungen Katzen deckt sich nicht mit anderen Untersuchungen. MURMU et al. (2015) konnten für juvenile Katzen Nachweisraten für Dermatophyten von 56,3 % aufzeigen. Die hohe Nachweisrate von Dermatophyten für die Gruppe der über drei Jahre alten Katzen könnte durch einen höheren Infektionsdruck bedingt sein, welcher von Neuzugängen im Tierheim ausgeht (FRYMUS et al. 2013). CAFARCHIA et al. (2004) zeigten positive *M. canis*-Nachweise bei 28,4 % der untersuchten Katzen unter einem Jahr. Hingegen waren in letztgenannter Studie lediglich 8,3 % der über fünf Jahre alten Katzen mit *M. canis* infiziert. Ursächlich für abweichende Nachweisraten könnten zum einen der generell höhere vorherrschende Infektionsdruck in Tierheimen sowie die geringe Anzahl der älteren Katzen im Tierheim B sein. Nicht zu vernachlässigen sind die bestehenden chronischen Stresssituationen in großen, möglicherweise überbelegten Tierheimen wie dem Tierheim B. Der Einfluss von chronischem Stress auf das Immunsystem wurde bereits von DHABHAR und MC EWEN (1997) bei Ratten untersucht. Chronischer Stress führt zu einer herabgesetzten verzögerten zellulären Immunreaktion (DTH), wohingegen akuter Stress zu einer verstärkten DTH Reaktion führt (DHABHAR und MC EWEN 1997).

### **5.2.3 Symptomlose Sporenträger–das versteckte Risiko, Eingangs- und Bestandsuntersuchungen**

Die festgestellten Prävalenzen von *M. canis* in der Katzensgruppe im Tierheim B in Bezug zu der geringen Nachweisrate von Haut- und Haarveränderungen lassen vermuten, dass ein großer Anteil der Katzen als symptomlose Sporenträger und somit als Ursache von neuen Infektionen fungiert. Lediglich 18 % der untersuchten Katzen im Tierheim B zeigten Veränderungen der Haut und Haare, aber 46,43 % der untersuchten Tiere zeigten positive Dermatophy-

ten-Kulturen. Im Tierheim A hingegen zeigten 21,4 % der Katzen Veränderungen der Haut und Haare, hier konnte kein positiver Nachweis für Dermatophyten bei den Katzen geführt werden. Bei den Hunden lag eine entgegengesetzte Situation vor. 67 % der untersuchten Hunde zeigten Veränderungen der Haut und Haare. Lediglich bei einem Hund (3 %) war *T. mentagrophytes* kulturell nachweisbar. Somit geht von Hunden in vorliegender Studie eine deutlich geringere zoonotische und infektiöse Gefahr aus. Dies deckt sich mit Untersuchungen von MANCIANTI et al. (2003) in der gezeigt wurde, dass Hunde nachweislich weniger die Umgebung mit Dermatophyten-Sporen kontaminieren als Katzen. Vor allem juvenile Katzen kontaminieren besonders stark ihre Umwelt, da diese nachweislich häufig mit Dermatophyten infiziert sind und somit infektiöses Material verbreiten können (SEKER und DOGAN 2011). Die als gering festgestellten Prävalenzen für Haut- und Haarveränderungen bei positivem Dermatophyten-Nachweis bei Katzen zeigt die Bedeutung symptomloser Sporenträger auf, welche sicher identifiziert werden müssen. Nach derzeitigen Eingangsuntersuchungen in Tierheimen kann keine reale Einschätzung der infektiösen Gefahren vollzogen werden. GARG et al. (2007) zeigen mögliche Verfahren und Wege auf, um Bestandsuntersuchungen zu entwickeln. Ansatzpunkte hierfür wären die Entwicklung von Schnelltests wie in der Humanmedizin. Mit dem PCR-Test der Firma SSI Diagnostica (Dänemark) ist laut Herstellerangaben eine Diagnose innerhalb von fünf Stunden möglich. Ein weiteres Beispiel wäre der Test der Dresdener Firma Biotype (Mentype-Mycoderm). Hier wird von einer sicheren Diagnose innerhalb von 24 Stunden ausgegangen. Im Falle des erstgenannten Schnelltests gelangt besonders die Untersuchung auf sogenannte „pan-dermatophyte“ Gene in den Fokus der Untersuchungen (GARG et al. 2007). So konnten BRILLOWSKA-DĄBROWSKA et al. (2007) eine Spezifität und Sensitivität von 100 % für das Verfahren der „pan-dermatophyte“ PCR-Analyse in ihren Untersuchungen zur Detektion von Dermatophyten DNA feststellen. ZRIMŠEK et al. (1999) beschreiben das ELISA-Verfahren als verlässliches diagnostisches Mittel um die humorale Immunantwort gegen *Trichophyton mentagrophytes* Infektionen bei Kaninchen im Alter von elf Wochen zu messen. In diesem Fall wurde der diagnostische Wert der Methode weiter erhöht durch die nicht signifikant aufgetretenen Kreuzreaktionen gegen *M. canis*, *Malassezia pachydermatis* und *Aspergillus fumigatus* (ZRIMŠEK et al. 1999).

### **5.2.4 Vorkommen anderer keratinophiler Pilze in beiden Tierheimen**

Die Auswertung der Pilzkulturen der Katzen auf Dermatophyten-Agar mit Actidion zeigte, dass im Tierheim A signifikant häufiger *Aspergillus* sp. und insbesondere *Asp. fumigatus* nachgewiesen werden konnte. Möglicherweise könnte hier ein Zusammenhang zwischen dem

Nichtauftreten von *M. canis* beziehungsweise anderer Dermatophyten bei den untersuchten Katzen bestehen. WIJESURIYA et al. (2015) zeigten in einer Untersuchung in Indien, dass *Asp. sp.* und insbesondere *Asp. niger* eine Ursache für Onychomykose Erkrankungen bei Diabetes-Patienten sein kann. Die sogenannten Non-dermatophytic-moulds (NDM) sind als keratinophile Pilze ebenso bei entsprechenden Hautpilzkrankungen nachweisbar (WIJESURIYA et al. 2015). Eine Beeinflussung der Dermatophyten durch NDM ist noch nicht eindeutig geklärt. Möglicherweise könnten diese die eigentlichen Dermatophyten verdrängen, Substratmangel hervorrufen oder durch sogenannte Mykoalexine, wie diese Stoffe in der Agrarwissenschaft bezeichnet werden, bekämpfen (SCHÜRCH et al. 2010).

Das Nichtauftreten von Dermatophyten im Tierheim A kann demnach verschiedene Ursachen haben. Nicht vorhandene Desinfektionspläne sowie die mangelhaft durchgeführten Reinigungen können Ursache für einen Überwuchs der möglichen Dermatophyten mit antagonistischen Umgebungskeimen sein. Die ländliche Gegend sowie die geringere Fluktuation mit Menschen und Tieren führen zu einem geringeren Einbringen von infektiösen Materialien in das Tierheim und die bestehende Mikrobiota. Eine weitere, aber in dem Ausmaß unwahrscheinliche Möglichkeit wäre eine große Anzahl von falsch-negativen Probenergebnissen.

### **5.2.5 Kulturelle Umgebungsanalyse in beiden Tierheimen–Einsatz von Ozongeräten im Rahmen von Managementplänen**

Aus der Umgebung der Tiere in dem Tierheim A wurden keine Dermatophyten kulturell nachgewiesen. Dies deckt sich mit den kulturellen Ergebnissen der Tierproben aus dem Tierheim A bezüglich Dermatophyten. Betrachtet man die kulturelle Umgebungsanalyse beider Tierheime, so zeigte sich eine ähnlich hohe prozentuale Belastung der Proben (Wachstum auf Dermatophyten-Agar mit Cycloheximid) beider Tierheime mit anderen keratinophilen Pilzen. Unterschiede zeigten sich lediglich in der Vielfalt der nachgewiesenen Spezies. So konnten im Tierheim A 28 und im Tierheim B 13 verschiedene Pilzarten bzw. Gattungen unterschieden werden. Im Tierheim A konnte sich vermutlich im Laufe der Zeit eine sehr vielfältige Umgebungsmikrobiota etablieren. Eine relativ hohe Belastung der Oberflächen und Gegenstände mit Umgebungskeimen kann durchaus zur Hemmung beziehungsweise zur Beeinträchtigung des Wachstums von Dermatophyten führen. Analog zu *M. canis* gibt es bereits für *M. equinum* Studien, welche diese Annahme bestätigen (SINGH et al. 2010).

In dem Tierheim A konnten kulturell vermehrt *Pen. sp.* in der Umgebung nachgewiesen werden. Es ist möglich, dass diese einen Einfluss auf die Umgebungsbelastung mit Dermatophyten haben könnten. Das antifungale Protein (PAF) von *Pen. chrysogenum* zeigt nachweislich

## Diskussion

hemmende Eigenschaften gegenüber verschiedenen Dermatophyten (GALGÓCZY et al. 2008). Eine Interaktion zwischen verschiedenen Pilzarten könnte mit ausschlaggebend für eine geringere Nachweisrate von Dermatophyten in der Umgebung der Tiere im Tierheim A sein (GALGÓCZY et al. 2008). Möglich ist dabei eine direkte Hemmung über antifungale Proteine sowie eine indirekte Hemmung über Substratmangel oder deren Abbauprodukte. Vermutlich hat sich in dem alten Gebäude des Tierheims A über die Jahre eine bestehende Mikrobiota etabliert, die möglicherweise die Ausbreitung von Dermatophyten antagonisiert. Zusätzlich zur Belastung der Katzen mit Dermatophyten war auch die Umgebung im Tierheim B signifikant häufiger mit Dermatophyten belastet. In 4,2 % der Proben konnten kulturell Dermatophyten nachgewiesen werden. Alle *M. canis*-Nachweise in der Umgebung der Tiere im Tierheim B wurden in der Katzenstube II festgestellt. In dieser Katzenstube waren zum Zeitpunkt der Untersuchung fünf Katzen (NK14, NK15, NK16, NK24 und NK25) untergebracht. Da die Katzen im Tierheim B relativ feste Stubenzugehörigkeiten besitzen, ist höchstwahrscheinlich eine indirekte Übertragung der Sporen für die starke Ausbreitung der Erkrankung unter den Katzen mit verantwortlich. Bezüglich der anderen keratinophilen Pilze konnten im Tierheim B (im Gegensatz zu den Tierproben) aus der Umgebung deutlich vermehrt *Asp. sp.* nachgewiesen werden.

Bei der Untersuchung der Umgebung im Tierheim B konnten zusätzlich Umgebungsproben vor und nach dem Einsatz eines Ozongerätes (Ozongenerator OZ 1000) entnommen werden. Laut der Internetseite eines Deutschland Vertriebes besitzt dieses Gerät folgende Eigenschaften (Anon., Ozongenerator OZ 1000; 2008, zitiert vom 27.4.2018; <http://www.tierisch-gute-luft.de/OZ1000.shtml?produkte=true>). Die Ozonproduktion wird mit etwa 160 mg/h bei normaler Raumluft angegeben. Weiterhin wird eine empfohlene Raumgröße von 125 m<sup>3</sup> oder 45 m<sup>2</sup> aufgeführt. Als weitere Eigenschaften werden dem Gerät die Entfernung von Gerüchen sowie das Entfernen von organischen Substanzen zu 99,99 % zugesprochen. Als Warnhinweis ist der Internetseite folgendes zu entnehmen:

„Bei der Nutzung dieses Ozongenerators wird in hoher Konzentration Ozon erzeugt; der längere Aufenthalt in gleichem Raum ist für Mensch und Tier gesundheitsschädlich.“

Der Preis dieses Generators wird mit 580,00 € inklusive Mehrwertsteuer angegeben (Anon., Ozongenerator OZ 1000; 2008, zitiert vom 27.4.2018; <http://www.tierisch-gute-luft.de/OZ1000.shtml?produkte=true>; 2008).

PEETERS et al. (1989) zeigten bereits eine Reduzierung der Infektionsrate von *Cryptosporidium parvum* Oozyten durch Ozonbehandlung des Trinkwassers bei Mäusen. Im Bereich der Wasserhygiene zeigten MARTINELLI et al. (2017) das Ozon eine Alternative zu gängigen Desinfektionsmethoden darstellen kann. Nach 20-minütigem Einsatz eines Gerätes mit dem Namen Ozonomic<sup>®</sup> bei 36 °C im Wasser konnten MARTINELLI et al. (2017) eine deutliche Reduzierung von Erregern im Wasser und in der Luft im Abstand von 30 cm zur Wasseroberfläche feststellen. Die kurze Einwirkzeit von Ozon im Zusammenhang mit letztgenannten Ergebnissen zeigt die sehr effiziente Arbeitsweise durch den Einsatz von Ozon (MARTINELLI et al. 2017). Neuere Untersuchungen beschäftigen sich mit dem potentiellen Einsatz von Ozon gegen Dermatophyten. So zeigten OUF et al. (2016) anhand ihrer Untersuchungen das Potential von gasförmigem Ozon sowie ozoniertem Öl im Kampf gegen Dermatophyten und deren Enzymproduktion auf. Beim Einsatz gasförmigen Ozons wurden höhere Minimale Hemmkonzentrationen bei längerer Einwirkzeit gegenüber den untersuchten Dermatophyten im Vergleich zu ozoniertem Öl festgestellt (OUF et al. 2016). Das ozonierete Öl verursachte eine Reduzierung der Sporulation einzelner Dermatophyten von 72,06 % bis 98,71 % (OUF et al. 2016). Der fünfstündige Einsatz des Gerätes in dem Tierheim B zeigte eine vollständige Elimination aller zuvor nachgewiesenen Pilze aus der Umgebung. Für die Entwicklung von Maßnahme- bzw. Managementplänen in Tierheimen wäre es denkbar entsprechende Ozongeräte mit einzubeziehen. Laut Gefahrstoffinformationssystem der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (GESTIS-Stoffdatenbank) besitzt Ozon unter anderem folgende, für den Anwender wichtige Eigenschaften: Ozon ist ein oxidierendes Gas, es besitzt einen stechenden Geruch, es erhöht die Feuergefahr bei Berührung mit entzündbaren Stoffen, in flüssigem und festem Zustand ist es hochexplosiv, wenig in Wasser löslich, schwerer als Luft im gasförmigen Zustand sowie chemisch instabil. Weiterhin kann es akute und chronische Gesundheitsgefahren verursachen. Die Halbwertszeit beträgt 20 bis 100 Stunden (GESTIS-Stoffdatenbank der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, 02.11.1995, zitiert vom 28.4.2018, <http://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp>;). Anhand der aufgeführten Eigenschaften des Gases Ozon sowie den Ergebnissen genannter Studien ist davon auszugehen, dass der Einsatz von Ozon zur Desinfektion von Wasser sowie anderen entsprechenden Materialien unter bestimmten Bedingungen und im Rahmen von Desinfektions- und Managementplänen sinnvoll ist. Beim Einsatz von Ozon produzierenden Geräten müssen unbedingt arbeitsschutzrechtliche Bedingungen bzw. Vorschriften miteinbezogen werden. Laut dem Berufsgenossenschafts-Informationsblatt Nummer 526, mit Stand 07/2013 der

Berufsgenossenschaft Energie, Textil, Elektro und Medienerzeugnisse (BG-ETEM) gilt Ozon nach der Technischen Regel für Gefahrstoffe (TRGS) 905 unter anderem als Krebs erzeugend (Anon., Berufsgenossenschaft für Energie, Textil, Elektro und Medienerzeugnisse–BG-ETEM, Stand 07/2013, zitiert vom 28.4.2018, <http://dp.bgetem.de/pages/service/download/medien/526.pdf>;). Laut zuvor genanntem Informationsblatt gibt es derzeit für Ozon keine Arbeitsplatzgrenzwerte, demzufolge sollten Anwender sich an den internationalen Grenzwert von  $0,12 \text{ mg/m}^3$  halten. Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Dauer des Ozon-Einsatzes von fünf Stunden im Tierheim B, so produzierte das Gerät in dieser Zeit etwa 800 mg Ozon. In Bezug zu den geringen Größen der Katzenstuben, von etwa  $30 \text{ m}^3$ , hat das Gerät etwa  $26,6 \text{ mg/m}^3$  Ozon hergestellt. Im Vergleich zu den internationalen Grenzwerten scheinen diese Werte rechnerisch sehr hoch zu sein. Nicht einschätzbar sind dabei die durch Türspalte oder Fenster ausgetretenen Ozonmengen. Der Einsatz entsprechender Geräte birgt somit Chancen als auch große Gefahren für Mensch und Tier. Im Rahmen einer Gefährdungsbeurteilung sollte der betriebliche Einsatz klar strukturiert und evaluiert werden, um so Mitarbeiter und Tiere entsprechend zu schützen.

### 5.3 Serologie

#### 5.3.1 Vergleich serologischer Parameter

Die serologische Untersuchung der Tiere in beiden Tierheimen zeigt sich als ein effizientes Verfahren, um beide Tierbestände in Bezug auf das Infektionsgeschehen beurteilen zu können. Die Katzen im Tierheim B zeigten signifikant höhere relative IgG-anti-*M. canis*-Konzentrationen als die Katzen im Tierheim A. Dies deckt sich mit den Untersuchungen von DE BOER et al. (1993). Hier zeigte die Gruppe der kulturell Dermatophyten positiven Katzen die höchsten anti-Dermatophyten-Glykoprotein-Immunglobulin G-Titer. Die Dermatophyten positiven Katzen zeigten in vorliegender Untersuchung einen tendenziell höheren Median für IgG-anti-*M. canis* als die Gruppe der Dermatophyten-negativen Tiere. Es konnte hierfür aber keine Signifikanz nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich bei der Auswertung der Einzeldaten, dass einzelne kulturell Dermatophyten-negative Tiere durchaus hohe Werte für die einzelnen Anti-Dermatophyten-Antikörper aufwiesen. So konnten beispielsweise bei zwei Dermatophyten-kulturell-negativen Katzen aus dem Tierheim B IgG-anti-*M. canis* Werte von 1858 RE/ml und 1894 RE/ml festgestellt werden. Dies kann auf vorangegangene Infektionen und deren Abheilung sowie auf eine mögliche bekannte oder unbekannte Vakzination mit Dermatophytenimpfstoff hinweisen. Aufgrund der fehlenden kulturellen Nachweise für Dermatophyten im Tierheim A kann vermutet werden, dass der Katzenbestand zu einem früheren

## Diskussion

Zeitpunkt bereits vollständig eine Infektion mit Dermatophyten bzw. *M. canis* durchlaufen haben könnte. Sodass derzeit eine Immunität gegenüber neuen Infektionen mit Dermatophyten besteht. Weiterhin schränkt der geringe Blutprobenumfang im Tierheim A den Vergleich der serologischen Parameter ein.

Bei der Untersuchung von Haptoglobin lagen die Mittelwerte im Tierheim B tendenziell höher als im Tierheim A. Haptoglobin als positives Akute-Phase Protein steigt bei entzündlichen Erkrankungen an. Somit könnten die höheren Mittelwerte auf entzündliche Erkrankungen der Katzen im Tierheim B hinweisen. Der Unterschied der Mittelwerte für Haptoglobin in beiden Tierheimen zeigte jedoch keine Signifikanz. Ebenso ist Haptoglobin kein spezifischer Biomarker für Infektionen mit Dermatophyten. Da diese zumeist als lokale Prozesse im Bereich der Haut auftreten und somit weniger einen systemischen Anstieg der Akute-Phase Proteine hervorrufen. Im Gegensatz dazu konnte in einer Untersuchung zum Verhalten von Akute-Phase Proteinen während einer Dermatophyten-Infektionen von KABU und SAYIN (2016) gezeigt werden, dass bei kulturell Dermatophyten positiven türkischen Wasserbüffeln signifikant höhere Konzentrationen der Akute-Phase Proteine, Serumamyloid A und Haptoglobin, auftraten. Zusätzlich wurden die Konzentrationen von TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 mit in die Betrachtungen einbezogen. Auch hier zeigte sich ein deutlich positiver Zusammenhang. Demzufolge sollten die einzelnen Parameter nicht solitär, sondern im Zusammenhang mit anderen betrachtet und beurteilt werden.

Zwischen den Hundegruppen aus beiden Tierheimen ließen sich keine signifikanten Unterschiede in den serologischen Parametern IgG-, IgM-, IgA- und IgE- gegen *M. canis*, *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* nachweisen. Dies unterstützt die Annahme im Zusammenhang mit den kulturellen Ergebnissen, dass beide Tierheime momentan keine Probleme mit Dermatophyten bei Hunden haben.

Die serologische Untersuchung von Tierbeständen auf ein Dermatophyten Vorkommen oder einen vorangegangenen Kontakt mit ebendiesen kann durchaus praktikabel sein. Vorteile der Untersuchung auf verschiedene Parameter sind der geringere Zeitaufwand sowie die weniger benötigte Erfahrung im Gegensatz zur kulturellen Analyse. Besonders in Hinblick auf Bestands- oder Eingangsuntersuchungen in Tierheimen ist der Zeitfaktor für die Tiere und die entstehenden Kosten von Bedeutung. Ziel ist es eine möglichst schnelle, genaue und sichere Diagnose zu stellen (SANTANA et al. 2018). Die Immunglobuline G gegen *M. canis* Infektionen bei Hunden zeigen sich für die Dermatophyten-Diagnostik durchaus brauchbar. Ebenso konnten ZRIMŠEK und DROBNIČ-KOŠOROK (2002) einen signifikanten Anstieg der Immunglobulin G-Konzentration bei Katzen mit einer *M. canis* Infektion und bei Kaninchen mit

einer *T. mentagrophytes* Infektion nachweisen. PEANO et al. (2005) zeigten bereits einen direkten Zusammenhang zwischen der Dauer einer *M. canis* Infektion und der IgG-Konzentration bei guter Sensitivität (83,3 %) und hoher Spezifität (95,2 %). Hierbei ist auch das Zeitfenster der Probenentnahme in Bezug zu bestehenden oder früheren Infektionen zu beachten (PEANO et al. 2005). Beachtet werden muss weiterhin, für jede Tierart spezifische Immunglobulin-Konjugate zu verwenden. Die Bedeutung der Immunglobuline A und M bei der Identifikation und Bekämpfung von Dermatophyosen bei Hunden und Katzen sollte weiterhin abgegrenzt werden. Hierzu ist bisher wenig bekannt. Weitere Verbesserungsmöglichkeiten sind einer aktuellen Studie von SANTANA et al. (2018) entnehmbar. Zu nennen wäre dabei die Verwendung mehrerer Pilzisolat gleicher Spezies zur Antigenherstellung. In vorliegender Studie wurden für *M. canis*, *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* jeweils nur ein Isolat bzw. Referenzstamm zur Antigenherstellung genutzt. Im Vergleich dazu verwendeten SANTANA et al. (2018) sechs Stämme. Somit steht ein breiteres Spektrum an Antigenen für die Untersuchung zur Verfügung. Weiterhin ist es möglich bestimmte Aufreinigungsmethoden zu verbessern (SANTANA et al. 2018). Ein wichtiger Punkt für eine Verbesserung der durchgeführten Untersuchung ist außerdem die Abgrenzung der einzelnen dermatophytären Erreger untereinander sowie zu anderen Pilzen. Anhand des hohen Grades an Übereinstimmung der Zellwandbestandteile müssen Spezies-spezifische-Strukturen oder -Proteine gesucht werden, um diese gezielt als Target zu verwenden und so die Sensitivität und Spezifität zu optimieren (SHAH und KNIGHT 1968). Weiterhin sind die unterschiedlich produzierten Enzyme der Dermatophyten ein möglicher Ansatzpunkt, um diese zu vergleichen oder zu unterscheiden. Die MEROPS-Datenbank stellt dabei Grundlagen zu diesem Thema dar (RAWLINGS et al. 2012). Es kann aber festgestellt werden, dass zahlreiche Übereinstimmungen der Enzymfamilien bei allen zoophilen Dermatophyten zu finden sind. Ein weiteren Punkt für Kreuzreaktionen zeigten schon MONOD et al. (2005), indem auf Homologien der Endoprotease Gene von *T. rubrum* und *Aspergillus fumigatus* hingewiesen wurde. Schlussfolgernd ist zu sagen, dass die zukünftige Entwicklung der Diagnostik sich auf mehrere Säulen stützen wird. Einerseits wie in der Humanmedizin über die Erkennung von sogenannter „pan-dermatophyte“ DNA sowie die Identifikation und der Nachweis Spezies-spezifischer-Strukturen (GARG et al. 2007).



### 5.3.2 Vergleich serologischer Parameter bezüglich Alter, Geschlecht und Dermatophyten-Kultur

In den drei untersuchten Altersgruppen konnten bei den Katzen signifikant voneinander abweichende Tendenzen der verschiedenen Antikörper-Konzentrationen gegen *M. canis*, *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* nachgewiesen werden. Die Katzen unter einem Jahr zeigten dabei stets die geringsten Konzentrationen und die Katzen im Alter zwischen ein bis drei Jahren die höchsten IgG-anti-*M. canis*, IgG-anti-*M. gypseum* sowie IgG-anti-*T. mentagrophytes* Konzentrationen. Die männlichen Katzen, die unter einem Jahr alten Katzen sowie die Dermatophyten-Kultur negativen Katzen zeigten die höchsten Haptoglobin-Mittelwerte. Den niedrigsten Haptoglobin-Mittelwert zeigten die Dermatophyten positiven Katzen und die ein bis drei Jahre alten Katzen. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Erkenntnissen, die KABU und SAYIN (2016) bei Wasserbüffeln fanden. Möglicherweise könnten bei Katzen, als symptomlose Sporenträger, diese Ergebnisse nicht gleichgesetzt werden mit dem Verhalten von Haptoglobin bei Wasserbüffeln infolge einer Dermatophyten-Infektion. Hinzu kommt, dass bei den genannten Wasserbüffeln Infektionen mit *T. sp.* vorlagen, nicht wie in vorliegender Studie positive kulturelle Nachweise von *M. canis*. Der Einfluss des Alters auf die Konzentration von Haptoglobin wurde beispielsweise beim Menschen untersucht. FOWKES et al. (2006) zeigten bei geringem Infektionsdruck sinkende Konzentrationen von Haptoglobin mit steigendem Alter. Hingegen zeigte sich, dass bei hohem Infektionsdruck die Konzentration von Haptoglobin mit zunehmendem Alter anstieg (FOWKES et al. 2006). Im Gegensatz dazu konnten CAMPBELL et al. (2004) bei Katzen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Akute-Phase Proteine Konzentrationen in verschiedenen Altersgruppen nachweisen.

Bei den in vorliegender Studie untersuchten Hunden konnten keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der IgG-anti-Dermatophyten-Antikörper-Konzentrationen zwischen den Altersgruppen, Geschlecht und dem Ergebnis der Dermatophyten-Kultur festgestellt werden. Betrachtet man dabei die Gruppe der Dermatophyten positiven Hunde zeigt sich eine zu geringe Anzahl der Tiere, um eine aussagekräftige Schlussfolgerung zu formulieren. Bezüglich des Alters konnte beim Menschen ein deutlicher Abfall der Serum Immunglobuline G und M im Alter von 60 bis 79 nachgewiesen werden (CHALLACOMBE et al. 1995). Betrachtet man die verschiedenen Altersgruppen der Hunde so lassen sich für folgende Parameter Schlüsse ziehen:

Für die IgM-anti-*M. gypseum*-Immunglobuline sind signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen feststellbar. Die über drei Jahre alten Hunde zeigten im Vergleich zu den ein bis drei Jahre alten Tieren signifikant niedrigere IgM-anti-*M. gypseum*-Konzentrationen.

Für die IgE-anti-*M. gypseum*-Konzentrationen sowie für die IgE-anti-*T. mentagrophytes*-Konzentrationen konnte ebenso eine signifikant niedrigere Konzentration in der Altersgruppe über drei Jahre nachgewiesen werden. Dies könnte darauf hin deuten, dass keine chronischen Dermatophytosen, atopischen Krankheitsgeschehen oder Asthma welche mit erhöhten IgE-Konzentrationen in Zusammenhang gebracht werden, in dieser Altersgruppe eine Rolle spielen (WOODFOLK 2005).

### **5.3.3 Identifikation Dermatophyten verdächtiger Isolate durch rDNA-Analyse**

Aufgrund des kulturellen Pilzwachstums konnten einige Isolate nicht eindeutig identifiziert werden. Besonders betroffen waren dabei die Proben aus dem Tierheim A. Bei der externen Untersuchung einiger Proben aus dem Tierheim A ergaben sich abweichende Identifikationen für zunächst Dermatophyten verdächtige Isolate. Hierbei konnten für Dermatophyten verdächtige Isolate aus den Proben folgende Pilzspezies identifiziert werden: *Auxarthron umbrinum*, *Chrysosporium* sp., *Beauveria bassiana* und *Aphanoascus fulvescens*. Eine besondere Bedeutung kommt hierbei der Durchführung mehrerer gleichzeitig oder nacheinander durchgeführten Verfahren zu. So konnten die kulturell fraglichen oder falsch-positiven Dermatophyten Befunde eindeutig identifiziert werden. Besonders wichtig war hierbei die Abklärung im Tierheim A, da hier durch fehlende Desinfektionspläne und mangelhafte Reinigungsmaßnahmen davon ausgegangen werden konnte, dass eine starke Verunreinigung bzw. Umgebungskontamination vorlag. Wie GRÄSER et al. (2008) bereits beschrieben, zeigt sich die Analyse der ITS-Region als Mittel der Wahl, um atypische und phänotypisch schwer zu identifizierende Isolate zu unterscheiden. In vorliegender Untersuchung konnten somit per makromorphologischer Diagnose falsch-positive Isolate als Dermatophyten negative Proben identifiziert werden. Das Zusammenspiel mehrerer möglichst spezifischer und sensitiver Verfahren ist für eine sichere Diagnostik und Therapie von maßgeblicher Bedeutung. Ein Beispiel für eine Vorgehensweise zeigten UHRLAß et al. (2018) anhand der Identifikation von *T. quinckeanum*.

### **5.4 MALDI-TOF-Analyse der einzelnen Dermatophyten-Isolate**

Bei der Auswertung der Pilzkulturen konnten nicht alle wachsenden Kolonien eindeutig identifiziert werden. So wurden einige Isolate im hausinternen MALDI-TOF Gerät untersucht. Es

konnten zwischen den Isolaten enge Verwandtschaftsverhältnisse nachgewiesen werden. Im Speziellen wiesen auch die untersuchten Tier-Isolate enge Verwandtschaftsgrade zu den Isolaten der Umgebung auf. Im Hinblick auf die Fragestellung der Infektionswege im Tierheim B konnte Folgendes festgestellt werden. Alle Nachweise für *M. canis* in der Umgebung wurden in Katzenstube II gefunden. In dieser Stube waren die Katzen NK14, NK15, NK16, NK24 und NK25 untergebracht. Laut MALDI-TOF Analyse konnten bei diesen fünf Katzen vier verschiedene *M. canis*-Stämme identifiziert werden. Die MALDI-TOF Analyse zeigt dabei vier Cluster der nachgewiesenen *M. canis* Stämme. Die weiteren Katzen- und Umgebungsproben, in denen *M. canis* nachgewiesen werden konnte, teilten sich auf diese vier Cluster auf. Somit ist anzunehmen, dass verschiedene Eintragswege der *M. canis*-Infektionen bestanden haben könnten. Die Katzen-Isolate der Stube II konnten per Analyse alle den verschiedenen Clustern I bis IV zugeordnet werden. In Katzenstube II war demzufolge eine Mischinfektion verschiedener Stämme vorhanden. Die weiteren per MALDI-TOF untersuchten Dermatophyten positiven Proben in den vier Clustern verteilten sich auf die Katzenzimmer 0 (NK8), Zimmer 1 (NK9, NK10) und Zimmer 5/6 (NK26). Für eine Identifizierung von verschiedenen Dermatophyten Spezies per MALDI-TOF Analyse muss eine umfangreiche Referenzdatenbank vorhanden sein. Dieses Verfahren ist als zusätzlich zu betrachten und bedingt für Screening oder Bestandsuntersuchungen geeignet.

Abschließend ist zu sagen, dass einheitliche, sensitive und spezifische Verfahren verwendet werden müssen die sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Identifikationen möglichst vermeiden, um präzise und richtige Diagnosen stellen zu können. Dies ist von enormer Bedeutung um die epidemiologischen Hintergründe von Bestandsinfektionen heraus zu finden und auch zukünftige zoonotische Gefahren zu verringern bzw. einzudämmen. Mit in Betracht gezogen werden sollte eine Meldepflicht wie in der Humanmedizin. So wäre eine Meldung durch den behandelnden Arzt, laut Infektionsschutzgesetz § 6 (1) Punkt 2.b), zu tätigen, wenn mehrere gleichartige Erkrankungen, beispielsweise eine *M. audouinii*-Infektion in einer Kindertageseinrichtung, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang vermutet werden kann aufgetreten sind (Persönliche Mitteilung, Prof. Dr. med. habil. Pietro Nenoff, Leipzig, 2018 an Prof. Dr. med. vet. habil. Wieland Schrödl).

## **6 Zusammenfassung**

**Constanze Köbing**

**„Nachweis von Dermatophyten bei Hunden und Katzen in Tierheimen“**

**Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität**

**Leipzig**

Eingereicht im August 2018

(109 Seiten, 20 Abbildungen, 34 Tabellen, 198 Literaturangaben, Anhang 12 Seiten)

Schlüsselwörter: Katzen, Hunde, Dermatophytose, Tierheime, Ozongenerator

Einleitung: Zu dem Thema Dermatophyten bei Katze und Hund gibt es bereits zahlreiche Untersuchungen aus vielen Ländern der Welt. In vorliegender Studie wurden zwei sehr unterschiedliche Tierheime im Raum N. in Mecklenburg-Vorpommern untersucht. Das eine Tierheim eher in einer ländlichen Gegend gelegen, umgebaut aus einem alten Bauernhaus und das zweite Tierheim städtisch gelegen mit hoher Frequentierung durch Besucher bzw. Helfer.

Ziel der Untersuchung: Ziel der Untersuchung war die tatsächliche Belastung mit dermatophytären Erregern festzustellen und mögliche Ursachen für unterschiedliche Vorkommenshäufigkeiten herauszufinden. Hierzu wurden so viele Katzen und Hunde wie möglich in die Untersuchungen miteinbezogen. Um ein umfassendes Abbild der vorliegenden Situationen zu schaffen wurden auch die direkte Umgebung der Tiere (Katzenstuben, Hundezwinger, Decken und Körbchen) sowie mögliche andere Vektoren (Maulkörbe und Transportboxen wenn vorhanden) mit in die Untersuchung einbezogen.

Material und Methoden: Insgesamt konnten in beiden Tierheimen 42 Katzen und 33 Hunde untersucht werden. Zunächst wurden die Tiere klinisch untersucht und anhand der Tierkarteikarten eine Anamnese erstellt. Daraufhin wurden bei allen Tieren Bürstenproben mit Naturhaarbürsten entnommen. Es wurde darauf geachtet den gesamten Tierkörper miteinzubeziehen und annähernd die gleiche Zeit für jedes Tier zu verwenden. Im Anschluss wurde den Tieren eine Blutprobe entnommen um Blutplasma zu gewinnen. Die Umgebung der Tiere wurde mit Hilfe von Tupferproben untersucht. Insgesamt wurden im Tierheim A 139 und im Tierheim B 119 Tupferproben entnommen. Die Tupferprobenentnahme erfolgte für 20 Sekunden mäanderförmig von den jeweiligen Oberflächen. Die gewonnenen Proben wurden im Anschluss auf Dermatophyten-Agar aufgebracht und für vier Wochen bei 28 °C inkubiert. Es erfolgte die visuelle Kontrolle des Pilzwachstums. Anhand der Kulturmorphologie und den mikromorphologischen Eigenschaften wurden die gewachsenen Kulturen identifiziert. Bei nicht eindeutig zu identifizierenden oder Dermatophyten verdächtigen Kulturen wurden weitere Maßnahmen eingeleitet. Es erfolgte eine Analyse mit Hilfe des MALDI-TOF Verfahrens und gegebenenfalls eine DNA-Sequenzierung. Um die humorale Immunantwort gegen Dermato-

## Zusammenfassung

phyten zu analysieren wurden die Blutplasmaproben auf Antikörper untersucht. Bei den Katzen waren dies IgG-anti-*M. canis*, IgG-anti-*M. gypseum* und IgG-anti-*T. mentagrophytes*. Bei den Hunden wurden die Immunglobuline G, M, A, und E gegen *M. canis*, *M. gypseum* und *T. mentagrophytes* untersucht. Zusätzlich wurden die Akute-Phase Proteine, Haptoglobin bei den Katzen und C-reaktives Protein bei den Hunden bestimmt.

Ergebnisse: Im Tierheim B konnte bei 46,43 % der Katzen positive kulturelle Dermatophyten-Nachweise für *M. canis* geführt werden. Ein Hund im Tierheim B zeigte eine positive Dermatophytenkultur für *T. mentagrophytes*. Lediglich ein geringer Teil der kulturell positiven Katzen zeigten Veränderungen der Haut und Haare. Dies deutet darauf hin, dass ein Großteil der positiven Katzen als symptomlose Sporenträger zu beurteilen ist. Bei der Umgebungsanalyse zeigte das Umfeld im Tierheim A eine deutlich höhere Variabilität der vorkommenden Pilzspezies als das Tierheim B. Nach dem Einsatz eines Ozongenerators (AIR CLEANER OZ 1000) im Tierheim B in einer Katzenstube konnte gezeigt werden, dass keinerlei Pilzspezies mehr in den untersuchten Tupferproben nachweisbar waren. Mit Hilfe der MALDI-TOF Analyse und ITS-PCR DNA-Sequenzierung konnten nicht eindeutig identifizierbare Pilzspezies eindeutig bestimmt werden und Verwandtschaftsverhältnisse aufgezeigt werden. Bei der serologischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Unterschied der IgG-anti-*M. canis*-Antikörperkonzentrationen zwischen beiden Tierheimen und den untersuchten Altersgruppen bei den Katzen.

Schlussfolgerungen: Beide Tierheime zeigten deutliche Unterschiede im Auftreten von Dermatophyten. Ziel der Arbeit war es diesen Unterschied herauszufinden und mögliche Ursachen dafür zu benennen. Ausgehend von den vorliegenden Ergebnissen könnten die Ursachen folgende sein: Lage und Nähe zur Stadt, damit verbunden verschiedene Eintragswege sowie Reinigungs- bzw. Desinfektionspläne, Gruppenzusammensetzungen, Überbelegung, Alterszusammensetzung, vorhandene Umgebungsflora. Aufgrund des zoonotischen Potentials der Dermatophyten und der damit verbundenen Kosten in der Humanmedizin ist es anzuraten möglichst einfache, richtige aber spezifische bzw. sensitive Verfahren zu kombinieren, um zukünftige Managementpläne für Tierheime zu entwickeln.

## 7 Summary

**Constanze Köbing**

**„Detection of dermatophytes in dogs and cats in animal shelters”**

**Institute of Bacteriology and Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig**

Submitted in August 2018

(109 pages, 20 figures, 34 tables, 198 references, 12 pages appendices)

Key words: cats, dogs, dermatophytosis, animal shelter, ozon generator

Introduction: Many studies of cats and dogs with and without dermatophytosis were made all over the world. In this study two different animal shelters in the region of N. in Mecklenburg-Vorpommern were examined. One of them located in rural area, built in an old farming house, the second shelter located in urban area with high frequencies of visitors and helping people.

Objectives: Aim of the present study was to find out the prevalence of dermatophytosis in both animal shelters and to discover reasons of differences in prevalence. To achieve this as many as possible cats and dogs were examined. Additionally the surroundings of the animals were examined in order to find out possible vectors and the prevalence of dermatophytes in the cat offices and dog kennels.

Material and methods: In sum 42 cats and 33 dogs took part. The animals were examined and together with the animal flashcard the anamnesis was made. One brush sample of each animal was taken with the help of a hand brush made of natural hair. The whole body of each animal was carefully brushed in approximately the same time. Blood samples were taken afterwards. Swab samples were taken out of the surrounding of each animal. In sum 139 swab samples were taken in the animal shelter A and 119 swab samples were taken in the animal shelter B. In meandering fashion each swab sample was taken from the surface within 20 s. Afterwards the samples were applied to dermatophyte agar and incubated for four weeks at 28 °C. Fungal growth was controlled visually. Based on culture morphology and micromorphology the cultures were identified. If the cultures cannot clearly be identified, further measures were initiated. With help of MALDI-TOF analysis and DNA-sequencing unclear cultures were analyzed. To investigate humoral immune response against dermatophytes blood samples were analyzed. IgG-anti-*M. canis*, IgG-anti-*M. gypseum* and IgG-anti-*T. mentagrophytes* in cats and immunoglobulin G, M, A and E against *M. canis*, *M. gypseum* and *T. mentagrophytes* in dogs were analyzed. Additionally the acute-phase proteins, haptoglobin (cats) and C-reactive protein (dogs) were examined.

## Summary

Results: In 46,43 % of the cats in the animal shelter B *M. canis* was identified. One dog showed a positive culture for *T. mentagrophytes*. Only few of the positive cats showed changes in hair and skin appearance. In conclusion most of the dermatophyte positive cats were asymptomatic carriers. The surrounding analysis showed clearly more variability in fungal diversity in the animal shelter A. After commitment of the ozone device Air Cleaner OZ 1000 in one cat office, no fungi were found in any of the samples. With the help of MALDI-TOF analysis and DNA-sequencing unclear fungal cultures could be identified and relationships between the different *M. canis* strains were made. The serological examination showed a significant difference of IgG-anti-*M. canis* antibodies between both animal shelters and the different groups of ages.

Conclusion: The animal shelters showed different appearance of dermatophytes. Aim of this study was to find out these differences and to name out possible reasons. Based on our results possible reasons may be: location, neighborhood and entry routes of pathogens, cleaning and disinfection plans, group compositions, overcrowding, age composition and environmental flora. Because of the zoonotic potential of dermatophytes and the related costs in human medicine, simple, right, sensitive and specific practices must be combined in order to develop management plans for animal shelters.

## 8 Literaturverzeichnis

Abdel-Gawad KM. Mycological and some physiological studies of keratinophilic and other moulds associated with sheep wool. *Microbiol Res.* 1997;152(2):181–188.

Abdel-Rahman Susan M, Farrand N, Schuenemann E, Stering Tricia K, Preuett B, Magie R, Campbell A. The Prevalence of infections with *Trichophyton tonsurans* in schoolchildren: The Capitis study. *Pediatrics.* 2010;125(5):966-973.

Abeck D, Haneke E, Nolting S, Reinel D, Seebacher C. Onychomykose. *Deutsches Ärzteblatt.* 2000;97(28-29):A-1984-A-1986.

Ajello L. The dermatophyte, *Microsporum gypseum*, as a saprophyte and parasite. *J Investig Dermatol.* 1953;21(3):157–171.

Ajello L. Geographic distribution and prevalence of the dermatophytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1960;89(1):30–38.

Ajello L. Present day concepts of the dermatophytes. *Mycopathologia.* 1962;17(4):315–324.

Anon., Statista – Das Statistik Portal, Anzahl der Haustiere in deutschen Haushalten in den Jahren 2010 bis 2015 [Internet], 2017, (zitiert vom 20.1.2017), <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/30157/umfrage/anzahl-der-haustiere-in-deutschen-haushalten-seit-2008/>.

Anon., Berufsgenossenschaft für Energie, Textil, Elektro und Medienerzeugnisse – BG-ETEM, Technische Regel für Gefahrstoffe–TRGS 905 [Internet], Stand 07/2013, (zitiert vom 28.4.2018), <http://dp.bgetem.de/pages/service/download/medien/526.pdf>.

Anon., Deutscher Tierschutzbund e.V., Über uns [Internet], 2017, (zitiert vom 24.10.2017), <https://www.tierschutzbund.de/organisation/ueber-uns/>.

Anon., GESTIS-Stoffdatenbank der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung [Internet], Stoffdatenblatt Ozon Stand 02.11.1995, (zitiert vom 28.4.2018), <http://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp>.

Anon., Ozongenerator OZ 1000 [Internet], Stand 2008, (zitiert vom 27.4.2018), <http://www.tierisch-gute-luft.de/OZ1000.shtml?produkte=true>.

Aljabre SH; Richardson MD, Scott EM, Shankland GS. Germination of *Trichophyton mentagrophytes* on human stratum corneum in vitro. *J Med Vet Mycol.* 1992;30(2):145–152.

Al-Janabi AAHS. Determination of antidermatophytic effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on *Trichophyton mentagrophytes* and *Epidermophyton floccosum*. *Mycoses.* 2011;54(5):e443-e448.

Altmeyer P, Schon K. Cutaneous mold fungus granuloma from *Ulocladium chartarum*. *Hautarzt.* 1981;32(1):36–38.



## Literaturverzeichnis

- Anbu P, Gopinath SCB, Hilda A, Mathivanan Annadurai G. Secretion of keratinolytic enzymes and keratinolysis by *Scopulariopsis brevicaulis* and *Trichophyton mentagrophytes*: regression analysis. *Can J Microbiol.* 2006;52(11):1060–1069.
- Apprich V, Spargser J, Rosengarten R, Stanek C. In vitro degradation of equine keratin by dermatophytes and other keratinophilic fungi. *Vet Microbiol.* 2006;114(3-4):352–358.
- Asticiolli S, Silverio AD, Sacco L, Fusi I, Vincenti L, Romero E. Dermatophyte infections in patients attending a tertiary care hospital in northern Italy. *New Microbiol.* 2008;31:543-548.
- Baldo A, Mathy A, Tabart J, Camponova P, Vermout S, Massart L. Secreted subtilisin Sub3 from *Microsporum canis* is required for adherence to but not for invasion of the epidermis. *Br J Dermatol.* 2010;162(5):990–997.
- Barker SA, Cruickshank CN, Morris JH, Wood SR. The isolation of trichophytin glycopeptide and its structure in relation to the immediate and delayed reactions. *Immunology.* 1962;5:627–632.
- Baxter M. Ringworm due to *Microsporum canis* in cats and dogs in New Zealand. *N Z Vet J.* 1973;21(3):33–37.
- Beck W, Clark HH. Zoophile Dermatophyten als Epizoonoseerreger und ihre Bedeutung in der Dermatologie. *Hautarzt.* 1998;49(6):457–461.
- Berk SH, Penneys NS, Weinstein GD. Epidermal activity in annular dermatophytosis. *Arch Dermatol.* 1976;112(4):485–488.
- Bernhardt A, Von Bomhard W, Antweiler E, Tintelnot K. Molecular identification of fungal pathogens in nodular skin lesions of cats. *Med Mycol.* 2015;53(2):132–144.
- Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung (BiB) 2017. Bevölkerung in Deutschland. Geographische Rundschau vom November 2017 (zitiert vom 15.5.2018):1-8. [https://www.bib.bund.de/Publikation/2017/pdf/Bevoelkerung-in-Deutschland.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=3](https://www.bib.bund.de/Publikation/2017/pdf/Bevoelkerung-in-Deutschland.pdf?__blob=publicationFile&v=3).
- Boman HG. Innate immunity and the normal microflora. *Immunol Rev.* 2000;173(1):5–16.
- Bond R. Superficial veterinary mycoses. *Clin Dermatol.* 2010;28(2):226–236.
- Braathen LR, Kaaman T. Human epidermal Langerhans cells induce cellular immune response to trichophytin in dermatophytosis. *Br J Dermatol.* 1983;109(3):295–300.
- Brasch J. Pathogenesis of tinea. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2010;(8):780-786.
- Brasch J, Dressel S, Müller-Wening K, Hügel R, von Bremen D, de Hoog GS. Toenail infection by *Cladophialophora boppii*. *Med Mycol.* 2011;49(2):190–193.
- Brilhante RSN, Cordeiro RA, Gomes JMF, Sidrim JJC, Rocha MFG. Canine dermatophytosis caused by an anthropophilic species: molecular and phenotypical characterization of *Trichophyton tonsurans*. *J Med Microbiol.* 2006;55(11):1583–1586.

- Brillowska-Dąbrowska A, Saunte DM, Arendrup MC. Five-hour Diagnosis of Dermatophyte Nail Infection with Specific Detection of *Trichophyton rubrum*. *J Clin Microbiol.* 2007;45(4):1200-1204.
- Brouta F, Descamps F, Fett T, Losson B, Gerday Ch, Mignon B. Purification and characterization of a 43,5 kDa keratinolytic metalloprotease from *Microsporum canis*. *Med Mycol.* 2001;39(3):269–275.
- Brouta F, Descamps F, Monod M, Vermout S, Losson B, Mignon B. Secreted metalloprotease gene family of *Microsporum canis*. *Infect Immun.* 2002;70(10):5676–5683.
- Brouta F, Descamps F, Vermout S, Monod M, Losson B, Mignon B. Humoral and cellular immune response to a *Microsporum canis* recombinant keratinolytic metalloprotease (r-MEP3) in experimentally infected guinea pigs. *Med Mycol.* 2003;41(6):495–501.
- Bullone M, de Lagarde M, Vargas A, Lavoie J-P. Serum Surfactant Protein D and Haptoglobin as Potential Biomarkers for Inflammatory Airway Disease in Horses. *J Vet Intern Med.* 2015;29(6):1707-1711.
- Cabañes FJ, Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G. Seasonal study of the fungal biota of the fur of dogs. *Mycopathologia.* 1996;133(1):1–7.
- Cabañes FJ, Abarca ML, Bragulat MR. Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. *Mycopathologia.* 1997;137(2):107–113.
- Cafarchia C, Romito D, Sasanelli M, Lia R, Capelli G, Otranto D. The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. *Mycoses.* 2004;47(11-12):508–513.
- Cafarchia C, Romito D, Capelli G, Guillot J, Otranto D. Isolation of *Microsporum canis* from the hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis tinea corporis*. *Vet Dermatol.* 2006;17(5):327–331.
- Cafarchia C, Camarda A, Coccioli C, Figueredo LA, Circella E, Danesi P. Epidemiology and risk factors for dermatophytoses in rabbit farms. *Med Mycol.* 2010;48(7):975–980.
- Cafarchia C, Figueredo LA, Coccioli C, Camarda A, Otranto D. Enzymatic activity of *Microsporum canis* and *Trichophyton mentagrophytes* from breeding rabbits with and without skin lesions. *Mycoses.* 2012;55(1):45–49.
- Campbell DJ, Rawlings JM, Koelsch S, Wallace J, Strain JJ, Hannigan BM. Age-related differences in parameters of feline immune status. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;100(1-2):73-80.
- Cano J, Guarro J, Figueras MJ. Study of the invasion of human hair in vitro by *Aphanoascus* spp. *Mycoses.* 1991;34(3-4):145–152.
- Caretta G, Mancianti F, Ajello L. Dermatophytes and keratinophilic fungi in cats and dogs. *Mycoses.* 1989;32(12):620–626.
- Carlotti DN, Guinot P, Meissonnier E, Germain PA. Eradication of feline dermatophytosis in a shelter: a field study. *Vet Dermatol.* 2010;21(3):259–266.

- Caspi D, Snel FW, Batt RM, Bennett D, Rutteman GR, Hartman EG. C-reactive protein in dogs. *Am J Vet Res.* 1987;48(6):919–921.
- Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett.* 1989;242(2):237–239.
- Ceron JJ, Eckersall PD, Martýnez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 2005;34(2):85–99.
- Challacombe SJ, Percival RS, Marsh PD. Age-related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotoid saliva and serum in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol.* 1995;10(4):202-207.
- Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. Dermatophytoses in Animals. *Mycopathologia.* 2008;166(5-6):385–405.
- Cornegliani L, Persico P, Colombo S. Canine nodular dermatophytosis (kerion): 23 cases. *Vet Dermatol.* 2009;20(3):185–190.
- Cramer R, Blaser K. Allergy and immunity to fungal infections and colonization. *Eur Respir J.* 2002;19(1):151–157.
- Dahl MV, Grando SA. Chronic dermatophytosis: what is special about *Trichophyton rubrum*? *Adv Dermatol.* 1994;(9):97-109.
- Daniels G. The Digestion of Human Hair Keratin by *Microsporum canis* Bodin. *J Gen Microbiol.* 1953;8(2);289–294.
- Day MJ, Bennett D, Crispin S, Dobson J, Hall EJ, Mackin A, Shaw SE. Atlas der klinischen Immunologie bei Hund und Katze. 1. Auflage. Übersetzer Dr. med. vet. Clemens Schickling. Schlütersche Verlag; 2004. S. 34-38. ISBN: 3-87706-630-5.
- DeBoer DJ, Moriello KA. Humoral and cellular immune responses to *Microsporum canis* in naturally occurring feline dermatophytosis. *J Med Vet Mycol.* 1993;31(2):121–132.
- De Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, Kupsch C, Stielow JB, Freeke J, Göker M, Matehkolaei AR, Mirhendi H, Gräser Y. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia.* 2017;182(1-2):5-31.
- De Lamater ED. Experimental studies with the Dermatophytes. *J Investig Dermatol.* 1942;5(6):423–429.
- Dhabhar FS, Mc Ewen BS. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav Immun.* 1997;11(4):286-306.
- Drouot S, Mignon B, Fratti M, Roosje P, Monod M. Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. *Vet Dermatol.* 2009;20(1):13–18.

Duek L, Kaufman G, Ulman Y, Berdicevsky I. The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. *J Infect.* 2004;48(2):175–180.

Duthie S, Eckersall PD, Addie DD, Lawrence CE, Jarrett O. Value of alpha1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet Rec.* 1997;141(12):299-303.

DVG - Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft [Internet]. 13. Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für die Tierhaltung. Handelspräparate: DVG. 2011, (zitiert vom 10. November 2015). <http://www.desinfektion-dvg.de/index.php?id=1802>.

Emmons CW. Dermatophytes. Natural grouping based on the form of the spores and the accessory organs. *Arch Dermatol Syphilol.* 1934;30(3):337-362.

Esquenazi D, Souza W, Sales Alviano C, Rozental S. The role of surface carbohydrates on the interaction of microconidia of Trichophyton mentagrophytes with epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;35(2):113–123.

ESCCAP-European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. Bekämpfung von Dermatophyten bei Hunden und Katzen. ESCCAP-Empfehlung Nr. 2. Osnabrück: Vennebusch; 2009. 1-17. ISBN: 978-1-907259-08-1.

Filipello MV, Curetti D, Cassinelli C, Bordese C. Keratinolytic and keratinophilic fungi in the soils of Papua New Guinea. *Mycopathologia.* 1991;115(2):113–119.

Fowkes FJI, Imrie H, Migot-Nabias F, Michon P, Justice A, Deloron P, Luty JFA, Day KP. Association of haptoglobin levels with age, parasite density, and haptoglobin genotype in a malaria-endemic area of Gabon. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74(1):26-30.

Fritz P, Beck-Jendroschek V, Brasch J. Inhibition of dermatophytes by the antimicrobial peptides human  $\beta$ -defensin-2, ribonuclease 7 and psoriasin. *Med Mycol.* 2012;50(6):579-84.

Frymus T, Gruffydd-Jones T, Pennisi MG, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Möstl K, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. Dermatophytosis in cats-ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg.* 2013;15(7):598-604.

Galgóczy L, Papp T, Pócsi I, Hegedüs N, Vágvölyi C. In vitro activity of Penicillium chrysogenum antifungal protein (PAF) and its combination with fluconazole against different dermatophytes. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2008;94(3):463-470.

Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, Akira S, Underhill DM. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med.* 2003;197(9):1107–1117.

Garg J, Tilak R, Singh S, Gulati AK, Garg A, Prakash P, Nath G. Evaluation of pan-dermatophyte nested PCR in diagnosis of Onychomycosis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(10):3443-3445.

- Giordano A, Spagnolo V, Colombo A, Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentration in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet J.* 2004;167(1):38-44.
- Godheja J, Shekhar SK. Biodegradation of Keratin from Chicken Feathers by Fungal Species as a Means of Sustainable Development. *J Bioremed Biodeg.* 2014;5(5):1-5. ISSN:2155-6199
- Gradisar H, Friedrich J, Krizaj I, Jerala R. Similarities and specificities of fungal keratinolytic proteases: comparison of keratinases of *Paecilomyces marquandii* and *Doratomyces microsporus* to some known proteases. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(7):3420–3426.
- Gräser Y, Kuijpers AF, Presber W, de Hoog GS. Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. *Med Mycol.* 1999;37(5):315–330.
- Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes-a polyphasic approach. *Mycopathologia.* 2008;166(5-6):239–256.
- Guo J, Brosnan B, Furey A, Arendt E, Murphy P, Coffey A. Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Epidermophyton floccosum*. *Bioeng Bugs.* 2012;3(2):104–113. DOI: 10.4161/bbug.19624.
- Hashimoto T, Blumenthal HJ. Factors affecting germination of *Trichophyton mentagrophytes* arthrospores. *Infect Immun.* 1977;18(2):479–486.
- Honbo S, Jones HK, Artis WM. Chronic Dermatophyte Infection: Evaluation of the Ig Class-Specific Antibody Response Reactive with Polysaccharide and Peptide Antigens Derived from *Trichophyton mentagrophytes*. *J Invest Dermatol.* 1984;82(3):287–290.
- Hubka V, Mencl K, Skorepova M, Lyskova P, Zalabska E. Phaeoophomycosis and onychomycosis due to *Chaetomium* spp., including the first report of *Chaetomium brasiliense* infection. *Med Mycol.* 2011;49(7):724–733.
- Hubka V, Dobiasova S, Lyskova P, Mallatova N, Chlebkova J, Skorepova M. *Auxarthron ostraviense* sp. nov., and *A. umbrinum* associated with non-dermatophytic onychomycosis. *Med Mycol.* 2013;51(6):614-624.
- Iorio R, Cafarchia C, Capelli G, Fasciocco D, Otranto D, Giangaspero A. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: epidemiological aspects. *Mycoses.* 2007;50(6):491–495.
- Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of Adaptive Immunity by the Innate Immune System. *Science.* 2010;327(5963):291–295.
- Izadpanah A, Gallo RL. Antimicrobial peptides. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(3 Pt 1):381-90.
- Kabu M, Sayin Z. Concentrations of serum amyloid A, haptoglobin, tumour necrosis factor and interleukin-1 and -6 in buffaloes naturally infected with dermatophytosis. *Veterinari Medicina.* 2016;61(3):133-135.
- Kachuei R, Emami M, Naeimi B, Diba K. Isolation of keratinophilic fungi from soil in Isfahan province, Iran. *J Mycol Med.* 2012;22(1):8–13.

- Kajikawaa T, Furutaa A, Onishib T, Tajimaa T, Sugiia S. Changes in concentrations of serum amyloid A protein,  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, Haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999;68(1):91-98.
- Kann RKC, Seddon JM, Henning J, Meers J. Acute phase proteins in healthy and sick cats. *Res Vet Sci.* 2012;93(2):649–654.
- Kaplan W, Georg LK, Ajello L. Recent developments in animal ringworm and their public health implications. *Ann N Y Acad Sci.* 1958;70(3):636–649.
- Kaufman G, Horwitz BA, Duek L, Ullman Y, Berdicevsky I. Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. *Med Mycol.* 2007;45(2):149–155.
- Keeble EJ, Neuber A, Hume L, Goodman G. Medical management of *Trichophyton* dermatophytosis using a novel treatment regimen in L'Hoest's monkeys (*Cercopithecus lhoesti*). *Vet Rec.* 2010;167(22):862–864.
- Kessler MR, Turner DC. Stress and adaption of cats (*Felis silvestris catus*) housed singly, in pairs and in groups in boarding catteries. *Anim Welf.* 1997;6(3):243-254.
- Knapp A, Schrödl W, Grevel V, Oechtering G. Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) im Blutserum bei Hunden mit postoperativen Wundheilungsstörungen. *Tierärztliche Praxis.* 2009;37(K):21–27.
- Koch S. Dermatophytenspektrum bei Streunern und Heimtieren [Dissertation med.]. Berlin: Medizinische Fakultät Charité Berlin; 2012.
- Korman RM, Cerón JJ, Knowles TG, Barker EN, Eckersall PD, Tasker S. Acute phase response to *Mycoplasma haemofelis* and *Candidatus Mycoplasma haemominutum* infection in FIV-infected and non-FIV-infected cats. *Vet J.* 2012;193(2): 433-438.
- Kownatzki E. Hand hygiene and skin health. *J Hosp Infect.* 2003;55(4):239-245.
- Kozel TR. Complement activation by pathogenic fungi. *Res Immunol.* 1998;149(4-5):309-20; discussion 514-5.
- Kraemer A, Mueller RS, Werckenthin C, Straubinger RK, Hein J. (2012): Dermatophytes in pet Guinea pigs and rabbits. *Vet Microbiol.* 2012;157(1-2):208–213.
- Kraemer A, Hein J, Heusinger A, Mueller RS. Clinical signs, therapy and zoonotic risk of pet guinea pigs with dermatophytosis. *Mycoses.* 2013;56(2):168–172.
- Kunert J. Effect of reducing agents on proteolytic and keratinolytic activity of enzymes of *Microsporum gypseum*. *Mycoses.* 1992;35(11-12):343–348.
- Kupsch C, Berlin M, Gräser Y. Dermatophyten und Meerschweinchen-Eine unterschätzte Gefahr. *Hautarzt.* 2017;68(10):827-830.

- Lange L, Huang Y, Busk PK. Microbial decomposition of keratin in nature-a new hypothesis of industrial relevance. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(5):2083–2096.
- Lebre MC, van der Aar AMG, van Baarsen L, van Capel TMM, Schuitemaker JHN, Kapsenberg ML, de Jong EC. Human Keratinocytes Express Functional Toll-Like Receptor 3, 4, 5, and 9. *J Investig Dermatol*. 2007;127(2):331–341.
- Léchenne B, Reichard U, Zaugg C, Fratti M, Kunert J, Boulat O, Monod M. Sulphite efflux pumps in *Aspergillus fumigatus* and dermatophytes. *Microbiology*. 2007;(153):905-913.
- Lee KH, Park KK, Park SH, Lee JB. Isolation, Purification and Characterization of keratinolytic Proteinase from *Microsporum canis*. *Yonsei Med J*. 1987;28(2):131-138.
- Leibovici V, Evron R, Axelrod O, Westerman M, Shalit M, Barak V, Frankenburg S. Imbalance of immune responses in patients with chronic and widespread fungal skin infection. *Clin Exp Dermatol*. 1995;20(5):390–394.
- Mackenzie DWR. "Hairbrush Diagnosis" in Detection and Eradication of Non-Flourescent Scalp Ringworm. *Br Med J*. 1963;2(5353):363–365.
- Mancianti F, Giannelli C, Bendinelli M, Poli A. Mycological findings in feline immunodeficiency virus-infected cats. *J Med Vet Mycol*. 1992;30(3):257–259.
- Mancianti F, Nardoni S, Corazza M, Dachille P, Ponticelli C. Environmental detection of arthrospores in the households of infected cats and dogs. *J Feline Med Surg*. 2003;5(6):323–328.
- Martinelli M, Giovannangeli F, Rotunno S, Trombetta CM, Montomoli E. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. *J Prev Med Hyg*. 2017;58(1):E48-E52.
- Martinez-Herrera EO, Arroyo-Camarena S, Tejada-Garcia DL, Porrás-Lopez CF, Arenas R. Onychomycosis due to opportunistic molds. *An Bras Dermatol*. 2015;90(3):334–337.
- Mathy A, Baldo A, Schoofs L, Cambier L, Defaweux V, Tabart J. Fungalysin and dipeptidyl-peptidase gene transcription in *Microsporum canis* strains isolated from symptomatic and asymptomatic cats. *Vet Microbiol*. 2010;146(1-2):179–182.
- Mignon BR, Losson BJ. Prevalence and characterization of *Microsporum canis* carriage in cats. *J Med Vet Mycol*. 1997;35(4):249–256.
- Mignon B, Swinnen M, Bouchara JP, Hofinger M, Nikkels A, Pierard G. Purification and characterization of a 31,5 kDa keratinolytic subtilisin-like serine protease from *Microsporum canis* and evidence of its secretion in naturally infected cats. *Med Mycol*. 1998;36(6):395–404.
- Mignon BR, Coignoul F, Leclipteux T, Focant Ch, Losson BJ. Histopathological pattern and humoral immune response to a crude exo-antigen and purified keratinase of *Microsporum canis* in symptomatic and asymptomatic infected cats. *Med Mycol*. 1999a;37(1):1–9.

- Mignon BR, Leclipteux T, Focant Ch, Nikkels AJ, Piérard GE, Losson BJ. Humoral and cellular immune response to a crude exo-antigen and purified keratinase of *Microsporum canis* in experimentally infected guinea pigs. *Med Mycol.* 1999b;37(2):123–129.
- Mignon B, Tabart J, Baldo A, Mathy A, Losson B, Vermout S. Immunization and dermatophytes. *Curr Opin Infect Dis.* 2008;21(2):134–140.
- Mominoki K, Nakagawa-Tosa N, Morimatsu M, Syuto B, Saito M. Haptoglobin in Carnivora: a unique molecular structure in bear, cat and dog haptoglobins. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 1995;110(4):785-9.
- Monod M, Léchenne B, Jousson O, Grand D, Zaugg C, Stöcklin R, Grouzmann E. Aminopeptidases and dipeptidyl-peptidases secreted by the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. *Microbiology.* 2005;151:145-155.
- Moriello KA, DeBoer DJ. Fungal flora of the haircoat of cats with and without dermatophytosis. *J Med Vet Mycol.* 1991;29(5):285–292.
- Moriello K. The prevalence of immediate and delayed type hypersensitivity reactions to *Microsporum canis* antigens in cats. *J Feline Med Surg.* 2003;5(3):161–166.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis. An overview. *Vet J.* 2004;168(1):28–40.
- Murmu S, Debnath C, Pramanik AK, Mitra T, Jana S, Dey S, Banerjee S, Batabyal K. Detection and characterization of zoonotic dermatophytes from dogs and cats in and around Kolkata. *Vet World.* 2015;8(9):1078-1082.
- Nakamura Y, Kano R, Hasegawa A, Watanabe S. Interleukin-8 and Tumor Necrosis Factor Alpha Production in Human Epidermal Keratinocytes Induced by *Trichophyton mentagrophytes*. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9(4):935–937.
- Nenoff P, Herrmann J, Gräser Y. *Trichophyton mentagrophytes* sive interdigitale? A dermatophyte in the course of time. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007;5(3):198–202.
- Nenoff P, Handrick W, Krüger C, Vissienon T, Wichmann K, Gräser Y, Tchernev G. Dermatomykosen durch Haus- und Nutztiere. *Hautarzt.* 2012;63(11):848–858.
- Nenoff P, Krüger C. Dermatophyten-Infektionen der Haut, Haare und Nägel – ein Update. *Akt Dermatol.* 2012;38(08/09):347–359.
- Nenoff P, Schulze I, Uhrlaß S, Krüger C. Kerion celsi durch den zoophilen Dermatophyten *Trichophyton species* von *Arthroderma benhamiae* bei einem Kind-Ein neuer Erreger von Dermatomykosen in Deutschland. *Hautarzt.* 2013;64(11):846-850.
- Nenoff P, Paasch U, Handrick W. Infections of finger and toe nails due to fungi and bacteria. *Hautarzt.* 2014a;65(4):337–348.
- Nenoff P, Krüger C, Ginter-Hanselmayer G, Tietz HJ. Mycology - an update. Part1: Dermatomycoses. Causative agents, epidemiology and pathogenesis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2014b;(12)3:188-210.



- Nenoff P, Uhrlaß S, Krüger C, Erhard M, Hipler UC, Seyfarth F, Herrmann J, Wetzig T, Schroedl W, Gräser Y. Trichophyton species of *Arthroderma benhamiae* - a new infectious agent in dermatology. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2014c;(12)7:571-581.
- Nweze EI. Dermatophytoses in domesticated animals. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2011;53(2):94-99.
- Ouf SA, Moussa TA, Abd-Elmegeed AM, Eltahlawy SR. Anti-fungal potential of ozone against some dermatophytes. *Braz J Microbiol.* 2016;47(3):697-702.
- Pakshir K, Ghiasi, Zomorodian K, Gharavi AR. Isolation and molecular identification of keratinophilic fungi from public parks soil in Shiraz, Iran. *Biomed Res Int.* 2013:1-5.
- Papini M, Piraccini BM, Difonzo E, Brunoro A. Epidemiology of onychomycosis in Italy: prevalence data and risk factor identification. *Mycoses.* 2015;(58)11:659-664.
- Paul-Ehrlich Institut, PEI Stand Bekanntmachung Nr.430 im BAnz AT 31.03.2017 B7, (zitiert vom 5.10.2017):1-4, <http://www.pei.de/DE/arzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere-node.html>.
- Peano A, Rambozzi L, Gallo MG. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of canine dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. *Vet Dermatol.* 2005;16(2):102-107.
- Peeters JE, Mazás EA, Masschelein WJ, Martinez de Maturana IV, Debacker E. Effect of Desinfection of Drinking Water with Ozone or Chlorine Dioxide on Survival of *Cryptosporidium parvum* Oocysts. *Appl and Environ Microbiol.* 1989;55(6):1519-1522.
- Pier AC, Smith JM, Alexiou H, Ellis DH, Lund A, Pritchard RC. Animal ringworm-its aetiology, public health significance and control. *J Med Vet Mycol.* 1994;32 Suppl 1:133-150.
- Polizopoulou ZS, Koutinas CK, Cerón JJ, Tvarijonaviciute A, Martínez-Subiela S, Dasopoulou A. Correlation of serum cardiac troponin I and acute phase protein concentrations with clinical staging in dogs with degenerative mitral valve disease. *Vet Clin Pathol.* 2015;44(3):397-404.
- Prohl A, Schroedl W, Rhode H, Reinhold P. Acute phase proteins as local biomarkers of respiratory infection in calves. *BMC Vet Res.* 2015;11:167.
- Proudfoot LE, Morris-Jones R. Kerion Celsi. *N Engl J Med.* 2012;(366):1142.
- Qadim HH, Golforoushan F, Azimi H, Goldust M. Factors leading to dermatophytosis. *Ann Parasitol.* 2013;59(2):99-102.
- Ranganathan S, Arun Mozhi Balajee S, Mahendra Raja S. A survey of dermatophytosis in animals in Madras, India. *Mycopathologia.* 1997-1998;140(3):137-140.
- Rawlings ND, Barrett AJ, Bateman A. MEROPS: the database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(D1):D343-D350.
- Riley PY, Chomel BB. Hedgehog Zoonoses. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(1):1-5.

- Rodrigues Marcondes N, Ledesma Taira C, Cirena Vandresen D, Estivalet Svidzinski TI, Kadowaki MK, Peralta RM. New feather-degrading filamentous fungi. *Microb Ecol.* 2008;56(1):13–17.
- Roseeuw D. Achilles foot screening project: preliminary results of patients screened by dermatologists. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1999;12 Suppl.1:6-9; discussion S 17.
- Rossbacher J, Wagner L, Pasternack MS. Inhibitory Effect of Haptoglobin on Granulocyte Chemotaxis, Phagocytosis and Bactericidal Activity. *Scand J Immunol.* 1999;50(4):399–404.
- Sanford JA, Gallo RL. Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin Immunol.* 2013;25(5):370-377.
- Santana AE, Taborda CP, So Severo J, Gomes Rittner GM, Muñoz JE, Larsson CE Jr, Larsson CE. Development of enzyme immunoassay (ELISA and Western blot) for the serological diagnosis of dermatophytosis in symptomatic and asymptomatic cats. *Med Mycol.* 2018;56(1):95-102.
- Savin C, Huck S, Rolland C, Benderdouche M, Faur O, Noacco G. Multicenter Evaluation of a Commercial PCR-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Diagnostic Kit (Onychodiag) for Diagnosis of Dermatophytic Onychomycosis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(4):1205–1210.
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA. From the Cover: Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(16):6241–6246.
- Schroedl W, Heydel T, Schwarzte VU, Hoffmann K, Grosse-Herrenthey A, Walther G, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez-Tudela JL, Olias P, Jacobsen I, De Hoog GS, Voigt K. Direct analysis and identification of pathogenic *Lichtheimia* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight analyzer-mediated mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2012;(50)2:419-427.
- Schürch S, Gindro K, Schumpp O, Monod M, Verrier J, Bohni N, Wolfender JL. Chemische Kriegsführung zwischen Pilzen.: ein Arsenal an bioaktiven Molekülen. *Agraforschung Schweiz.* 2010;1(11-12):442-445.
- Scott JA, Untereiner WA. Determination of keratin degradation by fungi using keratin azure. *Med Mycol.* 2004;42(3):239-246.
- Seebacher C, Bouchara JP, Mignon B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. *Mycopathologia.* 2008;166(5-6):335–352.
- Seeliger HPR. Diagnostik pathogener Pilze des Menschen und seiner Umwelt. Lehrbuch und Atlas. Stuttgart, New York: Thieme; 1981.
- Seker E, Dogan N. Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey. *Prev Vet Med.* 2011;98(1):46-51.

## Literaturverzeichnis

- Serrano-Gómez D, Leal JA, Corbí AL. DC-SIGN mediates the binding of *Aspergillus fumigatus* and keratinophilic fungi by human dendritic cells. *Immunobiology*. 2005;210(2-4):175–183.
- Shah VK, Knight SG. Chemical composition of hyphal walls of dermatophytes. *Arch Biochem Biophys*. 1968;127(1):229-234.
- Shi Y, Niu Q, Yu X, Jia X, Wang J, Lin D, Jin Y. Assessment of the function of SUB6 in the pathogenic dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes*. *Med Mycol*. 2016;54(1):59-71.
- Shiraki Y. Cytokine secretion profiles of human keratinocytes during *Trichophyton tonsurans* and *Arthroderma benhamiae* infections. *J Med Microbiol*. 2006;55(9):1175–1185.
- Singh I, Dixit AK, Kushwaha RKS. Antagonism of *Microsporum* species by soil fungi. *Mycoses*. 2010;53(1):32-39.
- Soltys MA, Sumner-Smith G. Dermatophytes in veterinary practice. *Can Vet J*. 1969;10(4):111–116.
- Staib P, Zaugg Ch, Mignon B, Weber J, Grumbt M, Pradervand S, Harshman K, Monod M. Differential gene expression in the pathogenic dermatophyte *Arthroderma benhamiae* in vitro versus during infection. *Microbiology*. 2010;156(3):884-895.
- Symoens F, Jousson O, Packeu A, Fratti M, Staib P, Mignon B, Mignon M. The dermatophyte species *Arthroderma benhamiae*: intraspecies variability and mating behavior. *J Med Mycol*. 2013;62(Pt.3):377-385.
- Sugita K, Kabashima K, Atarashi K, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y. Innate immunity mediated by epidermal keratinocytes promotes acquired immunity involving Langerhans cells and T cells in the skin. *Clin Exp Immunol*. 2007;147(1):176–183.
- Tabart J, Baldo A, Vermout S, Nusgens B, Lapiere C, Losson B, Mignon B. Reconstructed interfollicular feline epidermis as a model for *Microsporum canis* dermatophytosis. *J Med Microbiol*. 2007;56(Pt.7):971-975.
- Takiuchi I, Higuchi D, Sei Y, Koga M. Isolation of an extracellular proteinase (Keratinase) from *Microsporum canis*. *Med Mycol*. 1982;20(4):281–288.
- Tani K, Adachi M, Nakamura Y, Kano R, Makimura K, Hasegawa A. The effect of dermatophytes on cytokine production by human keratinocytes. *Arch Dermatol Res*. 2007;299(8):381–387.
- Taylor JW, Jacobson DJ, Kroken S, Kasuga T, Geiser DM, Hibbett DS, Fisher MC. Phylogenetic Species Recognition and Species Concepts in Fungi. *Fungal Genet Biol*. 2000;31(1):21–32.
- Tietz HJ, Kunzelmann V, Schönian G. Wandel des dermatomykologischen Erregerspektrums. *Mycoses*. 1995;38(S1):33–39.
- Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*. 1930;52(4):561–571.

Torrente C, Manzanilla EG, Bosch L, Fresno L, del Alamo MR, Andaluz A, Saco Y, de Gopegui RR. Plasma iron, C-reactive protein, albumin and plasma fibrinogen concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Emerg Crit Care*. 2015;25(5):611-619.

Uhrlaß S, Schroedl W, Mehlhorn C, Krüger C, Hubka V, Maier T, Gräser Y, Paasch U, Nenoff P. Molekulare Epidemiologie von *Trichophyton quinckeanum* – ein zoophiler Dermatophyt im Aufwind. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2018; 16(1):21-33.

Uludag Altun H, Meral T, Aribas ET, Gorpelioglu C, Karabicak N. Case report-A case of Onychomycosis caused by *Rhodotorula glutinis*. *Case Rep Dermatol Med*. 2014;2014:563261.

Van Rooij P, Declercq J, Beguin H. Canine dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum*: an example of man-to-dog transmission. *Mycoses*. 2012;55(2):e15-e17.

Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht [Internet], VETIDATA, (zitiert vom 27. Mrz. 2017), [www.vetidata.de](http://www.vetidata.de) Wirkstoffgruppe Antimykotika.

Vermout SM, Brouta FD, Descamps FF, Losson BJ, Mignon BR. Evaluation of immunogenicity and protective efficacy of a *Microsporium canis* metalloprotease subunit vaccine in guinea pigs. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2004;40(1):75–80.

Viani FC, Dos Santos JI, Paula CR, Larson CE, Gambale W. Production of extracellular enzymes by *Microsporium canis* and their role in its virulence. *Med Mycol*. 2001;39(5):463–468.

Viani FC, Cazares Viani PR, Gutierrez Rivera IN, Gonçalves da Silva E, Rodrigues Paula C, Gambale W. Extracellular proteolytic activity and molecular analysis of *Microsporium canis* strains isolated from symptomatic and asymptomatic cats. *Rev Iberoam Micol*. 2007;24(1):19–23.

Weishaupt J, Kolb-Maeurer A, Lempert S, Nenoff P, Uhrlaß S, Hamm H, Goebeler M. A different kind of hedgehog pathway: tinea manus due to *Trichophyton erinacei* transmitted by an African pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Mycoses*. 2014;(57)2:125-127.

Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(2):240–259.

Westerman TL, Tornquist SJ, Foster CM, Poulsen KP. Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital. *Am J Vet Res*. 2015;76(10):882–888.

Wiegand C, Mugisha P, Mulyowa GK, Elsner P, Hipler UC, Gräser Y, Uhrlaß S, Nenoff P. *Trichophyton violaceum*-Haupterreger der Tinea capitis bei Kindern im Mbarara Regional Referral Hospital in Uganda. *Hautarzt*. 2016;67(9):712-717.

Wiegand C, Bauer A, Brasch J, Nenoff P, Schaller M, Mayser P, Hipler UA, Elsner P. Sind die klassischen Methoden zur mykologischen Diagnostik noch „State-of-the-Art“? *J Dtsch Dermatol Ges*. 2016;14(5):490-494.

## Literaturverzeichnis

Wijesuriya TM, Kottahachchi J, Gunasekara TDCP, Bulugahapitiyal U, Ranasinghe KNP, Neluka Fernando SS, Weerasekara MM. Aspergillus species: An emerging pathogen in onychomycosis among diabetics. *Indian J Endocrinol Metab.* 2015;(19)6:811-816.

Woodfolk JA. Allergy and dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(1):30–43.

Xiang Y, Guo W, Liang K. An unusual appearing skin lesion from *Penicillium marneffe* infection in an AIDS patient in central China. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;93(1):3.

Yu RJ, Harmon SR, Blank F. Isolation and purification of an extracellular keratinase of *Trichophyton mentagrophytes*. *J Bacteriol.* 1968;96(4):1435–1436.

Yu RJ, Harmon SR, Grappel SF, Blank F. Two cell-bound keratinases of *Trichophyton mentagrophytes*. *J Invest Dermatol.* 1971;56(1):27–32.

Zhou J, Chen M, Chen H Pan W, Liao W. *Rhodotorula minuta* as onychomycosis agent in a Chinese patient: first report and literature review. *Mycoses.* 2014;57(3):191–195.

Zrimšek P, Kos J, Pinter L, Drobnič-Košorok M. Detection by ELISA of the humoral immune response in rabbits naturally infected with *Trichophyton mentagrophytes*. *Vet Microbiol.* 1999;70(1-2):77-86.

Zrimšek P, Drobnič-Košorok M. Diagnostic Value of ELISA Tests for the Detection of Specific Antibodies in Cats and Rabbits with Dermatophytosis. *Food Technol Biotechnol.* 2002;40(3):171-175.

Zurita J, Hay RJ. Adherence of dermatophyte microconidia and arthroconidia to human keratinocytes in vitro. *J Invest Dermatol.* 1987;89(5):529–534.

9 Anhang

9.1 Abbildungen



Abbildung 10: Kolonieoberseite des Dermatophyten verdächtigen Isolates (*T. mentagrophytes*) der Hundeprobe SH18B, identifiziert als *Chrysosporium articulatum*

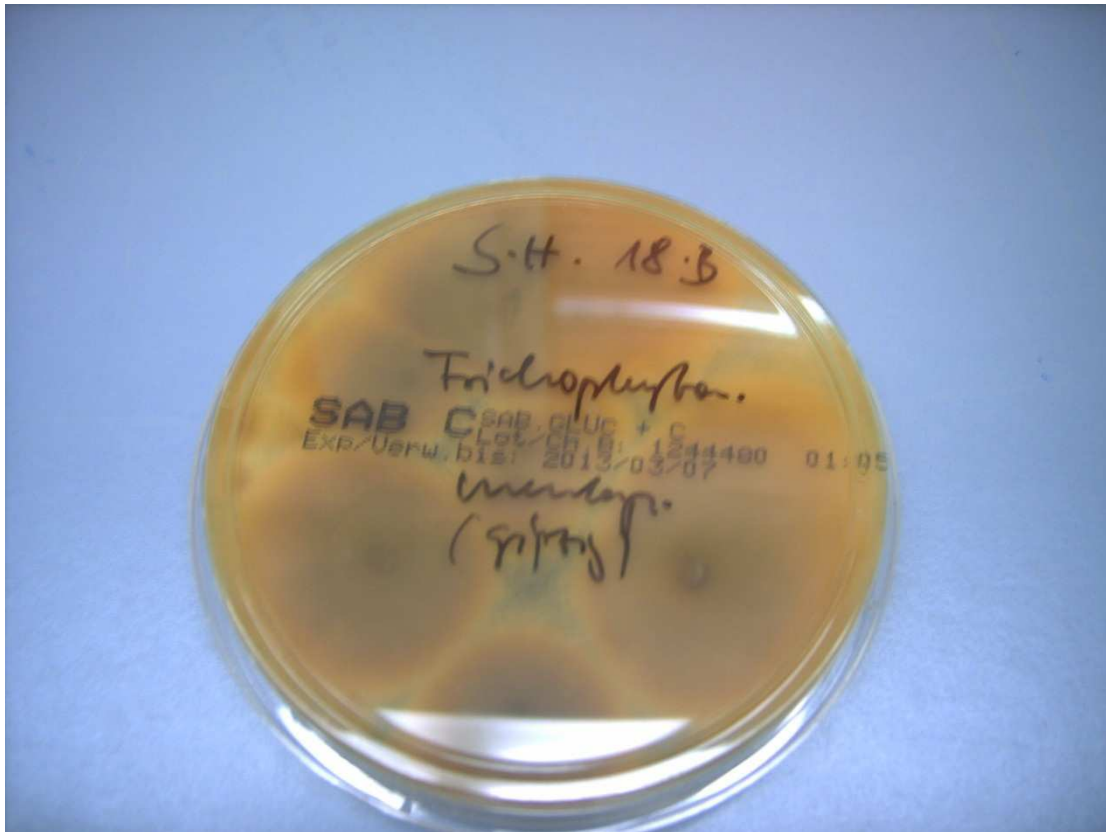


Abbildung 11: Kolonieunterseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates der Hundeprobe SH18B, identifiziert als *Chrysosporium articulatum*

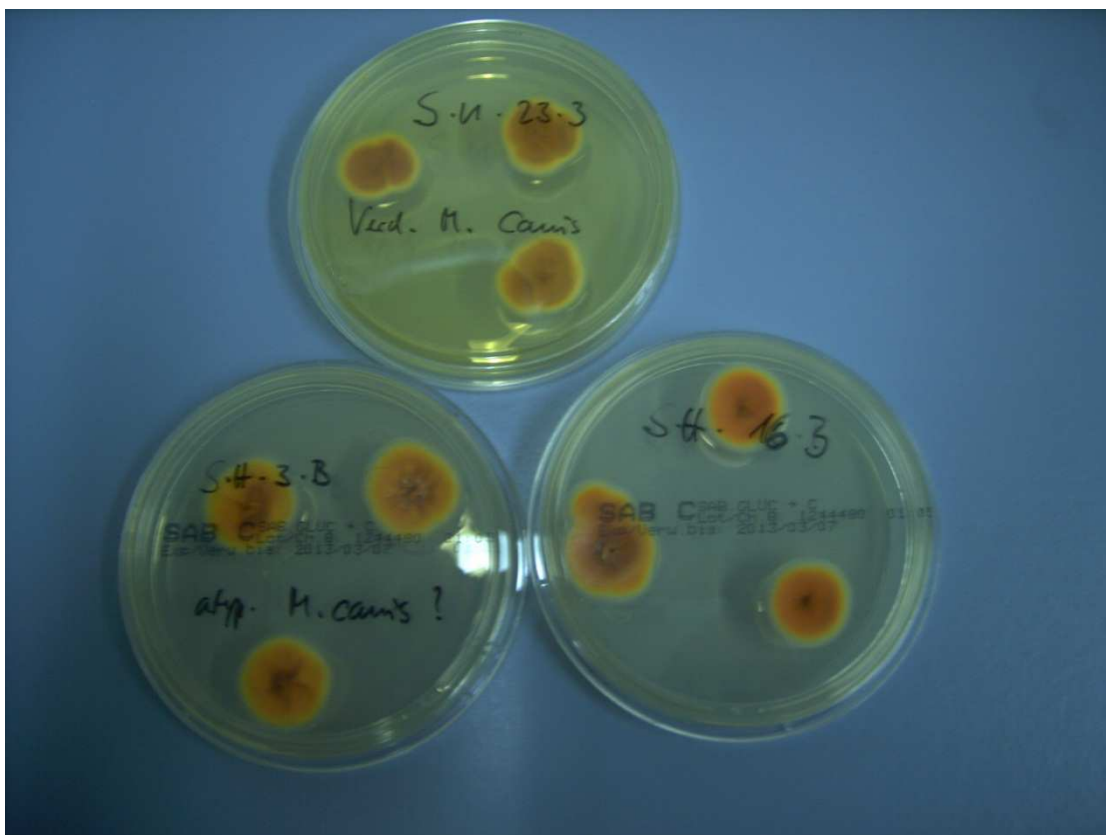


Abbildung 12: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiger Isolate der Proben SH3B, SH16B und SU 23.3(1), identifiziert als *Auxarthron umbrinum*

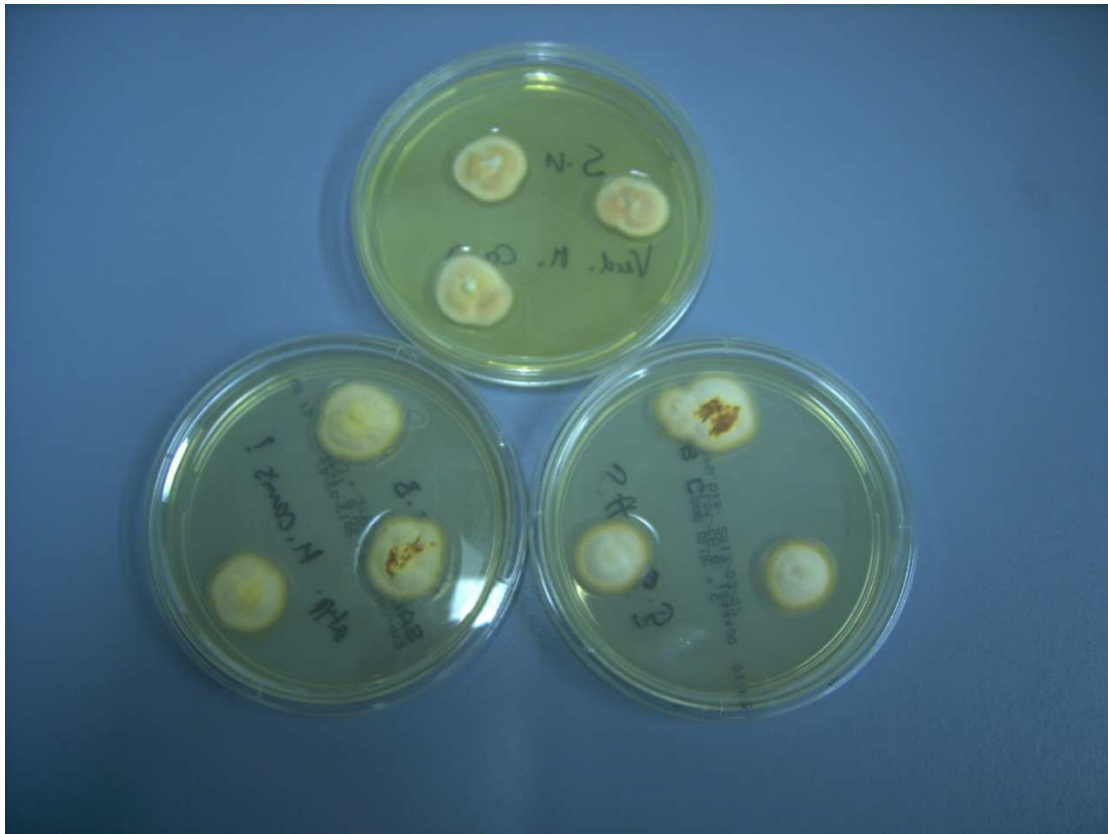


Abbildung 13: Kolonieoberseite Dermatophyten verdächtiger Isolate der Proben SH3B, SH16B, SU 23.3(1), identifiziert als *Auxarthron umbrinum*



Abbildung 14: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiges Isolat der Probe SK1B, identifiziert als *Auxarthron umbrinum*





Abbildung 15: Kolonieoberseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates der Katzenprobe SK1B, identifiziert als *Auxarthron umbrinum*

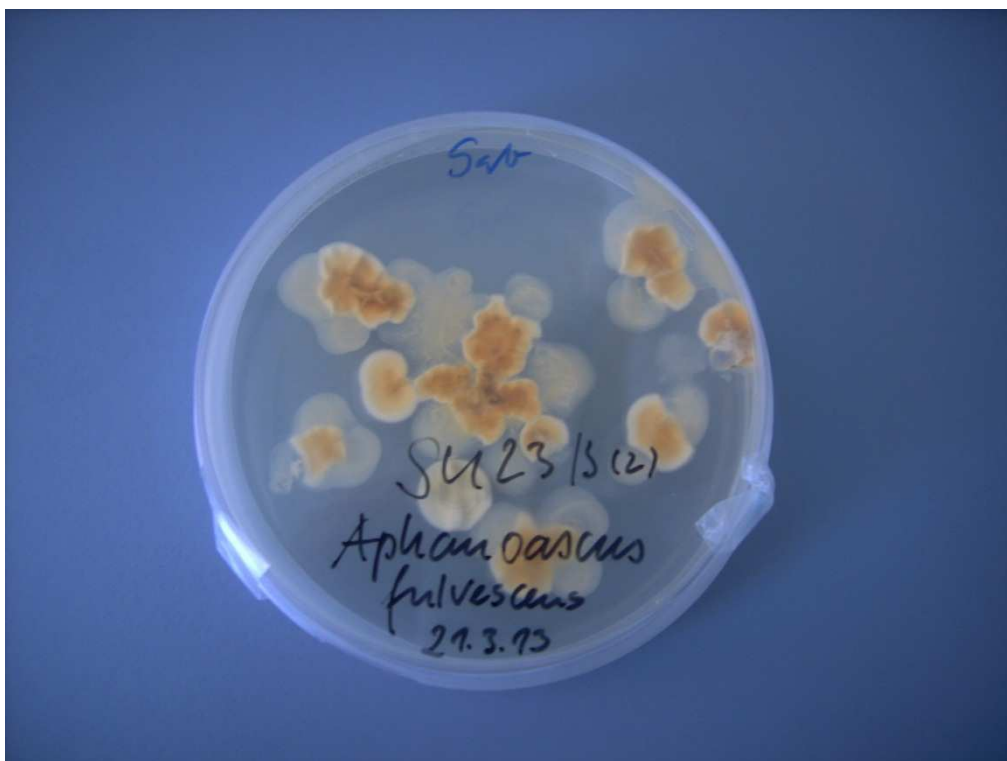


Abbildung 16: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiges Isolat aus einer Umgebungsprobe, als *Aphanoascus fulvescens* identifiziert



Abbildung 17: Kolonieoberseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates aus einer Umgebungsprobe, als *Aphanoascus fulvescens* identifiziert

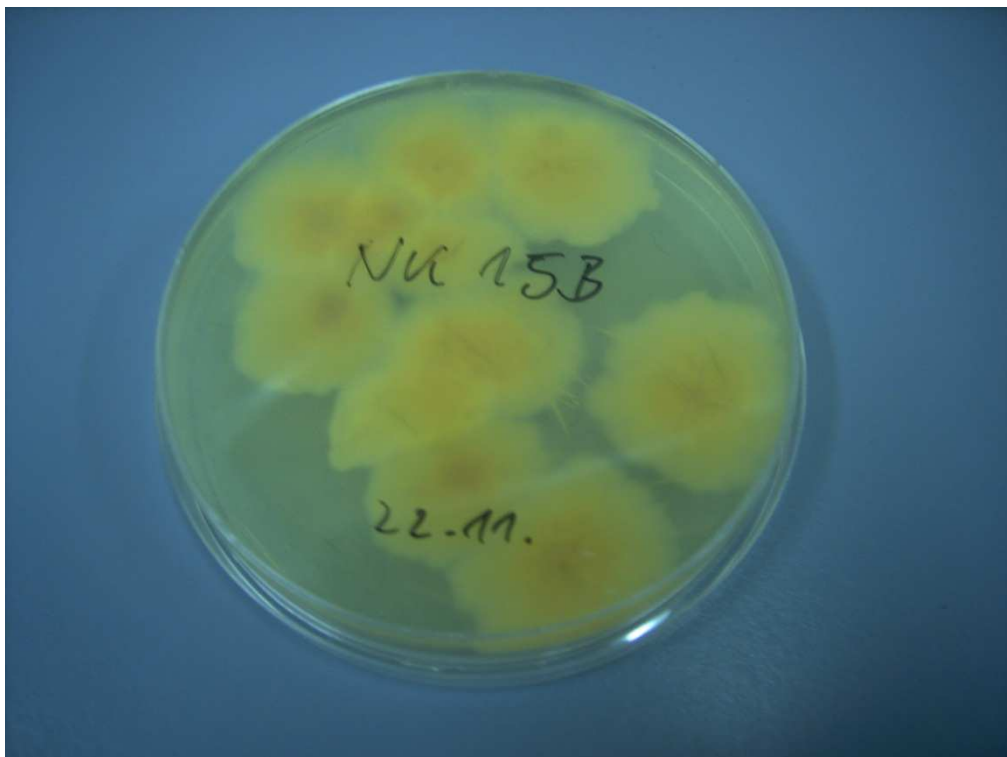


Abbildung 18: Kolonieunterseite, als *M. canis* identifizierter Pilz einer Katze aus dem Tierheim B

## Anhang



Abbildung 19: Kolonieoberseite, als *M. canis* identifizierter Pilz einer Katze aus dem Tierheim B

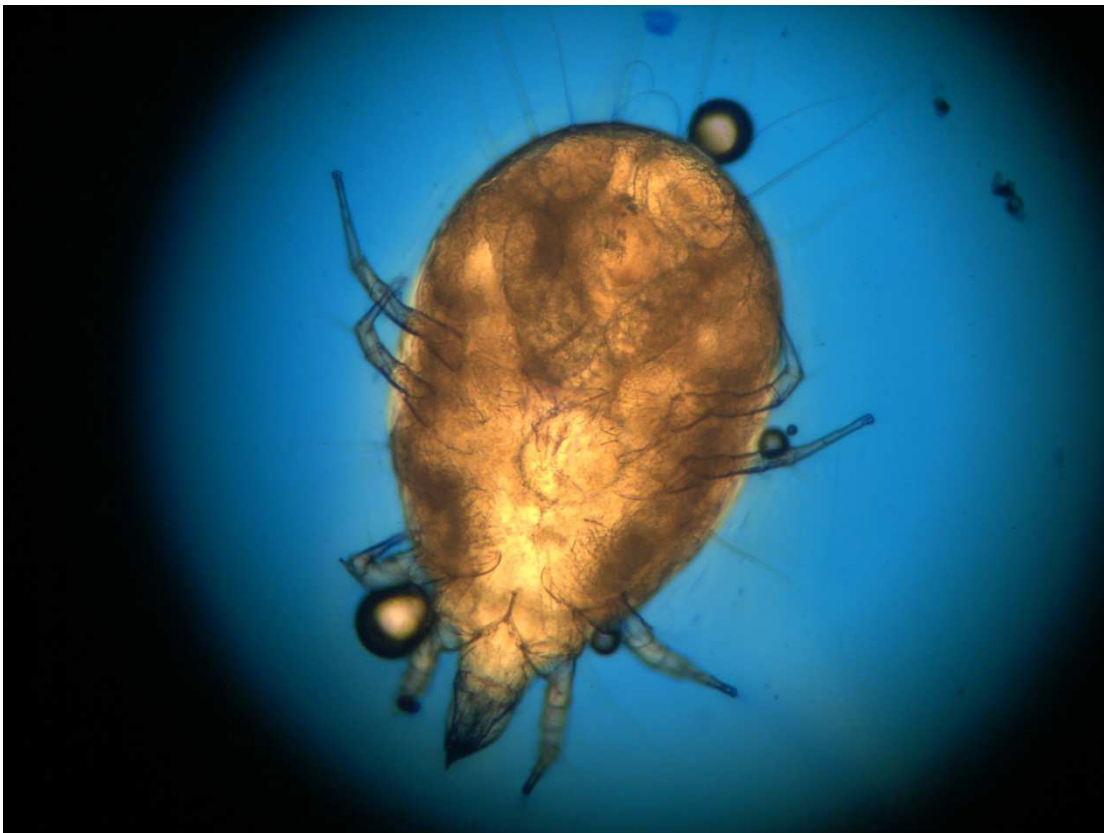


Abbildung 20: Mikroskopische Aufnahme *Tyrophagus* sp.

## 9.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: zwei MALDI-TOF Referenzspektren von <i>M. canis</i> (oben), die unteren 3 Spektren wurden isoliert aus Katzenproben des Tierheims B.....	66
Abbildung 2: Dendrogramm für einige auf <i>M. canis</i> untersuchte Proben .....	68
Abbildung 3: Boxplot-Diagramm für IgG-anti- <i>M. canis</i> der einzelnen Katzensgruppen (* $p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24 .....	76
Abbildung 4: Boxplot-Diagramm für IgG-anti- <i>M. gypseum</i> der einzelnen Katzensgruppen .....	
(* $p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24 .....	76
Abbildung 5: Boxplot-Diagramm für IgG-anti- <i>T. mentagrophytes</i> der einzelnen Katzenruppen (* $p < 0,05$ ); Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24.....	77
Abbildung 6: Boxplot-Diagramm Haptoglobin Werte in den einzelnen Gruppen der Katzen; Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 24 .....	79
Abbildung 7: Boxplot-Diagramm für IgM-anti- <i>M. gypseum</i> (Alter unter einem Jahr, $n = 0$ ; * $p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32 .....	90
Abbildung 8: Boxplot-Diagramm für IgE-anti- <i>M. gypseum</i> (Alter unter einem Jahr, $n = 0$ ; * $p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32 .....	90
Abbildung 9: Boxplot-Diagramm IgE-anti- <i>T. mentagrophytes</i> (Alter unter einem Jahr, $n = 0$ ; * $p < 0,05$ ); Anzahl der Hund in den einzelnen Gruppen siehe Tabelle 32 .....	91
Abbildung 10: Kolonieoberseite des Dermatophyten verdächtigen Isolates ( <i>T. mentagrophytes</i> ) der Hundeprobe SH18B, identifiziert als <i>Chrysosporium articulatum</i> .....	124
Abbildung 11: Kolonieunterseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates der Hundeprobe SH18B, identifiziert als <i>Chrysosporium articulatum</i> .....	125
Abbildung 12: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiger Isolate der Proben SH3B, SH16B und SU 23.3(1), identifiziert als <i>Auxarthron umbrinum</i> .....	125
Abbildung 13: Kolonieoberseite Dermatophyten verdächtiger Isolate der Proben SH3B, SH16B, SU 23.3(1), identifiziert als <i>Auxarthron umbrinum</i> .....	126
Abbildung 14: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiges Isolat der Probe SK1B, identifiziert als <i>Auxarthron umbrinum</i> .....	126
Abbildung 15: Kolonieoberseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates der Katzenprobe SK1B, identifiziert als <i>Auxarthron umbrinum</i> .....	127
Abbildung 16: Kolonieunterseite Dermatophyten verdächtiges Isolat aus einer Umgebungsprobe, als <i>Aphanoascus fulvescens</i> identifiziert.....	127
Abbildung 17: Kolonieoberseite eines Dermatophyten verdächtigen Isolates aus einer Umgebungsprobe, als <i>Aphanoascus fulvescens</i> identifiziert.....	128

## Anhang

Abbildung 18: Kolonieunterseite, als <i>M. canis</i> identifizierter Pilz einer Katze aus dem Tierheim B.....	128
Abbildung 19: Kolonieoberseite, als <i>M. canis</i> identifizierter Pilz einer Katze aus dem Tierheim B.....	129
Abbildung 20: Mikroskopische Aufnahme <i>Tyrophagus</i> sp. ....	129

### 9.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Neue und alte Nomenklatur für <i>Trichophyton</i> sp. im Überblick .....	8
Tabelle 2: Übersicht über das Vorkommen von Dermatophyten bei Katzen in verschiedenen Regionen der Welt.....	17
Tabelle 3: Übersicht über das Vorkommen von Dermatophyten bei Hunden in verschiedenen Regionen der Welt.....	19
Tabelle 4: Referenzwerte für Haptoglobin bei Katzen.....	32
Tabelle 5: Referenzwerte für Haptoglobin bei gesunden und kranken Katzen.....	33
Tabelle 6: Anzahl der untersuchten Hunde und Katzen in beiden Tierheimen.....	40
Tabelle 7: Übersicht über untersuchte Umgebungsproben in beiden Tierheimen .....	42
Tabelle 8: Übersicht über anamnestische Daten der Katzen.....	51
Tabelle 9: Übersicht über relative Häufigkeiten der epidemiologisch erfassten Daten der Katzen.....	52
Tabelle 10: Übersicht über anamnestisch erfasste Daten der Hunde in beiden Hundegruppen .....	53
Tabelle 11: Übersicht über relative Häufigkeiten der epidemiologisch erfassten Daten der Hunde .....	54
Tabelle 12: Zusammenfassung der Häufigkeiten der epidemiologischen Daten, der klinischen Untersuchung und der Dermatophytenkulturen bei den Katzen .....	55
Tabelle 13: Zusammenfassung der Häufigkeiten der epidemiologischen Daten, der klinischen Untersuchung und der Dermatophytenkulturen bei den Hunden .....	56
Tabelle 14: Übersicht über mykologische Ergebnisse der Katzensgruppen in beiden Tierheimen .....	58
Tabelle 15: Übersicht über mykologische Ergebnisse der Hundegruppen in beiden Tierheimen .....	58
Tabelle 16: Übersicht der Häufigkeiten von positiven Dermatophyten-Nachweisen in den epidemiologischen Gruppen der Katzen .....	59
Tabelle 17: Übersicht über nachweisbare Pilze in der Umgebung im Tierheim A.....	61

## Anhang

Tabelle 18: Übersicht über nachweisbare Pilze in der Umgebung im Tierheim B.....	62
Tabelle 19: Übersicht über positive Pilzproben in der Umgebung im Tierheim A .....	62
Tabelle 20: Übersicht über positive Pilzproben in der Umgebung im Tierheim B.....	63
Tabelle 21: Übersicht über Ergebnisse der ITS-PCR Analyse ausgewählter Isolate.....	70
Tabelle 22: Übersicht der Serumwerte der Katzen in beiden Tierheimen (n.e. nicht ermittelt).....	72
Tabelle 23: Übersicht über statistische Kennzahlen der Serumwerte der Katzen in beiden Tierheimen .....	75
Tabelle 24: Anzahl der Katzen in den einzelnen Gruppen zum Vergleich der serologischen Parameter.....	77
Tabelle 25: Korrelation Alter und Immunglobulin G Konzentrationen (* $p < 0,05$ ; ** $p < 0,001$ ) .....	78
Tabelle 26: Levene-Test auf Varianzhomogenität der Haptoglobin Werte (n.e. nicht ermittelt) .....	79
Tabelle 27: Statistische Kennzahlen Haptoglobin in den Katzensgruppen (n.d. nicht durchgeführt).....	80
Tabelle 28: Übersicht über Serumwerte der Hunde in beiden Tierheimen (n.e. nicht ermittelt).....	82
Tabelle 29: Übersicht über statistische Kennzahlen der Serumwerte der Hunde in beiden Tierheimen .....	86
Tabelle 30: Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov für die Serumparameter der Hunde .....	87
Tabelle 31: U-Test nach Mann-Whitney für die nicht-normalverteilten Serumparameter der Hunde in beiden Tierheimen .....	88
Tabelle 32: Anzahl der Hunde in den einzelnen Gruppen der Hunde zum Vergleich der serologischen Parameter.....	89
Tabelle 33: Verdünnungen und Konzentrationen für die Untersuchung der Plasmen von Katzen.....	133
Tabelle 34: Verdünnungen und Konzentrationen für die Untersuchung der Plasmen von Hunden .....	134

## 9.4 Materialien und Methoden

### 9.4.1 Nachweis der humoralen Abwehr-ELISA für die Bestimmung der Anti-Dermatophyten-Antikörper im Blutplasma

Tabelle 33: Verdünnungen und Konzentrationen für die Untersuchung der Plasmen von Katzen

Antigen (KÜ-Ag)	Probenverdünnung	Konjugat mit Meerrettich-peroxidase (POD)
<i>M. canis</i> (1 µg/ml)	1/100	1/5.000 Ziege (IgG)-anti-IgG-Fc (Katze)*
<i>T. mentagrophytes</i> (3 µg/ml)	1/100	1/5.000 Ziege (IgG)-anti-IgG-Fc (Katze)*
<i>M. gypseum</i> (2µg/ml)	1/50	1/10.000 Ziege (IgG)-anti-IgG-Fc (Katze)*
* Dianova, Hamburg, Germany		

## Anhang

Tabelle 34: Verdünnungen und Konzentrationen für die Untersuchung der Plasmen von Hunden

Antigen (KÜ-Ag)	Probenverdünnung	Konjugat mit Meerrettichperoxidase (POD)
<i>M. canis</i> (1 µg/ml)	1/100	1/20.000 Kaninchen (IgG)-anti-IgG (Hund)*
	1/100	1/20.000 Ziege (IgG)-anti-IgM (Hund)**
	1/100	1/10.000 Ziege (IgG)-anti-IgA (Hund)**
	1/100	1/2.000 Ziege (IgG)-anti-IgE (Hund)**
<i>T. mentagrophytes</i> (2 µg/ml)	1/100	1/10.000 Kaninchen (IgG)-anti-IgG (Hund)*
	1/100	1/10.000 Ziege (IgG)-anti-IgM (Hund)**
	1/100	1/10.000 Ziege (IgG)-anti-IgA (Hund)**
	1/100	1/2.000 Ziege (IgG)-anti-IgE (Hund)**
<i>M. gypseum</i> (2 µg/ml)	1/50	1/10.000 Kaninchen (IgG)-anti-IgG (Hund)*
	1/50	1/10.000 Ziege (IgG)-anti-IgM (Hund)**
	1/50	1/5.000 Ziege (IgG)-anti-IgA (Hund)**
	1/50	1/1.000 Ziege (IgG)-anti-IgE (Hund)**
*Dianova, Hamburg, Germany		
**Bethyl, Laboratories, Montgomery, USA		



### **10 Danksagung**

Ich danke von ganzem Herzen meiner Frau Anne für ihre immerwährende seelische Unterstützung. Unseren Kindern, Maël, Valentin, Joe und Helene danke ich dafür, dass sie uns immer wieder in das Kind-Sein mitnehmen. Meinen Eltern, Christiane und Bernhard Köbing, danke ich für die ständigen Fragen nach dem Stand dieser Arbeit.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Prof. Dr. med. vet. Wieland Schrödl und seinen Mitarbeitern für die gute langjährige Zusammenarbeit und Unterstützung. Weiterhin danke ich Frau Dipl.-Ing. Sc. Rangno und ihren Mitarbeitern für die Durchführung der rDNA-Analyse meiner Proben.

Für die zeitliche Unterstützung im Jahr 2017 danke ich meinem Chef, Herrn Dipl. Ökonom Frank Schmetzke, Geschäftsführer der Stadtwerke Neustrelitz GmbH. Ohne diese „Freitage“ hätte ich vermutlich nie geschafft diese Arbeit zu Ende zu bringen.