

Ätiologische und kulturell- massenspektrometrische Untersuchungen einzelner Rinderbestände mit Verdacht auf Trichophytie



Marius Beumer, Oliver Hupfer, Theresa Bartosch¹, Silke Uhrlaß², Pietro Nenoff², Christoph Georg Baums¹, Wieland Schrödl¹
¹ Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Leipzig, Deutschland
² Labor für medizinische Mikrobiologie Mölbis, Mölbis, Deutschland

Vorwort

Die Rindertrichophytie (Rinderflechte) wird vorwiegend durch den zoophilen Dermatophyten *Trichophyton (T.) verrucosum* ausgelöst und ist eine weltweit verbreitete infektiöse Hauterkrankung in den Rinderbeständen. Dieser keratinophile Pilz dringt in die oberste Schicht der Haut und in die Haare ein. Der Hauptwirt ist das Rind, Menschen können sich ebenfalls infizieren (Zoonose). Bei den Rindern ruft die Erkrankung kreisrunde, schuppige Hautläsionen hervor, welche eine Beeinträchtigung der juvenilen Entwicklung, eine Reduktion der Milchproduktion und letztendlich auch erhebliche wirtschaftliche Verluste verursachen. Von enormer Bedeutung ist weiterhin, dass bei infizierten Menschen hochentzündliche und tiefe Hautläsionen entstehen können, die nur unter einer langandauernden topischen und systemischen Behandlung abheilen. Obwohl Dermatophyten die am häufigsten vorkommenden Erreger von oberflächlichen Mykosen bei Mensch und Tier darstellen, sind die Mechanismen der Pathogenität und der Immunitätsbildung noch größtenteils unerforscht.

Zielsetzung

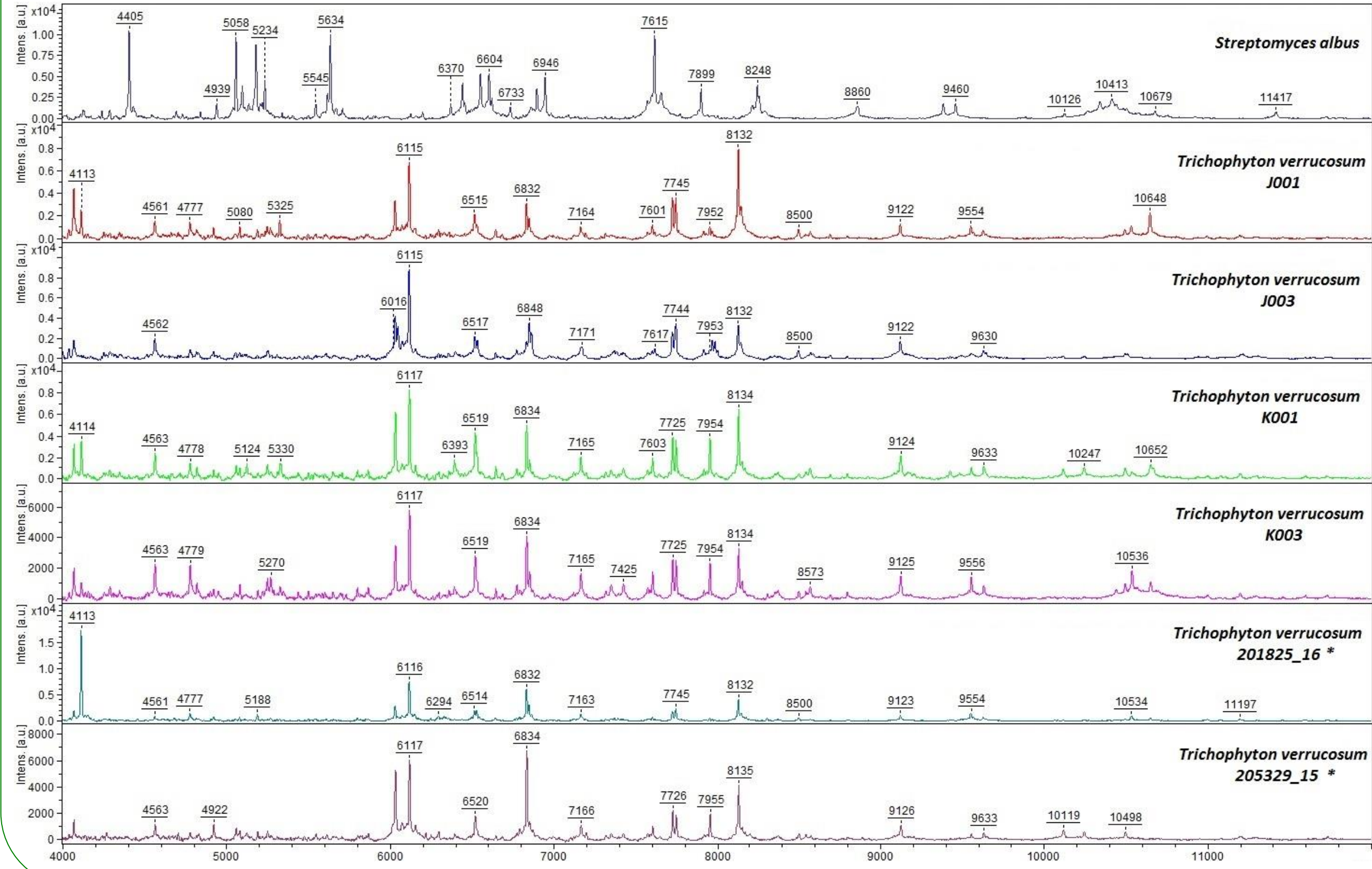
- Isolierung von *T. verrucosum* Feldstämmen aus Rinderbetrieben mit Verdacht auf Trichophytie
- Identifikation und Charakterisierung der isolierten Stämme mit **Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry** (MALDI-TOF MS)
- Untersuchung von Blutproben infizierter-ungeimpfter und infizierter-geimpfter Tiere auf Anti-*T. verrucosum*-Antikörper im Vergleich zu nicht infizierten-ungeimpften Tieren

Material und Methoden

In dieser Studie wurden Hautgeschabsel und Blutproben von insgesamt 10 klinisch erkrankten Rindern und Blutproben von acht klinisch unauffälligen Rindern entnommen. Zusätzlich wurden 10 Umweltproben pro Betrieb von unterschiedlichen Stallmaterialien wie Holz, Metall und Rinderbürsten untersucht. Die Proben wurden mikroskopisch beurteilt, auf Dermatophytennährboden kultiviert und verdächtige Kolonien anschließend mit der MALDI-TOF Massenspektrometrie identifiziert und charakterisiert. Die Blutproben wurden auf Anti-*T. verrucosum*-Antikörper mit einem indirekten ELISA untersucht.

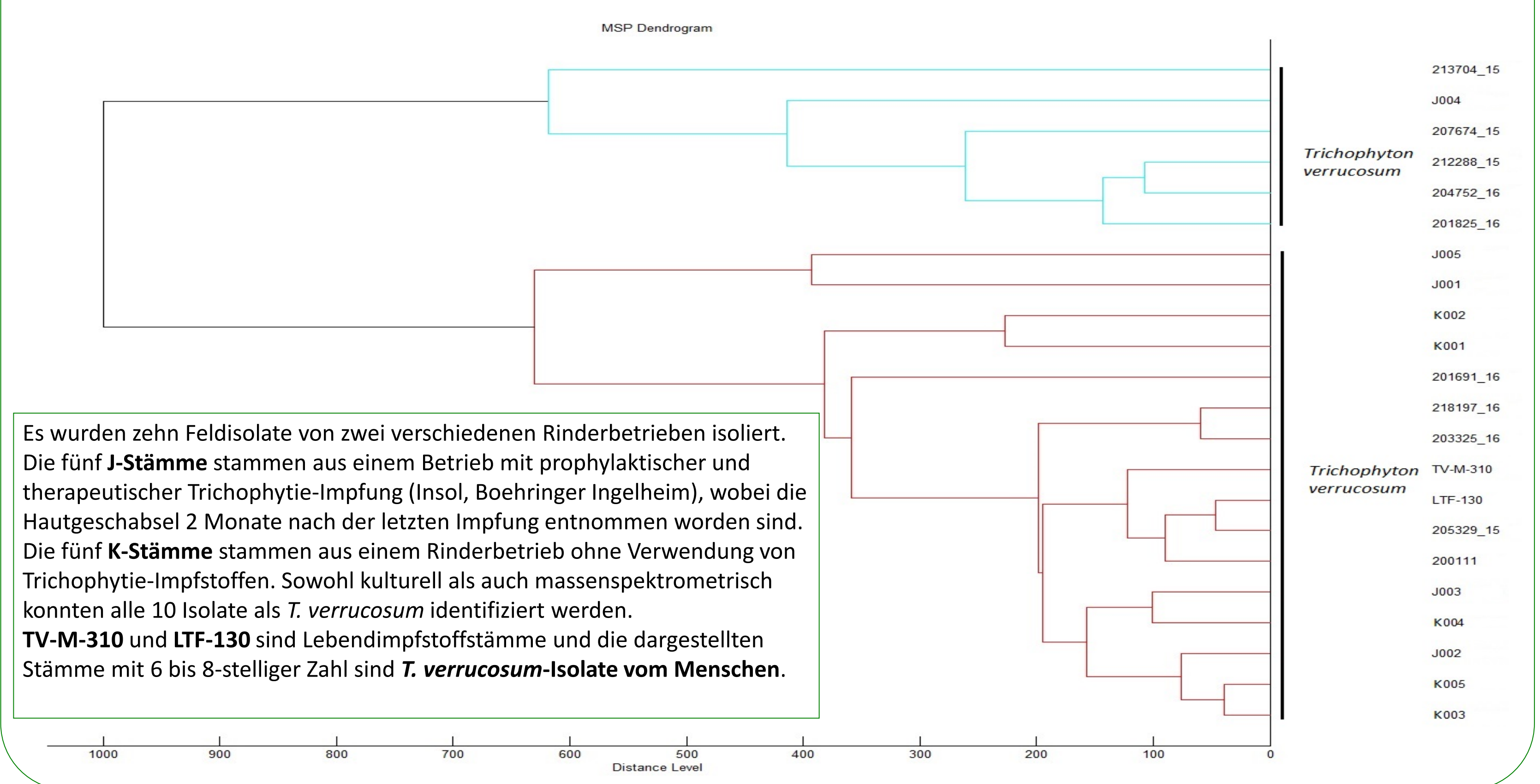


Ergebnisse (A)



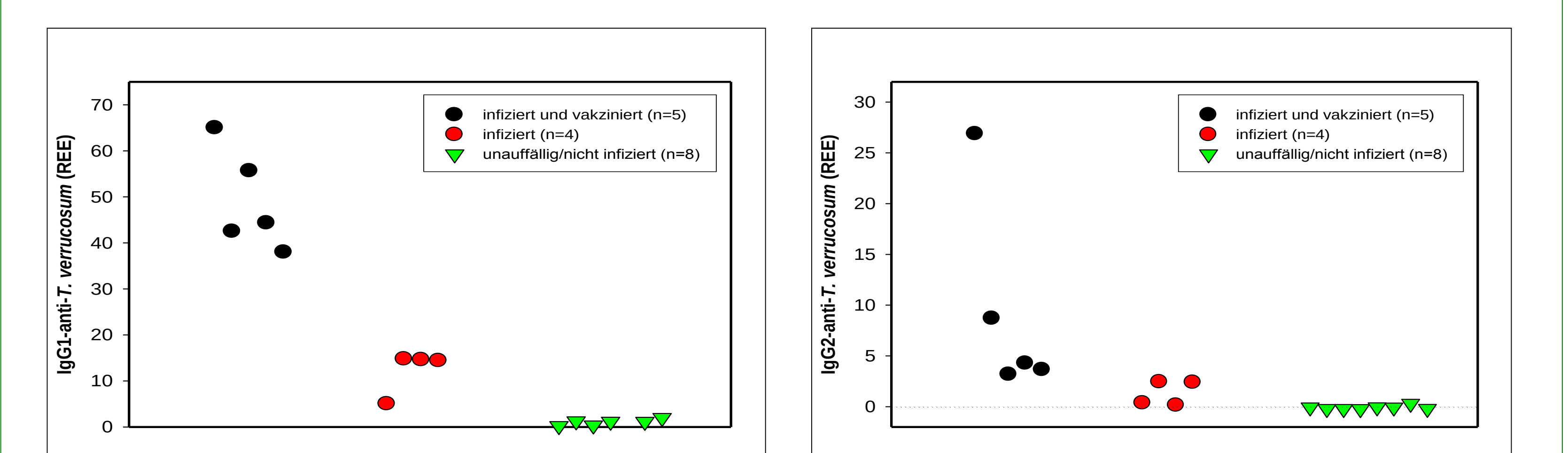
Massenspektrometrische Analyse der *T. verrucosum* Feldstämmen und von *Streptomyces albus*.
Die Spektren von *Streptomyces albus* unterschieden sich deutlich von den Spektren der *T. verrucosum* Isolate. Zwischen den Massen-spektren von Isolatengeimpfter und nicht geimpfter Tiere konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Auch im Vergleich der Feldstamm-Spektren mit bereits vorliegenden humanmedizinischen Spektren gab es keine wesentlichen Unterschiede.

Ergebnisse (B)



Es wurden zehn Feldisolate von zwei verschiedenen Rinderbetrieben isoliert. Die fünf **J-Stämme** stammen aus einem Betrieb mit prophylaktischer und therapeutischer Trichophytie-Impfung (Insol, Boehringer Ingelheim), wobei die Hautgeschabsel 2 Monate nach der letzten Impfung entnommen worden sind. Die fünf **K-Stämme** stammen aus einem Rinderbetrieb ohne Verwendung von Trichophytie-Impfstoffen. Sowohl kulturell als auch massenspektrometrisch konnten alle 10 Isolate als *T. verrucosum* identifiziert werden. **TV-M-310** und **LTF-130** sind Lebendimpfstoffstämme und die dargestellten Stämme mit 6 bis 8-stelliger Zahl sind *T. verrucosum*-Isolate vom Menschen.

Ergebnisse (C)



Die Untersuchung der Blutproben ergab, dass alle 10 infizierten Tiere deutlich erhöhte Antikörperspiegel, insbesondere von IgG1 gegen *T. verrucosum*-Extraktantigen im Vergleich zu den klinisch unauffälligen, nicht infizierten Tieren hatten (U-Test, $p < 0,05$). Die IgG1-Ak-Spiegel gegen *T. verrucosum* waren bei den infiziert-geimpften Tieren sogar deutlich höher als bei den infizierten-ungeimpften Tieren (U-Test, $p < 0,05$).

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Kulturell und massenspektrometrisch konnten 10 Dermatophyten-Feldstämmen aus zwei Rinderbetrieben als *T. verrucosum* identifiziert werden. Die Umweltproben waren bezüglich des Dermatophytennachweises ausnahmslos negativ. Der Vergleich der Massenspektren ergab keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Feldisolaten infiziert-geimpfter und infiziert-ungeimpfter Rinder, was für keine massenspektrometrisch erfassbare Erregerveränderung infolge der Impfungsmaßnahmen spricht. Die Untersuchung der Blutproben ergab, dass bei den 10 infizierten Tieren eine Anti-*T. verrucosum*-Immunreaktion stattgefunden hat (erhöhte IgG-Spiegel), während bei den nicht infizierten-ungeimpften Tieren kein Hinweis auf eine erhöhte adaptive humorale Immunreaktion gegenüber *T. verrucosum* vorhanden war. Die am deutlichsten erhöhten Anti-*T. verrucosum*-IgG1-Spiegel bei den infiziert-geimpften Tieren sprechen für eine Impfstoff-assoziierte Wirkung.