

Einfluss von Mikrowellenstrahlung auf die Vitalität verschiedener Dermatophyten

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Debby Budihardja
aus Pontianak, Indonesien

Gießen 2013

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. med. U. Gieler
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

1. Gutachter: Prof. Dr. Mayser
2. Gutachter: Prof. Dr. Eikmann

Datum der Disputation:

12.07.2013

Abkürzungsverzeichnis

BRD	Bundes Republik Deutschland
cm	Zentimeter
°C	Grad Celcius
CFU	Colony forming unit
DNA	Desoxyribonukleinsäure (-acid)
EtOH	Ethanol
Fa.	Firma
g	Gramm
G	Giga
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
H ₂ O	Dihydrogen Monoxide
Hz	Hertz
k	Kilo
l	liter
μ	mikro
m	milli
min	Minute
mm	millimeter
M	Mol
PCR	Polymerase Chain Reaktion
RNA	Ribonukleinsäure (-acid)
rpm	Revolutions per Minute
sek	Sekunde
seq	Sequenz
UV	Ultraviolet
V	Volt
W	Watt

Folgende Teile dieser Dissertation wurden bereits veröffentlicht:

Abstracts (Poster):

1. D. Budihardja, U. Förste und P. Mayser.: Microwave radiation as a disinfectant for shoe soles contaminated by *Trichophyton rubrum*? Mycoses 51: 405, 2008 (Poster)
2. D. Budihardja, U. Förste, P. Mayser. Microwave irradiation for disinfecting shoe insoles? Posterpräsentation auf der 17th ISHAM (The International Society of Human and Animal Mycology) Congress in Tokio, Japan, Mai 2009.

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Epidemiologie.....	1
1.2.	Krankheitsbild der Tinea pedum	3
1.2.1.	Ätiopathogenese	3
1.2.2.	Klinisches Bild	5
1.2.3.	Therapie der Tinea pedum.....	6
1.3.	Tinea pedum und Sportler	7
1.4.	Bisher zur Verfügung stehende Desinfektionsverfahren für Schuheinlagen.....	8
1.5.	Mikrowellenherd (http://de.wikipedia.org/wiki/Mikrowellenherd)	10
1.5.1.	Mikrowellen	10
1.5.2.	Geschichte des Mikrowellen Herdes	10
1.5.3.	Aufbau des Mikrowellenherdes.....	10
1.5.4.	Wirkungsweise des Mikrowellenherdes.....	11
1.6.	Fragestellung	11
2.	Material und Methoden.....	13
2.1.	Referenz Stamm	13
2.2.	Identifikation der Erreger	13
2.2.1.	Kulturelle Anzucht der Erreger	13
2.2.2.	„Klebestreifen-Abriss-Methode“.....	14
2.2.3.	Molekulargenetische Identifizierung.....	14
2.2.3.1.	DNA-Isolation aus Dermatophyten	14
2.2.3.2.	PCR-Verfahren	15
2.2.3.3.	Sequenzierung.....	16
2.2.3.4.	Sequenzanalyse	17
2.2.3.4.1.	Softwarebearbeitung der Sequenzdateien	17
2.2.3.4.2.	BLAST-Search	17
2.3.	Wachstumsgeschwindigkeiten verschieden alter <i>Trichophyton rubrum</i> Stämme.....	17
2.4.	Anzucht der Dermatophyten im Flüssigmedium.....	17
2.4.1.	Zellzahlbestimmung	19
2.5.	Mikrowelle.....	20
2.5.1.	Versuche mit Agarkulturen	20
2.5.2.	Versuche mit Flüssigkultur	21
2.5.3.	Versuche mit Schuheinlagen.....	21
2.5.3.1.	<i>Trichophyton rubrum</i>	22
2.5.3.2.	<i>Trichophyton rubrum olexa</i>	22
2.5.3.3.	<i>Microsporum canis</i>	22
2.5.3.4.	<i>Trichophyton interdigitale</i>	22

2.6.	Bearbeitung der Daten	23
2.7.	Statistische Auswertung	23
3.	Ergebnisse	25
3.1.	Makroskopie der Primärkultur.....	25
3.1.1.	<i>Trichophyton rubrum</i>	25
3.1.2.	<i>Trichophyton rubrum olexa</i>	25
3.1.3.	<i>Microsporum canis</i>	26
3.1.4.	<i>Trichophyton interdigitale</i>	26
3.2.	„Klebestreifen-Abriss-Methode“	26
3.3.	Sequenzierung	28
3.3.1.	<i>Trichophyton rubrum olexa</i>	28
3.3.2.	<i>Microsporum canis</i>	28
3.3.3.	<i>Trichophyton interdigitale</i>	28
3.4.	Wachstumsgeschwindigkeit verschieden alter <i>Trichophyton rubrum</i> Stämme.....	28
3.5.	Zellzahlbestimmung	28
3.6.	Versuch mit Agarkulturen vom <i>Trichophyton rubrum</i> Stamm (CBS 301.60)	29
3.7.	Versuch mit Flüssigkultur vom <i>Trichophyton rubrum</i> Stamm	33
3.8.	Versuche mit Schuheinlagen	35
3.8.1.	<i>Trichophyton rubrum</i>	35
3.8.1.1.	Weichbettschuheinlage	35
3.8.1.2.	Korkschuheinlage	36
3.8.2.	<i>Trichophyton rubrum olexa</i>	37
3.8.2.1.	Weichbettschuheinlage	37
3.8.2.2.	Korkschuheinlage	39
3.8.3.	<i>Microsporum canis</i>	41
3.8.3.1.	Weichbettschuheinlage	41
3.8.3.2.	Korkschuheinlage	44
3.8.4.	<i>Trichophyton interdigitale</i>	45
3.8.4.1.	Weichbettschuheinlage	45
3.8.4.2.	Korkschuheinlage	53
3.9.	Unterschiede zwischen den verschiedenen Dermatophyten bei verschiedener Dauer und Intensität der Bestrahlung.....	61
3.9.1.	Weichbettschuheinlage.....	61
3.9.2.	Korkschuheinlage.....	67
4.	Diskussion.....	71
5.	Zusammenfassung	84
6.	Summary.....	86

7.	Literaturverzeichnis	88
8.	Erklärung zur Dissertation	95
9.	Danksagung	96
10.	Anhang.....	97

1. EINLEITUNG

1.1. Epidemiologie

Eine Dermatomykose ist eine Erkrankung, die durch Besiedlung der Haut und ihrer Anhangsgebilde mit Pilzen verursacht wird. Sie gehört zu den häufigsten dermatologischen Krankheitsbildern und ist auch in Deutschland endemisch. Als Erreger finden sich überwiegend Dermatophyten (Dermatophytose). Auch die opportunistischen Infektionen von Haut, Schleimhäuten und Nägeln mit Candida-Hefen werden zu den Dermatomykosen gerechnet. Schimmelpilze infizieren meist sekundär bereits krankhaft veränderte Haut oder Nägel.

Keratinophile Pilze, die von Mensch und Tier stammende keratinhaltige Strukturen (Haare, Nägel, Schuppen) verwerten können, bezeichnet man als Dermatophyten. Alle durch Spezies der Gattungen Epidermophyton, Microsporum und Trichophyton hervorgerufenen Infektionen der Haut und/oder ihrer Anhangsgebilde werden als Dermatophytose zusammengefasst. Entsprechend ihrem Vorkommen werden Dermatophyten in 3 Gruppen unterteilt (Mayser 2012):

1. Anthropophile. Diese Dermatophyten sind an den Menschen angepasst und verursachen zumeist nur gering entzündliche, manchmal chronische, Infektionen. Eine Übertragung kann zum einen von Mensch zu Mensch erfolgen oder zum anderen durch Pilzmaterial (Sporen, Myzel), welches in der Umgebung bis zu 18 Monate lebensfähig bleibt. Dabei hat der Überträger nicht immer selbst klinische Symptome. Der häufigste Erreger ist *Trichophyton rubrum*. Weitere weltweit verbreitete anthropophile Dermatophyten sind *Trichophyton interdigitale* (anthropophil), *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum audouinii* und *Epidermophyton floccosum*.
2. Zoophile. Diese Dermatophyten kommen vor allem bei warmblütigen Tieren vor. Sie können aber bei Übertragung auf den Menschen (durch Kontaktinfektion) zu meist stark entzündlich verlaufenden Infektionen führen. Die Tiere selbst sind oft nur asymptomatische Überträger. Nach einer Übertragung auf den Menschen ist eine weiterführende Übertragung von Mensch zu Mensch möglich, wobei sich die Infektiosität mit der Zahl der Passagen verringert und meist nach 3-4 Passagen erlischt.

Wichtige Erreger sind (mit Hauptwirt):

Trichophyton interdigitale (zoophil) (Nager)

Trichophyton mentagrophytes (Nager)

Trichophyton verrucosum (Rinder)

Trichophyton erinacei (Igel)

Trichophyton equinum (Pferde)

Microsporum canis (Katzen, Hunde)

3. Geophile. Diese Arten leben im Erdboden als Saprophyten und verursachen nur selten Dermatomykosen beim Menschen, welche dann aber meistens zu einer starken Entzündung führen, da der Erreger nicht adaptiert ist. Bedeutsamste Erreger sind *Microsporum gypseum* und *Trichophyton terrestre*.

Bei einem Dermatophyten als Agens werden die Dermatomykosen heute meistens, in Verbindung mit einer Körperregion, als Tinea bezeichnet: So spricht man bei Dermatomykosen der Kopfhaut von einer Tinea capitis und des Körpers von einer Tinea corporis. Mykosen im Bereich des Bartes werden als Tinea barbae bezeichnet. Mykosen an den Nägeln werden Tinea unguium genannt, an den Füßen Tinea pedum und an den Händen Tinea manuum (Nenoff et al. 2001). Die am häufigsten vorkommenden Dermatomykosen sind Tinea pedum und Tinea unguium pedum.

Es konnte in einer Querschnittsanalyse zur Häufigkeit von Dermatophyteninfektionen in den USA, basierend auf dem *National Ambulatory Medical Care Survey* (NAMCS) und den *National Hospital Ambulatory Medical Care Survey* (NHAMCS) aus den Jahren 1995-2004, ein geschätzter Durchschnitt von 4.124.038 +/- 202.977 jährlichen Arztbesuchen aufgrund von Dermatomykosen nachgewiesen werden. Dies waren somit 0,4% aller ambulanten Arztbesuche, das heißt ca. 1.796 Patienten von 100.000 Arztkonsultationen pro Jahr. Dabei entfielen auf Tinea unguium 23,2 %, auf Tinea corporis 20,4 %, auf Tinea pedis 18,8 %, auf Tinea capitis 15,0 %, bzw. auf Tinea cruris 8,4 % der Konsultationen (Panackal et al. 2009). In Deutschland wird die Häufigkeit von Tinea pedum bei Erwachsenen mit etwa 20% angegeben (Korting 2005). In Mitteleuropa leidet fast jeder 3. Erwachsene an einer Tinea pedum (Brasch 2004). Weltweit wird die Vorkommenshäufigkeit von Tinea pedum nach WHO- Angaben aus dem Jahr 1992 auf 11,5-18% geschätzt (Boboschko et al. 2005).

1.2. Krankheitsbild der Tinea pedum

1.2.1. Ätiopathogenese

Die drei anthropophilen Species *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* und *Epidermophyton floccosum* sind die häufigsten Erreger der Tinea pedum (Korting 2005). In der Arbeit von Misner aus dem Jahr 2007 wird beschrieben, dass neben den oben genannten Dermatophyten auch *Microsporum canis* für eine Tinea pedum verantwortlich sein kann.

Mayser und Gründer im Jahr 1993 haben beschrieben, dass von 1987 bis 1992 im mykologischen Labor der Universitätshautklinik Giessen 14259 Präparate untersucht wurden. Darunter waren 1952 Präparate zur Abklärung des klinischen Verdachts auf Onychomykose. Davon konnten 772 Pilze isoliert werden. 51,7 % davon konnten als *Trichophyton rubrum* identifiziert werden, 2,6 % waren *Trichophyton mentagrophytes*, danach kam *Trichophyton tonsurans* mit 0,3 % und dann *Trichophyton verrucosum* mit 0,1 %. Der Rest sind Hefe- und Schimmelpilze gewesen. Vom Januar 2009 bis Juli 2012 konnten im mykologischen Labor der Universitätshautklinik Giessen 477 *Trichophyton rubrum*, 63 *Trichophyton interdigitale*, 19 *Microsporum canis* und 7 *Epidermophyton floccosum* aus 5085 untersuchten Proben isoliert werden.

Die Übertragung von Dermatomykose erfolgt von einem Patient auf eine gesunde Person (Tanaka et al. 2006), ggf. auch indirekt über Dermatophyten in der Umgebung, z.B. zu Hause, in Schwimmbädern, Turnhallen usw.. Ansteckungsmöglichkeiten sind demnach überall dort gegeben, wo dermatophytenhaltige Hautschuppen mit den Füßen in Kontakt gelangen können (Watanabe et al. 2000). Dermatophyten besitzen die Fähigkeit ins Stratum corneum einzudringen, Keratin abzubauen und dort zu überleben. Zunächst erfolgte die Adhärenz von infektiösfähigen Pilzelementen (Arthrokonidien) an das Zielgewebe (Keratinocyten). *In vitro* konnte beobachtet werden, dass dieser Vorgang nach Kontakt etwa 2 Stunden dauert (Hay und Ashbee 2010). Danach kommt es zum Durchwachsen der keratinhaltigen Strukturen unter Ausbildung von Myzel. Ein Vordringen in die Kutis oder obere Subkutis kann insbesondere über eine Invasion der Haarfollikel erfolgen. Es kommt hierdurch einerseits zur Zerstörung der epidermalen Barriere und andererseits zu einer Proliferationssteigerung der Epidermis als Abwehrmechanismus sowie zur Expression von Defensinen. Weitere Faktoren der unspezifischen Immunabwehr sind eine Aktivierung von neutrophilen Granulozyten,

Makrophagen, Antikörpern und T-Zellen, wobei letztere für die Abheilung verantwortlich sind (Mayser 2011).

Einer der wichtigsten Verteidigungsmechanismen besteht in der Produktion von Lipiden durch Talgdrüsen. In vitro zeigte sich eine Hemmung des Wachstums von Dermatophyten durch dieses Sebum. Diese Hemmung könnte die spontane Abheilung von Tinea capitis bei postpubertalen Kindern und die Rarität des Tinea capitis bei Erwachsenen erklären (Hay und Ashbee 2010). Auf Grund des Fehlens von Talgdrüsen und deren fungistatisch wirksamen Lipiden (*inhibitory fungistatics lipids*) stellt die Haut der Füße eine günstige Lebensumgebung für Dermatophyten dar (Masri-Fridling 1996). Desweiteren spielt das feuchtwarme Mikroklima im Schuh eine wichtige Rolle. In geschlossenen Schuhen entsteht eine Okklusion, welche eine erhöhte CO₂-Saturation auf der Hautoberfläche erzeugt. Es wurde postuliert dass durch die erhöhte CO₂-Saturation die Zahl der infizierten Hyphen und Konidien gesteigert wird (Allen und King 1978). So erklärt sich, warum die Tinea pedum bei barfuß laufenden Völkern praktisch nicht beobachtet wird (Seebacher et al. 2009).

Hyperhidrose und Akrozyanose gelten auch als begünstigende Faktoren. In der Arbeit von Boboschko et al. aus dem Jahr 2005 konnte eine gravimetrisch gesicherte Hyperhidrose als unabhängiger Risikofaktor einer Tinea pedum identifiziert werden (Theorie der feuchten Kammer). Dermatophyten, die zur normalen menschlichen Flora gehören, brauchen günstige Umgebungsbedingungen wie z.B. erhöhte Feuchtigkeit, um Tinea pedum hervorzurufen. Neben dem durch Feuchtigkeit idealen Mikroklima wird vermutet, dass auch die Körperabwehr durch die Hyperhidrose vermindert wird. Masri-Fridling postulieren 1996, dass die vermehrte Schweißproduktion zum Abtransport der als Fungistatika bekannten Lipide der Haut führt. Es finden sich auch einige klinische Berichte, die zeigen, dass die Behandlung der Hyperhidrose zu einer Abheilung der Tinea pedum führt (Zuikhin und Manzurov 1975, Rukavishnikowa et al. 1991).

Zusätzlich wurde berichtet, dass die Mehrzahl der Patienten mit arteriellen und gehäuft solche mit venösen Durchblutungsstörungen an Tinea pedum leiden (Korting 2005).

1.2.2. Klinisches Bild

Klinisch wird die Tinea pedum in drei Erscheinungsformen unterteilt (Korting 2005, Mayser 2011):

1. Interdigitale Form
2. Squamos-hyperkeratotisch Form („Mokassin-Mykose“) und
3. Vesikulös- dyshidrotisch Form

Die interdigitale Form beginnt meist mit Mazerationen der Epidermis im Interdigitalraum zwischen der dritten und vierten Zehe (engster Zehenzwischenraum) und geht mitunter auf die angrenzenden Zehen, Fußkanten und –ballen über (Abbildung 1). Die Erscheinungen variieren von geringer Rötung und Schuppung bis zu weißen, verquollenen, dicken Epidermisanlagen und tiefen, schmerzhaften Rhagaden. An den Seitenflächen der Zehen befinden sich oft kleine Bläschen. Diese Form der Fußmykose kann unbehandelt jahrelang, oft unerkannt, fortbestehen oder sich auf den übrigen Fuß ausdehnen (Seebacher et al. 2009). Bei Hyperhidrose, wie sie zum Beispiel beim Tragen von Gummistiefeln oder Sportschuhen entstehen kann, kann es zu akutem Aufflammen der Erscheinungen mit starkem Juckreiz kommen (Korting 2005).



Abbildung 1: Tinea pedum interdigitale Form

Die squamös-hyperkeratotische Form ist an den Fußsohlen lokalisiert und greift langsam auf die Fußkanten und den Fußrücken über. Sie beginnt mit einer feinen, trockenen Schuppung auf leicht bis mäßig stark entzündeter Haut. Im weiteren Verlauf können sich dicke Hyperkeratosen und schmerzhaft Rhagaden entwickeln, vor allem an den besonders belasteten Fersen. Eine hohe Prävalenz von Fußmykosen konnte bei

Diabetikern nachgewiesen werden, insbesondere die Mokassin-Tinea, die häufig unerkannt bleibt und oft als trockene Haut interpretiert wird (Mayser et al. 2004).

Die vesikulös-dyshidrotische Form beginnt mit Bläscheneruptionen im Bereich des Fußgewölbes und der Fußkanten (Abbildung 2). Es kommt zu einer stark entzündlichen Reaktion mit Befall des Fußgewölbes und der Fußkanten. Die Infektion ist begleitet von einer starken entzündlichen Streureaktion mit Bildung von wasserklaren Bläschen, heftigem Juckreiz und Spannungsgefühl. Oft bildet sich ein sogenanntes Mykid als Ausdruck eines überschießenden infektallergischen Geschehens, zum Beispiel als Dyshidrose der Hände.



Abbildung 2: Tinea pedum vesikulös- dyshidrotische Form

1.2.3. Therapie der Tinea pedum

Die Tinea pedum zeigt keine Selbstheilungstendenz. Der Verlauf der Dermatomykosen ist unbehandelt eminent chronisch.

Es gibt zwei Therapiemöglichkeiten (Gupta und Cooper 2008, Seebacher 2009):

1. Die Lokaltherapie

Die primäre Therapie für Tinea pedum ist eine Lokaltherapie, die zweimal täglich appliziert werden sollte. Eine Vielzahl von Antimykotika stehen hierfür, basierend auf verschiedenen Wirkstoffgruppen, zur Verfügung, z.B. Azole: (Clotrimazol, Miconazol, Econazol, Bofpnazol, Sertaconazol, Tioconazol); Hydroxypyridone: (Ciclopiroxilamin); Allylamine: (Naftifin, Terbinafin); und Morpholine: (Amorolfen, Butenafin). Diese Therapie zeigt deutlich weniger Nebenwirkungen als

eine systemische Therapie. Allgemein bekannte, unerwünschte Wirkungen sind lediglich eine milde und reversible Hautreaktion an den applizierten Stellen.

Einige Studien konnten zeigen, dass Allyamine eine höhere Heilungsrate als Azole aufweisen (Crawford F 2003).

2. Die systemische Therapie

Es gibt 5 zugelassene systemisch wirksame Antimykotika: Terbinafin, Itraconazol, Fluconazol, Griseofulvin und Ketoconazol. Systemische Antimykotika sind bei der palmoplantaren Dermatomykose nur in sehr ausgedehnten oder refraktären Fällen indiziert.

Einige Studien zeigten, dass die orale Gabe von Terbinafin und Itraconazol die effektivste Therapie bei Tinea pedum darstellt (Padheye und Weitzman 1998). Hierbei sollten täglich 250 mg Terbinafin über 4-6 Wochen zur Therapie einer Tinea pedum eingenommen werden (Gupta et al. 2003). Die empfohlene Dosis von Itraconazol liegt bei 100 mg täglich über 30 Tage oder 400 mg täglich über eine Woche und im Anschluss 200 mg täglich über 2-4 Wochen (Gupta und Cooper 2008).

Allerdings bestehen hier einige unerwünschte Nebenwirkungen, zum Beispiel erhöhte Leberparameter und Auftreten eines subakut kutanen Lupus erythematodes (Budihardja et al. 2011).

1.3. Tinea pedum und Sportler

Mit der Zunahme der Anzahl an Sportlern weltweit haben auch die speziellen Gesundheitsprobleme dieser Population zugenommen. Während Athleten durch den Sport den Vorteil von zum Beispiel geringerem Herzinfarktrisiko oder Schlaganfällen haben, ist bei Ihnen das Risiko für andere Krankheitsbilder wie zum Beispiel Überanstrengungsfrakturen, Blasen und auch Tinea pedum erhöht (Field und Adam 2008).

Einwohner in den Vereinigten Staaten haben ein Risiko von 10 bis 20 % im Verlauf ihres Lebens, an einer Dermatophyteninfektion zu erkranken (Drake et al. 1996). Gerade Athleten haben auf Grund ihres erhöhten Kontakts zu Schwimmbädern, Sportschuhen und Sportausrüstung ein größeres Risiko, eine Tinea pedum zu bekommen (Brenner et al. 1994).

In vielen Studien konnte die höhere Prävalenz von *Tinea pedum* unter Sportlern im Vergleich zur Normalbevölkerung nachgewiesen werden. Eine der größten epidemiologischen Studien über *Tinea pedum* bei Athleten, das so genannte Achilles´Project, umfasste über 100.000 Europäer und wies ein 1,6 bis 2,3 fach höheres Vorkommen von *Tinea pedum* bei sportlich aktiven Individuen nach (Caputo et al. 2001).

Die Übertragung der durch Dermatophyten verursachten Pilzkrankungen erfolgt fast ausschließlich auf indirektem Wege: Die aus den Pilzherden stammenden infektiösen Hautschuppen, Haare und Nagelteile gelangen zunächst in die Umgebung des Kranken, in Strümpfe und Schuhe, in die Wäsche und auf den Fußboden; von dort kann unmittelbar der Nächste infiziert werden, wenn das infektiöse Material berührt wird und haften bleibt (Abou-Gabal und Rieth 1969). Die Sporen der pathogenen Pilze sind bis zu 18 Monaten in Schuhen, Saunen, Schwimmbädern oder Teppichen lebensfähig (Karamfilov und Elsner 2002 und Mayser 2011).

Im Jahre 2002 zeigte Ries, dass Sportschuhe ein ideales Erregerreservoir für humanpathogene Pilze darstellen. Eine lange Nutzungsdauer begünstigt auch die Hinterlegung und langfristige Erhaltung mykotisch infizierter Hautschuppen in den sog. „Pilzcontainern“. Jede erneute Nutzung des Schuhs bringt die Gefahr der Reinfektion, beziehungsweise führt zur Manifestation des vorhandenen Krankheitsbildes. Aufgrund dieser Tatsache ist ein suffizientes Desinfektionsverfahren für diese „Pilzkontainer“ unerlässlich, um eine (Re)- Infektion zu verhindern.

1.4. Bisher zur Verfügung stehende Desinfektionsverfahren für Schuheinlagen

Zunächst wurde 1952 von Fischer beschrieben, dass die Desinfektion mit Mykotin[®] (Zink auf Undecylensäurebasis, Frankfurter Arzneimittelfabrik GmbH)- und Myxal[®] (Zink auf Invertseifenbasis, Dr. K. Thomae GmbH) Puder unzureichend ist. Die Desinfektion mit 4 verschiedenen Lösungen, 1) 0,2%ige wässrige Merfenlösung (Phenylquecksilberborat), 2) Merfentinktur (Phenylquecksilberborat), 3) 1%ige wässrige Tegolösung (Höher molekulare Aminosäuren) und 4) Mykotin[®] Lösung), gilt nur dann als ausreichend, wenn die Schuhe mit der Lösung völlig durchtränkt wurden. Die besten Erfolge waren mit Formaldehydgas zu erzielen (Methode von McCormick). Die Desinfektion des infizierten Schuhs erfolgte dabei durch Einlegen eines mit 10 cm³ Formalin (40%ig) getränkten 9x6x6 cm großen festen Wattebauschs. Nach jeweils

24, 48 und 72 Stunden wurde der Wattebausch erneuert. Die Schuhe wurden in wasserdichte Guttapercha- bzw. Pergamentpapierbogen eingehüllt. Die Einwirkungsdauer betrug insgesamt 96 Stunden. Die Schuhe wurden danach 3 Tage lang gelüftet.

Im Jahre 1958 haben Schäfer und Haas eine Desinfektion der Schuhe mit Manusept-Paste (halogeniertes Phenolpräparat) empfohlen, die auch prophylaktisch bei gefährdeten Personen zur Anwendung kommen sollte, z.B. bei Sportlern, Soldaten und Diabetikern. Ebenso können die Schuhe ihrer Meinung nach auch durch Formalinverdunstung bei 50°C in geschlossenen Behältern desinfiziert werden.

Abou-Gabal und Rieth beschrieben 1969 die Hemmwirkung des Includal® Sprays [0,4 % Benzyl-bis(2'-hydroxyethyl)-dodecylammoniumchlorid und 0,1 % Dodecyl-triphenylphosphoniumbromid in Isopropylalkohol] im Agardiffusionstest. Unter Verwendung des Lochtestverfahrens ergaben sich konzentrationsabhängig, Hemmhöfe in verschiedener Größe gegenüber *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* und *Epidermophyton floccosum*.

2006 suchte Tanaka et al. die beste Methode, um Dermatophyten aus Sandalen, Sneakers und Stiefeln zu beseitigen. Die Schuheinlage mit einem nassen Handtuch über 3 Minuten abzuwischen sowie mit kaltem und kochendem Wasser überzugießen wurden als effektiv angesehen. Insbesondere konnte keine Dermatophyten-Kolonie nach Übergießen mit kochendem Wasser isoliert werden.

Nolting und Ulbricht beschrieben, dass die Applikation von Ciclopirox Puder mittels eines feinen Zerstäubers in den Schuhen und danach die gleichmäßige Verteilung von Hand in den Schuhen an drei aufeinanderfolgenden Tagen sich als effektiver herausstellte, als das Einfrieren oder die Behandlung von Sportschuhen mit einem formaldehydgetränkten Lappen.

In vitro Untersuchungen wurden 2002 von Ulbricht et al. mit 30 Sportschuhen durchgeführt. Es konnte festgestellt werden, dass eine vollständige Wachstumsinhibierung nach Anwendung von Ciclopirox Puder an drei aufeinander folgenden Tagen erreicht wurde.

1.5. Mikrowellenherd (<http://de.wikipedia.org/wiki/Mikrowellenherd>)

1.5.1. Mikrowellen

Bei Mikrowellen handelt es sich um elektromagnetische Wellen. Nach dem International Radio Consultative Committee liegt ihre Wellenlänge zwischen 1 cm und 1 mm, dies entspricht einem Frequenzbereich von 0,3 GHz bis 300 GHz.

1.5.2. Geschichte des Mikrowellen Herdes

Percy Spencer entdeckte, dass Nahrungsmittel mittels Mikrowellenstrahlung erwärmt werden können. Dieser Zusammenhang fiel ihm auf, als er Magnetrons für Radaranlagen bei dem Unternehmen Raytheon baute. Aus diesen Erkenntnissen entwickelt er das Prinzip des Mikrowellenherdes, welches 1945 von dem Unternehmen Raytheon zum Patent angemeldet wurde. 1947 baute die Firma den ersten Prototypen des heutigen Mikrowellengerätes.

1.5.3. Aufbau des Mikrowellenherdes

Die Mikrowellen werden mit Hilfe eines Magnetrons erzeugt und mittels eines Hohlleiters in den metallischen Garraum geleitet. Der Garraum verhindert die Ausbreitung der Mikrowellen außerhalb des Gerätes.

Zur Versorgung des Magnetrons ist eine hohe Anodenspannung erforderlich (bis zu 5 kV), die im Gerät mit Hilfe eines Hochspannungstransformators und einer Spannungsverdopplerschaltung erzeugt wird. Die Hochspannung ist nicht konstant, sondern besteht aus kurzen Spannungsimpulsen der Frequenz 50 Hz (pulsierender Gleichstrom). Der Transformator versorgt auch die Glühkathode des Magnetrons mit Strom. Ein Ventilator kühlt das Magnetron und bläst dessen Verlustwärme durch den Garraum. Die Leistungssteuerung erfolgt meist durch Pulsweitenmodulation, das heißt, dass das Magnetron im Rhythmus von einigen Sekunden ein- und ausgeschaltet wird.

Das Strahlungsfeld der eingebauten Mikrowellenantenne füllt den Garraum des Herdes sehr ungleichmäßig aus. Um eine gleichmäßige Erwärmung der Speisen zu erreichen, müssen die Orte hoher Strahlungsleistung ständig variieren. Zu diesem Zweck kommt

oft ein sogenannter Rührer zum Einsatz. Dabei handelt es sich um ein rotierendes, kompliziert geformtes Aluminium-Flügelrad im Inneren des Garraumes (meist an der Decke unter einer geeigneten Abdeckung), welches wie ein elektromagnetischer „Quirl“ funktioniert, indem es die Schwingungsmoden des wie ein Hohlraumresonator wirkenden Garraumes ständig ändert. Zusätzlich werden die Speisen meist durch einen Drehteller gedreht.

Der Mikrowellengarraum selbst ist ansonsten ein vollständig geschlossenes Gefäß aus Metall (Faradayscher Käfig), mit welchem das Magnetron über einen kurzen Hohlleiter direkt verbunden ist. Strahlung kann daher nicht austreten, wenn der Mikrowellenherd in Ordnung ist.

1.5.4. Wirkungsweise des Mikrowellenherdes

Der Mikrowellenherd verwendet elektromagnetische Wellen in einem geschlossenen Metallraum, durch insbesondere das in den eingebrachten Lebensmitteln enthaltene Wasser wird eine Erwärmung der Lebensmittel erreicht.

Wasser, Fett und andere Substanzen in Nahrungsmitteln absorbieren die Energie der Mikrowellen in einem *dielectric heating* genannten Prozess, da viele Moleküle als elektrische Dipole agieren.

In einem elektrischen Wechselfeld müssen sich diese Moleküle immer wieder neu orientieren, das erzeugt Reibungswärme. Die Mikrowellen schwingen mit einer extrem hohen Frequenz, jede Sekunde ca. 2,45 Milliarden Mal. Wenn die Mikrowellen auf Wassermoleküle einwirken, beginnen diese mit derselben Frequenz zu vibrieren. Da die Moleküle eine unregelmäßige Form haben, stoßen sie bei der Vibration zusammen und es entsteht Reibung. Durch diese Reibung entsteht schließlich Hitze. Durch Wärmeleitung wird die Wärme auch auf benachbarte Bereiche übertragen, die sich durch Mikrowellen nicht direkt anregen lassen.

1.6. Fragestellung

Um die Reinfektionsgefahr bei der Tinea pedum zu vermindern, ist ein geeignetes Desinfektionsverfahren für die mit Dermatophyten kontaminierten Schuhe („Pilzcontainer“) ganz entscheidend. Die einfachen und wirkungsvollen Hitzedesinfektionsverfahren (z.B. Kochen, trockene Hitze im Backofen und

Autoklavieren) werden von einigen Schuheinlagen nicht vertragen und kommen deshalb als Desinfektionsverfahren hierfür nicht in Betracht. Von den chemischen Desinfizientien muss man verlangen, dass sie weder die Schuheinlage schädigen noch sich nachteilig auf die Haut auswirken. Einige der oben genannten Desinfektionsmittel (Formaldehyd, Quecksilber) sind negativ indiziert und nicht mehr zur Anwendung empfohlen. Ein effektives und nebenwirkungsarmes Desinfektionsverfahren ist daher wünschenswert, um der zunehmenden Ausbreitung der *Tinea pedum* entgegen zu wirken.

Für diese Untersuchungen wurden die Spezies *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* und *Microsporum canis* ausgewählt, da diese Dermatophyten als häufigste Erreger der *Tinea pedum* beschrieben werden bzw. sie gegenüber dem derzeit gegen Dermatophyten wirksamsten Antimykotikum Terbinafin nur eine eingeschränkte Ansprechrate zeigen (*Microsporum canis*). *Trichophyton rubrum olexa* wurde mit untersucht, um festzustellen, ob diese Methode bei einer anderen Subspezies vom *Trichophyton rubrum* die gleiche Wirksamkeit hat. Ein typisches Merkmal bei *Trichophyton rubrum olexa* ist eine bräunliche Verfärbung auf dem Nährboden, die durch eine Melaninbildung verursacht wird. Die Bedeutung von Melanin als Pathogenitätsfaktor ist weiterhin unklar, aber klinisch kommt es als mögliche Erklärung für die verfärbten Nagelveränderungen bei Onychomykose in Betracht (Fra'gner 1966). Auf der Haut wirkt Melanin als Schutz vor den schädlichen Folgen der UV-Strahlung. Ob Melanin auch eine Schutzwirkung vor Mikrowellenstrahlung bietet, soll in dieser Arbeit noch aufgeklärt werden.

Detailliert sollen im Rahmen dieser Arbeit folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

1. Wie sind die Effektivität und Wirksamkeit von Mikrowellenstrahlung als Desinfektionsmaßnahme für mit *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa*, *Trichophyton interdigitale* und *Microsporum canis* infizierten Schuheinlagen?
2. Gibt es Unterschiede zwischen den verschiedenen Dermatophytenspezies bei verschiedener Dauer und Intensität der Bestrahlung?
3. Hat Melanin eine Schutzwirkung vor Mikrowellenstrahlung?
4. Wie ist die Verträglichkeit der Mikrowellenstrahlung auf die zu untersuchenden Weichbett- und Korkschuheinlagen?
5. Wie ist die Praktikabilität dieses Desinfektionsverfahrens?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Referenz Stamm

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Referenzstamm CBS 301.60 (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, the Netherlands) der Species *Trichophyton rubrum* zur Durchführung verschiedener Versuche verwendet.

Die Species *Trichophyton rubrum olexa* (im Folgenden „Probe 1“ genannt), *Trichophyton interdigitale* (im Folgenden „Probe 2“ genannt) und *Microsporum canis* (im Folgenden „Probe 3“ genannt) wurden von Patienten der Hautklinik Gießen isoliert.

2.2. Identifikation der Erreger

2.2.1. Kulturelle Anzucht der Erreger

Aus dem oben genannten Probenmaterial (Hautschuppen der Patienten) wurden, wie von Mayser im Jahr 2011 beschrieben, Primärkulturen angelegt. Dies geschah folgendermaßen:

1. Türen und Fenster müssen geschlossen werden, um Zugluft und Luftwirbel zu vermeiden.
2. Der Arbeitsplatz muss vor Beginn der Kulturanlage mit 70%igem Alkohol gereinigt werden.
3. Der Impfhaken muss ausgeglüht werden. Hierzu wird der Haken mittels eines Bunsenbrenners rotglühend erhitzt.
4. Der Deckel des Nährbodens (Selektive Agar für pathogene Pilze, Merck, Darmstadt, BRD) wird angehoben, um den ausgeglühten Impfhaken zur Abkühlung auf die Agaroberfläche zu drücken. Gleichzeitig wird hierbei der Impfhaken mit Agar benetzt. Danach wird der Nährboden mit dem Deckel wieder verschlossen.
5. Der Deckel der Schale mit dem Probenmaterial wird schräg angehoben und das Impfgut mittels des so präparierten Impfhakens entnommen.
6. Danach wird der Deckel des Nährbodens erneut schräg angehoben und das Material punktförmig auf den Nährboden aufgetragen. Die Partikel sollten durch sanften Druck implantiert werden.

7. Nach dem so erfolgten Beimpfen wird der Nährboden mittels Deckel wieder verschlossen und mit Klebeband fest fixiert.
8. Der beimpfte Nährboden wird nach 3 Wochen Bebrütung bei Zimmertemperatur weiter verarbeitet.
9. Die Kulturen wurden in wöchentlichen Abständen auf frische Nährböden weiterverimpft.
10. Die Vermehrung des Stammes wurde wie folgt durchgeführt: Aus einer Kolonie wurden 4 mm Stanzbiopsien (Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach am Main, BRD) entnommen und jeweils im Paar auf einen neuen Nährboden verpflanzt.

2.2.2. „Klebestreifen-Abriss-Methode“

Um die von den Patienten gewonnenen, isolierten Dermatophyten zu identifizieren, wurde die „Klebestreifen-Abriss-Methode“ zu Hilfe genommen. Hierfür wurden Objektträger mit einem Tropfen Lactophenol-Blau benetzt und mit einem etwa 5 cm langen transparenten Klebestreifen vorsichtig auf die Oberfläche der oben genannten Kultur gedrückt. Dieser Klebestreifen wurde auf die vorbereiteten Objektträger aufgeklebt. Diese Objektträger wurden dann unter 400facher Vergrößerung mikroskopiert.

2.2.3. Molekulargenetische Identifizierung

Die weitere Identifikation der Dermatophytenspecies erfolgte mit PCR. Hierfür wurde eine DNA-Isolation mit der Lysis-Methode nach dem abgewandelten Protokoll nach Makimura durchgeführt (Makimura et al. 1999).

2.2.3.1. DNA-Isolation aus Dermatophyten

Es wurden mit einem sterilen Skalpell kleine Stückchen aus der 21 Tage alten Kultur herausgeschnitten und in ein 1,5 ml *Tube* (Eppendorf, Hamburg, BRD) mit 500µl Aquadest (B.Braun, Melsungen, BRD) suspendiert. Diese Suspension wurde kurz zentrifugiert (30 Sekunden bei 13.000 rpm) und anschließend so viel Überstand wie möglich abpipettiert. Danach wurden 500µl Lysis Solution zugegeben und das Pellet

mit sterilen Stäbchen so gut wie möglich zerdrückt. Anschließend wurde die Probe für 15 Minuten bei 99°C geschüttelt und danach sofort auf Eis gesetzt.

Nach Zugabe von 150µl 3M Kaliumacetatlösung wurde die Probe für 10 Minuten bei -20°C gekühlt. Anschließend wurden 500 µl Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol (25:24:1) zugefügt. Die Probe wurde daraufhin kurz gevortext und danach für 5 Minuten bei 12.000 rpm zentrifugiert.

Die obere Phase wurde ohne die Interphase zu berühren in ein neues *Tube* überführt und 500µl Chlorophorm dazu gegeben. Anschließend wurde wieder kurz gevortext und danach für 5 Minuten bei 12.000 rpm zentrifugiert.

Die obere Phase wurde in ein neues *Tube* überführt, 500 µl Isopropanol (kalt) zugefügt und vorsichtig gemischt. Diese Probe wurde für 30 Minuten bei -20°C gelagert und anschließend für 5 Minuten bei 12.000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde abgeschüttet.

Das Pellet wurde in 400µl TE aufgenommen und ein RNase-Verdau mit RNase A bei 37°C für 30 Minuten durchgeführt.

Anschließend wurde die DNA mit 1 ml EtOH reinst und 10µl Ammoniumacetat für 30 Minuten bei -20°C gefällt. Dieses Präparat wurde 5 Minuten mit 12.000 rpm zentrifugiert, der Überstand abgeschüttet und der Rest vorsichtig abpipetiert. Das Pellet wurde an der Luft getrocknet und dann in 50µl H₂O gelöst. Die DNA wurde dann bei -20°C gelagert.

2.2.3.2. PCR-Verfahren

Standard-PCR-Mix	ad 100µl	finale Konzentration
Template	5 µl	
10x PCR-Puffer (Invitrogen)	10µl	1x
MgCl ₂ (50mM) (Invitrogen)	3µl	1,5mM
dNTPs (10mM) (Promega)	2µl	0,2mM
Primer forward (10µM)	2µl	0,2µM
Primer reverse (10µM)	2µl	0,2µM
Taq-Polymerase (Invitrogen)	0,4µl	0,5U
Aqua dest	Ad 100µl	

Standard PCR Programm	Temperatur	Dauer	Zyklen zahl
Gesamte PCR	105°C Deckel des Gerätes		
Initiale Denaturierung	94°C	2 min.	1 x
Denaturierung	94°C	30 sek.	} 35 x
Primeranlagerung (Annealing)	Primerabhängig	30 sek.	
Sequenzverlängerung (Elongation)	72°C	1 min.	
Finale Elongation	72°C	10 min.	1 x
Kühlung	4°C	∞	1 x

2.2.3.3. Sequenzierung

Das Cycle-Sequencing-Verfahren erfolgte nach dem Kettenabbruchprinzip nach Sanger (Sanger et al. 1977). Es wurden fluoreszenzmarkierte Didesoxynukleotide als Terminatoren verwendet. Als Primer für die forward-Reaktion wurde der Primer 18SF1 und als Primer für die reverse-Reaktion der Primer 58SR1 eingesetzt. Die oligonucleotide primers (18SF1, 5'- AGGTTTCCGTAGGTGAACCT-3'; 58SR1, 5'- TTCGCTGCGTTCTTCATCGA-3') wurden bei Amersham Pharmacia Biotech Co. Ltd (Tokio, Japan) produziert.

Die Sequenzierungen der PCR-Produkte aus den degenerate und inverse PCR-Schritten wurde durch das SeqLab Labor (Göttingen) ebenfalls als Cycle-Sequencing-Verfahren durchgeführt. Der DNA-Gehalt der aufgereinigten PCR-Produkte wurde UV-photometrisch bestimmt. Die benötigte DNA-Menge wurde eingestellt und zusammen mit 20pmol des jeweiligen forward und reverse Primers gemischt.

Das Ergebnis der Sequenzierung wurde in Form eines Elektropherogramms als ABI-Trace-File mit der Extension *.ab1 elektronisch gespeichert.

2.2.3.4. Sequenzanalyse

2.2.3.4.1. Softwarebearbeitung der Sequenzdateien

Die ABI-Trace-Dateien der Sequenzierungsergebnisse wurden im SeqMan-Programm (Lasergene Version 5, DNASTar) auf ihre Qualität überprüft, die Primersequenz-Fragmente bereinigt und die Sequenzen als Sequenz-Textfiles mit der Endung *.seq gespeichert. Diese Sequenz-Textfiles konnten im EditSeq-Programm bei Bedarf manuell korrigiert werden.

2.2.3.4.2. BLAST-Search

Die Sequenzen wurden in der NCBI (National Centre for Biotechnology Information)-Datenbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) überprüft. Die Sequenzen wurden im „nucleotid blast“-BLAST-Programm abgeglichen. Dabei war das Programm in der Lage, alle sechs Leserahmen der Nukleotidsequenz simultan zu überprüfen. Nur Treffer mit einem e-value $\leq 1e-3$ wurden als Sequenzähnlichkeit gewertet.

2.3. Wachstumsgeschwindigkeiten verschieden alter *Trichophyton rubrum* Stämme

Zum Ausschluss des Einflussfaktors „Alter“ der Kolonien wurden verschieden alte Kulturen in ihrem Wachstum vergleichend beobachtet.

Trichophyton rubrum Kolonien (CBS 301.60) verschiedenen Alters (8 Tage alt, 16 Tage alt, 24 Tage alt) wurde zunächst auf frischen Nährboden verimpft. Das Wachstum von den jeweiligen Kolonien wurde anhand der Größenveränderungen (Festgehalten durch tägliche Messungen mit einem Papierlineal in Zentimeter über 21 Tage) dokumentiert.

2.4. Anzucht der Dermatophyten im Flüssigmedium

Das selektive Flüssigmedium besteht aus Soja Pepton (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, BRD) 3,0g; D(+)-Glucose (Merck, Darmstadt, BRD) 3,0g; Cycloheximid (Merck, Darmstadt, BRD) 0,04g; Chloramphenicol (625mg/100ml) 3ml; Aquadest (B.Braun, Melsungen, BRD) 300ml. Auf 2 Agarplatten des über 33 Tagen gewachsenen *Trichophyton rubrum* Stammes (Seebacher, 1998) wurden jeweils 20 ml

des selektiven Flüssigmediums unter Zuhilfenahme einer sterilen 20 ml Einmalspritze (B.Braun, Melsungen, BRD) unter einer Laminar Airflow Sicherheitsarbeitsbank (Gerätetyp UVUB1200, Uniequip, Martinsried, BRD) unter sterilen Bedingungen gegeben (Abbildung 3). Glasgegenstände (Schott, Mainz, BRD) wurden, vor Benutzung autoklaviert (Autoklav 23, Melag, Berlin, BRD).



Abbildung 3: Versuchsaufbau

Daraufhin wurden diese Kulturen von den Agarplatten mit einem sterilen Einmal-Skalpell (Feather) vorsichtig abgetragen (Abbildung 4).

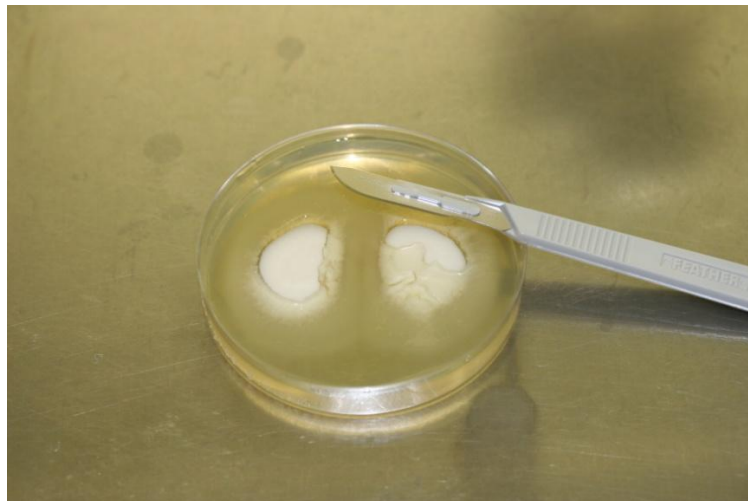


Abbildung 4: Abtragung der Kulturen

Diese abgeschwemmten Sporen wurden in 300 ml des oben genannten Flüssigmediums mit einer sterilen Einmalspritze (B.Braun, Melsungen, BRD) in einen Erlenmeyerkolben eingebracht, mit Alu-Folie abgedeckt und mit einem Rührmagneten auf einem Magnetrührer (IKA-Labortechnik) bei 32°C vermischt (Abbildung 5).



Abbildung 5: Versuchsaufbau

Mit der gleichen Methode wurden Flüssigmedien von *Trichophyton rubrum olexa*, *Trichophyton interdigitale* und *Microsporum canis* angefertigt.

2.4.1. Zellzahlbestimmung

Zum Auszählen der Zellen in der Neubauer Zählkammer wurden mit einer sterilen Eppendorfpipette aus der 5 Tage alten, wie oben beschrieben hergestellten, Flüssigkultur 10 µl entnommen. In der Neubauer Zählkammer wurde die Anzahl der Zellen in 5 Gruppenquadraten der 4x4 Quadrate ausgezählt, wobei in jedem Quadrat 2 Außenseiten nicht mitgezählt wurden. Die Gesamtzahl der Zellen wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\begin{aligned}
 n / \mu\text{l} &= S / (V_k \times N_k) \\
 &= S / (0,25 \times 10^{-3} \mu\text{l} \times 80) \\
 &= S / 20 \times 10^{-3} \\
 &= S \times 50 / \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

$n / \mu\text{l}$ = Anzahl der Zellen pro Mikroliter Suspension

S = Summe der ausgezählten Zellen in 5 Gruppenquadraten

V_k = Volumen über dem Kleinstquadrat ($0,25 \times 10^{-3} \mu\text{l}$)

N_k = Anzahl der ausgezählten Kleinquadrate ($16 \times 5 = 80$)

2.5. Mikrowelle

Es wurde ein handelsüblicher Mikrowellenherd von SHARP, Type R-24W (United Kingdom) mit Mikrowellenfrequenz 2450 MHz und einer maximalen Leistungsabgabe von 800 Watt verwendet. Um auch kleine Leistungsabfälle des Mikrowellenherdes zu verhindern, wurde eine Kalibrierung nach Reipert et al., 2008 durchgeführt. Reipert erhitzte mehrmals nacheinander einen Liter Wasser über zwei Minuten bei 800 Watt Leistung und kontrollierte jeweils sofort die erreichte Temperatur des Wassers. Dadurch hat Reipert et al. herausgefunden, dass bei der ersten Benutzung eines Mikrowellenherdes ein Leistungsabfall bis zu 20% vorkommt und danach die Leistung des Mikrowellenherdes konstant bleibt.

In unseren Untersuchungen wurde daher regelmäßig jeweils vor den Untersuchungen ein Liter destilliertes Wasser in einem Behälter über 2 Minuten bei 800 Watt bestrahlt.

2.5.1. Versuche mit Agarkulturen

Aus einer Kolonie von *Trichophyton rubrum* wurden 4 mm Stanzbiopsien (Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach am Main, BRD) entnommen und jeweils im Paar auf einen neuen Nährboden verpflanzt. Danach erfolgte es eine Bestrahlung der Agarkulturen mit der o.g. Mikrowelle. Hierbei wurde die Temperatur mit Thermax 7 Level Liquid Cristal Strips (Amarell GmbH & Co.KG, Kreuzwertheim, BRD) gemessen (Abbildung 6). Thermax 7 ist ein Streif-Thermometer mit reversibler Flüssigkristallanzeige. Dieses Thermometer wurde direkt auf der Agarplatte ausgelegt und bei erhöhter Temperatur zeigten sich sofort sichtbare Farbveränderungen.

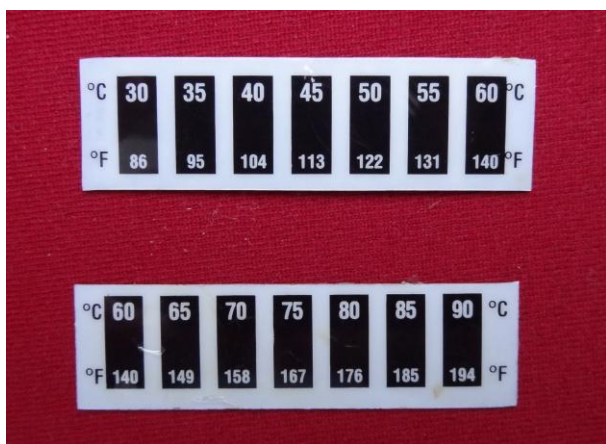


Abbildung 6: Thermax 7 Level Liquid Cristal Strips

Die Bestrahlung wurde an jeweils 5 Agarplatten in unterschiedlicher Dauer und Intensität durchgeführt. Diese wurden dann mit 5 nicht bestrahlten 5 Agarplatten zur Kontrolle verglichen. Die Bestrahlungen sind über eine Dauer von a) 10 Sekunden, b) 20 Sekunden, c) 30 Sekunden, d) 40 Sekunden, e) 50 Sekunden und f) 60 Sekunden bei 80 Watt erfolgt. Weitere Gruppen wurden über a) 10 Sekunden, b) 20 Sekunden und c) 30 Sekunden bei 240 Watt bestrahlt. Die bestrahlten Platten wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und das Wachstum wurde in täglichen Abständen über 21 Tage beobachtet.

2.5.2. Versuche mit Flüssigkultur

Die wie oben beschrieben hergestellten Flüssigkulturen von *Trichophyton rubrum* wurden nach 5 Tagen (4×10^4 CFU/ml) an 2 Stellen (jeweils 5 µl) unter Zuhilfenahme einer sterilen Eppendorfpipette auf den frischen Nährboden abpipetiert. Daraufhin wurden die Versuche mit Bestrahlung über 10 Sekunden, 20 Sekunden, 30 Sekunden bei 240 Watt durchgeführt. Die bestrahlten Platten wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und das Wachstum wurden in täglichen Abständen über 21 Tage beobachtet.

2.5.3. Versuche mit Schuheinlagen

Schließlich wurden die Versuche an handelsüblichen orthopädischen Weichbett- (Weichpolster, Polyethylen-Schäume) und Korkschuheinlagen durchgeführt. Die beiden Schuheinlagensorten wurden von der Firma ORS zur Verfügung gestellt. Hierbei wurde jeweils ein 4x4 cm messende Stück einer Schuheinlage mit 5 Tage altem Flüssigmedium eines Dermatophyten infiziert und ebenfalls direkt nach Inokulation mit Mikrowellen bestrahlt. Insgesamt wurden so vier verschiedene Dermatophyten auf Schuheinlagen eingebracht. Es wurde mit einer Bestrahlung von 240 Watt über 20 Sekunden begonnen. Die Dauer und Intensität der Bestrahlung wurden schrittweise gesteigert, bis sich eine komplette Wachstumshemmung zeigte. Die Dauer wurde jeweils um 10 Sekunden (bis auf 70 Sekunden) gesteigert, die hierbei verwendeten Bestrahlungsintensitäten waren 240 Watt, 400 Watt und 560 Watt. Unter Zuhilfenahme einer sterilen Lochzange wurde die Einlage daraufhin in 4 mm große Segmente geteilt. Diese wurden schließlich auf neuen Nährböden angesiedelt.

2.5.3.1. *Trichophyton rubrum*

Die mit *Trichophyton rubrum* infizierten Weichbettschuheinlagen wurden bei 240 Watt über 20 Sekunden bestrahlt, während die infizierten Korkschuheinlagen bei 240 Watt über 20 und 30 Sekunden bestrahlt wurden.

2.5.3.2. *Trichophyton rubrum olexa*

Der oben beschriebene Versuchsaufbau wurde mit *Trichophyton rubrum olexa* infizierten Schuheinlagen wiederholt. Es erfolgte hierbei eine Bestrahlung über 20, 30 und 40 Sekunden bei 240 Watt für beide Schuheinlagentypen.

2.5.3.3. *Microsporum canis*

Die gleiche Versuchsreihe wurde bei mit *Microsporum canis* infizierten Schuheinlagen wiederholt. Es erfolgte eine Bestrahlung mit 240 Watt über 10, 20, 30, 40, 50, 60 und 70 Sekunden bei Weichbettschuheinlagen, sowie 10, 20 und 30 Sekunden bei Korkschuheinlagen.

2.5.3.4. *Trichophyton interdigitale*

Für *Trichophyton interdigitale* wurde die gleiche Versuchsreihe erneut wiederholt. Für Weichbettschuheinlagen erfolgten die Bestrahlungen über 10 – 70 Sekunden bei 240 und 400 Watt, sowie 10 bis 30 Sekunden bei 560 Watt. Für Korkschuheinlagen erfolgten Bestrahlungen über 10 bis 70 Sekunden bei 240 Watt, sowie 10 bis 60 Sekunden bei 400 Watt.

In einer Anschlussuntersuchung wurden die beiden verschiedenen Schuheinlagentypen, die jeweils mit *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa*, *Trichophyton interdigitale* und *Microsporum canis* infiziert waren, nochmals über 30 Sekunden bei 560 Watt bestrahlt. Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um festzustellen, ob die komplette Wachstumshemmung nicht nur bei *Trichophyton interdigitale* bei 30 Sekunden und 560 Watt und Weichbettschuheinlagen, sondern auch bei allen anderen Dermatophyten und Schuheinlagentypen bei dieser Bestrahlungsintensität und -dauer

eintritt. Damit können wir nun für alle Dermatophyten eine einheitliche Bestrahlungsintensität festlegen, die zu einer kompletten Wachstumshemmung führt. Die Untersuchung erfolgte jeweils bei der bestrahlten Gruppe und nicht bestrahlten Kontrollgruppe an 5 Agarplatten, mit jeweils 2 Kolonien. Jede Untersuchung wurde dreimal mit zwei verschiedenen Schuheinlagentypen wiederholt, das Wachstum wurde jeweils nach 21 Tagen beurteilt.

2.6. Bearbeitung der Daten

Alle relevanten Daten wurden zunächst in die Untersuchungsbögen eingetragen. Zur Datenbearbeitung wurden die Werte in das Statistikprogramm SPSS (Version 14.0) übertragen und dort ausgewertet.

2.7. Statistische Auswertung

Die Datenerfassung geschah mittels Microsoft EXCEL und die statistische Auswertung mit SPSS für Windows Version 14.0. Zur deskriptiven Auswertung wurden mit EXCEL erstellte Säulendiagramme genutzt. Eine vergleichende Auswertung ist durch den Einsatz von χ^2 -Tests durchgeführt worden. Die gewachsene Dermatophyten-Kolonie wurde mit „1“ bezeichnet. Die nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonie wurde mit „0“ bezeichnet.

Ein χ^2 -Test zur Überprüfung der statistischen Signifikanz von Zusammenhängen zwischen zwei Variablen geht im Prinzip wie folgt vor: Die Nullhypothese (H_0 , die Annahme es bestehe keine Beziehung zwischen den untersuchten Variablen) wird einer Gegenhypothese (H_1 , mit der Annahme, dass ein solcher Zusammenhang bestehe) gegenübergestellt. Es soll entschieden werden, ob die Hypothese H_1 als weitgehend gesichert angenommen werden kann oder H_0 (vorläufig) beibehalten werden muss. Der χ^2 -Test ist ein Test, der prüft, ob nach ihrer empirischen Verteilung zwei in einer Stichprobe erhobenen Variablen voneinander unabhängig sind oder nicht. Sind sie unabhängig, wird die Nullhypothese beibehalten, ansonsten die Hypothese H_1 angenommen (Janssen und Laatz 2007).

Bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit kleiner als 5% ($p < 0,05$) wird das Ergebnis als statistisch signifikant eingestuft.

$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
nicht signifikant	Signifikant	sehr signifikant	hochsignifikant

Tabelle 1: Signifikanzniveau

3. ERGEBNISSE

3.1. Makroskopie der Primärkultur

3.1.1. *Trichophyton rubrum*

Es zeigten sich Kolonien mit flaumiger bis watteartiger Oberfläche. Auf der Kulturunterseite zeigte sich eine gelbe Pigmentbildung (Abbildung 7).

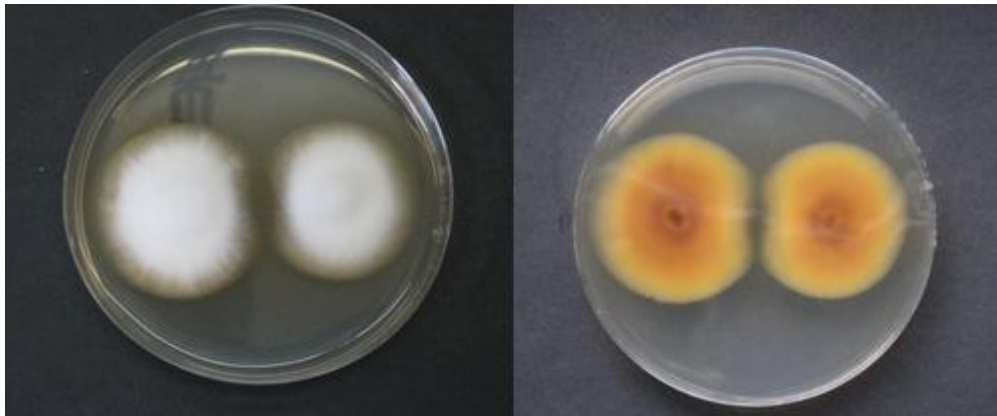


Abbildung 7: *Trichophyton rubrum*

3.1.2. *Trichophyton rubrum olexa*

Ähnlich wie bei *Trichophyton rubrum* zeigten sich flaumige bis watteartige Oberflächen der Kolonien mit gelber Pigmentbildung an der Kulturunterseite. Typisch bei diesen Dermatophyten zeigte sich eine rötliche bis bräunliche Verfärbung des Agars, die durch eine Melaninbildung verursacht wird (Abbildung 8).

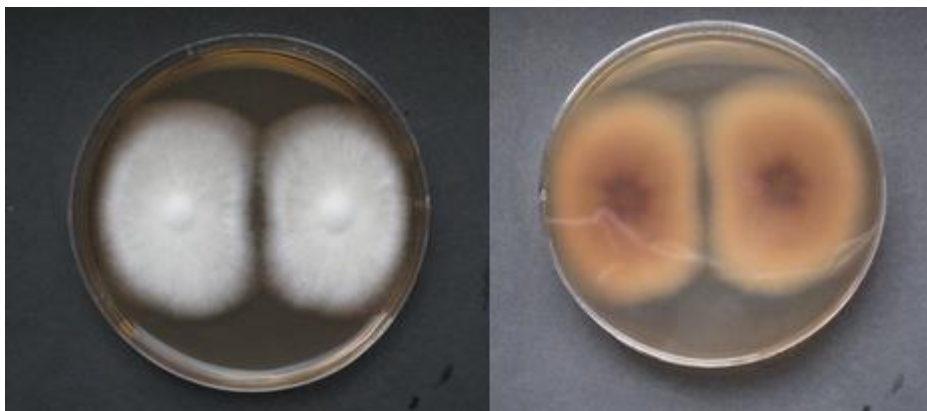


Abbildung 8: *Trichophyton rubrum olexa*

3.1.3. *Microsporum canis*

Es zeigte sich eine flache, strahlenartige Kolonie mit typisch ausgefranstem Randsaum. Der Randbereich ist orange-gelb eingefärbt (Abbildung 9).



Abbildung 9: *Microsporum canis*

3.1.4. *Trichophyton interdigitale*

Es zeigte sich eine weiße, pudrige Oberfläche mit luftigem Koloniewachstum (Abbildung 10).



Abbildung 10: *Trichophyton interdigitale*

3.2. „Klebestreifen-Abriss-Methode“

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Objektträger fanden sich bei *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton rubrum olexa* birnenförmige Mikrokonidien in Akladiumform (Abbildung 11).

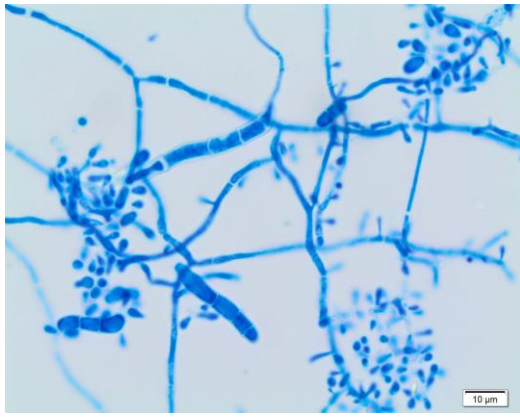


Abbildung 11: Mikroskopisches Bild vom *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton rubrum olexa*

Bei der Betrachtung von *Microsporum canis* fielen die typischen spindelförmigen, dick- und rauhwandigen Makrokonidien auf (Abbildung 12), während *Trichophyton interdigitale* durch die runden Mikrokonidien in Botrytisform an Verzweigungen, sowie schmale, lange Makrokonidien (3-8zellig) in geringer Zahl identifiziert werden konnte (Abbildung 13).



Abbildung 12: Mikroskopisches Bild von *Microsporum canis*.

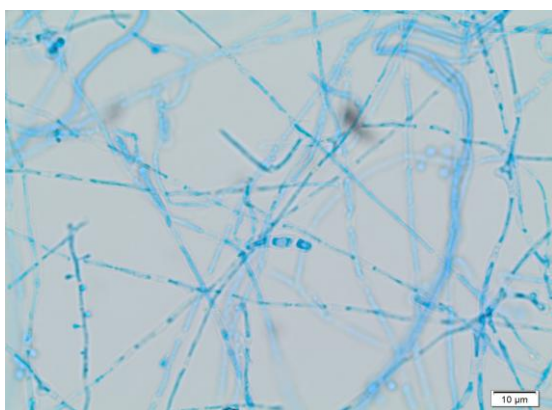


Abbildung 13: Mikroskopisches Bild vom *Trichophyton interdigitale*

3.3. Sequenzierung

3.3.1. *Trichophyton rubrum olexa*

Die *Internal transcribed spacers region* (ITS) 1 Sequenzierung aus der Kultur Probe 1 ergab im NCBI blast eine Ähnlichkeit von 97% zu *Trichophyton rubrum* und ein E-value von 2e-63.

3.3.2. *Microsporum canis*

Die *Internal transcribed spacers region* (ITS) 1 Sequenzierung aus der Kultur Probe 3 ergab im NCBI blast eine Ähnlichkeit von 100% zu *Microsporum canis* und ein E-value von 7e-162.

3.3.3. *Trichophyton interdigitale*

Die *Internal transcribed spacers region* (ITS) 1 Sequenzierung aus der Kultur Probe 2 ergab im NCBI blast eine Ähnlichkeit von 100% zu *Trichophyton interdigitale* und ein E-value von 1e-154.

3.4. Wachstumsgeschwindigkeit verschieden alter *Trichophyton rubrum* Stämme

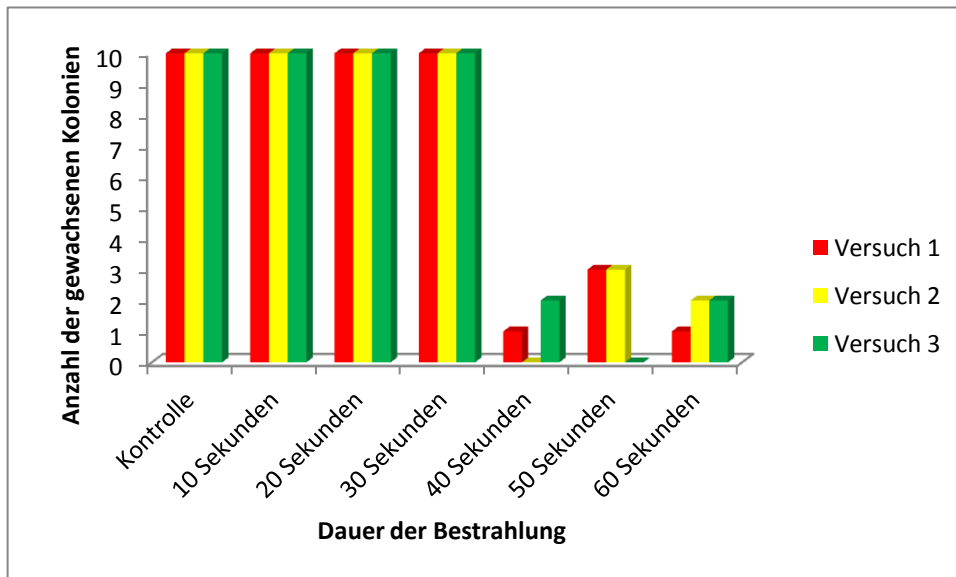
In den Untersuchungen musste der Einflussfaktor „Alter“ der Kolonien berücksichtigt werden. Hierzu wurden Kulturen verschiedenen Alters (8 Tage alt, 16 Tage alt, 24 Tage alt) untersucht (siehe Kapitel 2.3). Durch die Messung der Größenzunahme der Kolonien konnte festgestellt werden, dass die Wachstumsgeschwindigkeit der *Trichophyton rubrum* Stämme verschiedenen Alters keine großen Unterschiede aufweist (Tabelle 2, siehe Anhang).

3.5. Zellzahlbestimmung

Bei der Auszählung der Hyphen in der Neubauer Zählkammer im 5 Tage alten Flüssigmedium ergab sich eine Anzahl von 4×10^4 CFU/ml.

3.6. Versuch mit Agarkulturen vom *Trichophyton rubrum* Stamm (CBS 301.60)

Die Agarkulturen des *Trichophyton rubrum* Stammes wurden Mikrowellenstrahlen ausgesetzt (Kapitel 2.5.1). Bei der Bestrahlung mit 80 Watt über a) 10 Sekunden, b) 20 Sekunden, c) 30 Sekunden, sowie Kontrolle (nicht bestrahlter Kolonien) sind alle Kolonien (dreißig Kolonien) gewachsen. Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 10 Sekunden war 30°C, über 20 und 30 Sekunden waren es jeweils 35°C. Nach der Bestrahlung mit 80 Watt über a) 40 Sekunden und b) 50 Sekunden zeigten jeweils nur noch drei und sechs Kolonien Wachstum, während bei den 10 über 60 Sekunden bestrahlten Kolonien noch fünf wuchsen (Graphik 1 und Abbildungen 14 - 19). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 40 und 60 Sekunden war jeweils 30°C und über 50 Sekunden waren es 35°C. Auf den Bildern kann man sehen, dass der Durchmesser der gewachsenen bestrahlten Kolonien kleiner als der der Kontrollgruppe ist. Daran kann man erkennen, dass durch die Bestrahlung schon eine Wachstumshemmung eingetreten ist, auch wenn sich noch keine komplette Hemmung zeigte.



Graphik 1: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 80W

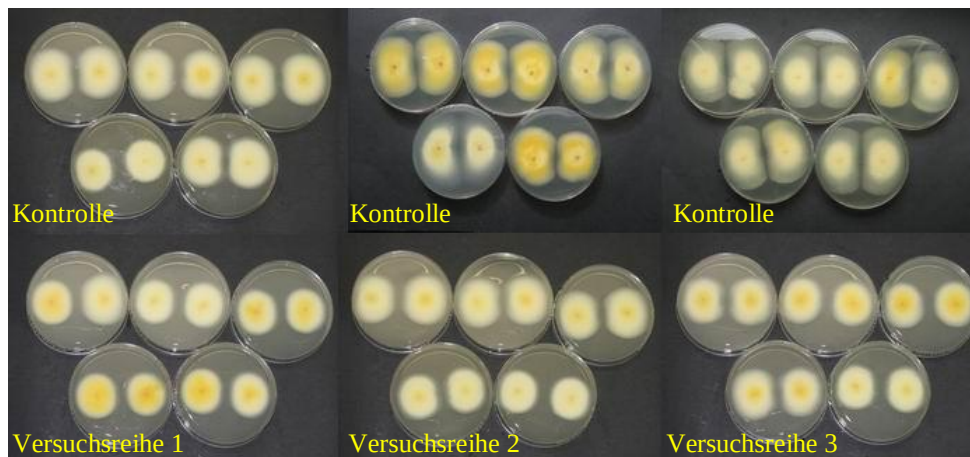


Abbildung 14: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 80W

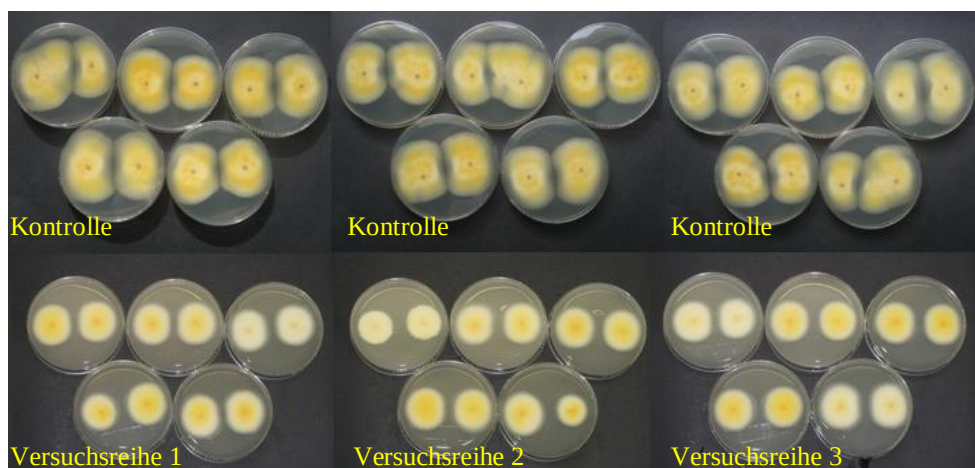


Abbildung 15: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 80W

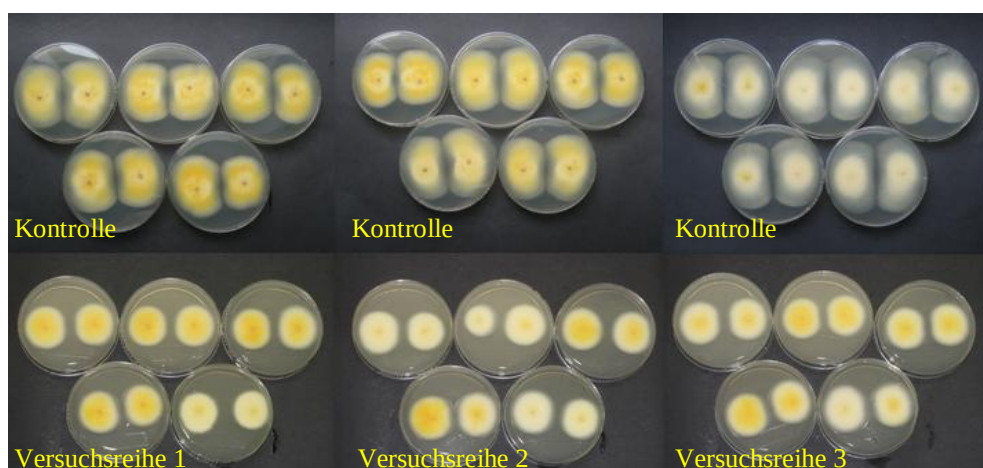


Abbildung 16: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 80W

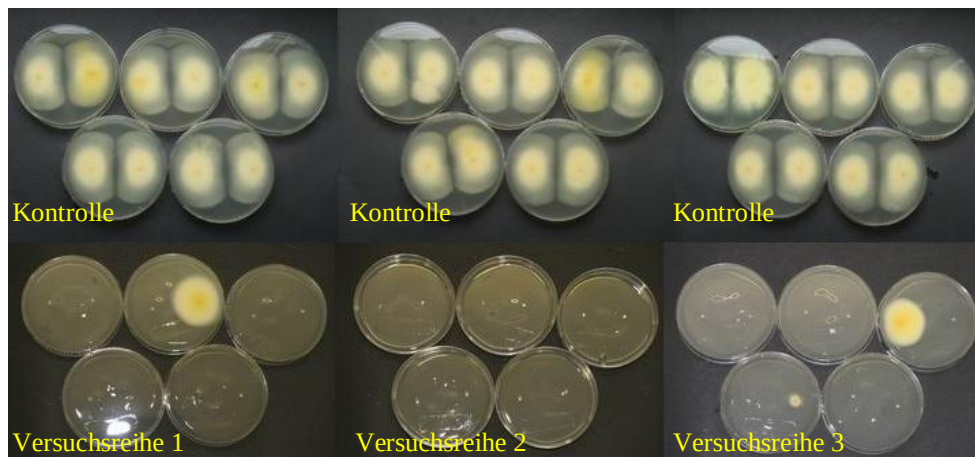


Abbildung 17: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 80W

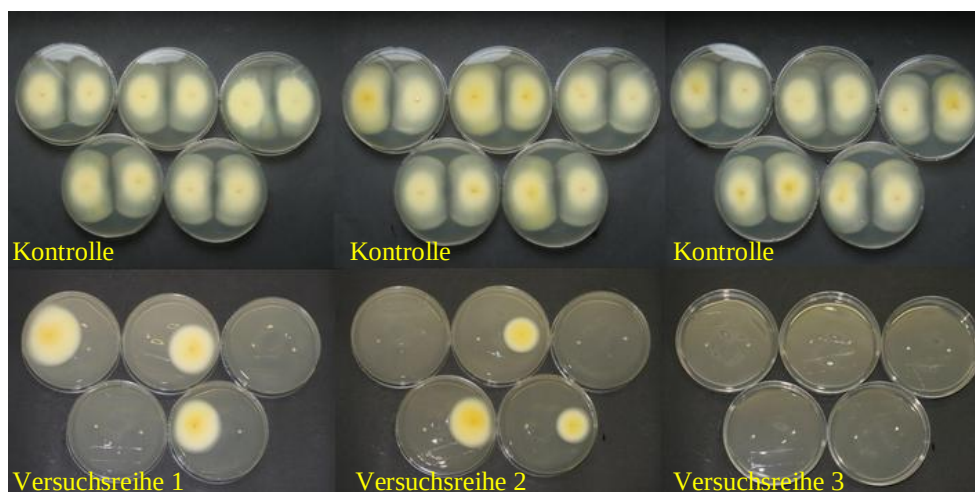


Abbildung 18: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 80W

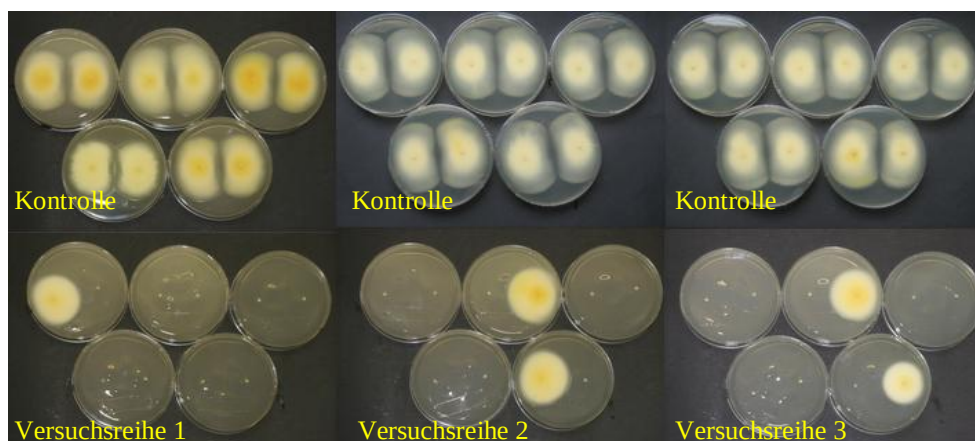
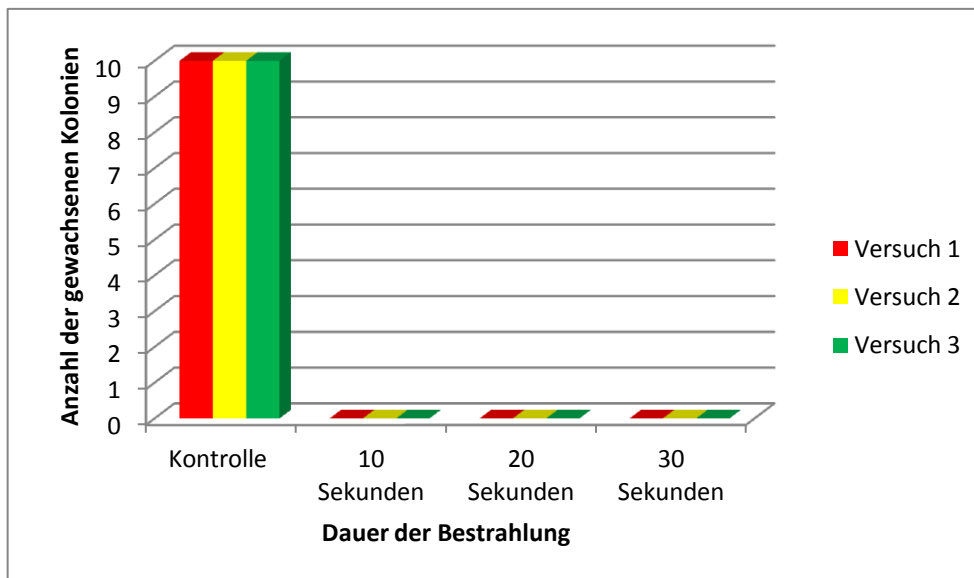


Abbildung 19: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 60 Sekunden Bestrahlung mit 80W

Bei der Bestrahlung mit 240 Watt über 10, 20 und 30 Sekunden ist keine der bestrahlten Kolonien gewachsen, sondern lediglich die unbestrahlten Kontrollgruppen (Graphik 2 und Abbildungen 20 - 22). Die maximal erreichte Temperatur lag bei der Bestrahlung

über 10 Sekunden bei 35°C, bei der über 20 Sekunden bei 40°C und bei der über 30 Sekunden bei 45°C.



Graphik 2: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240 W

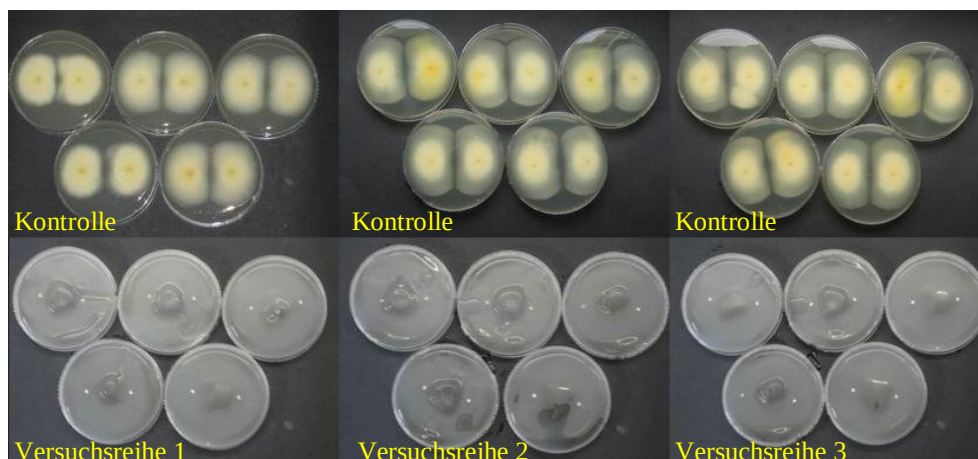


Abbildung 20: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 240W

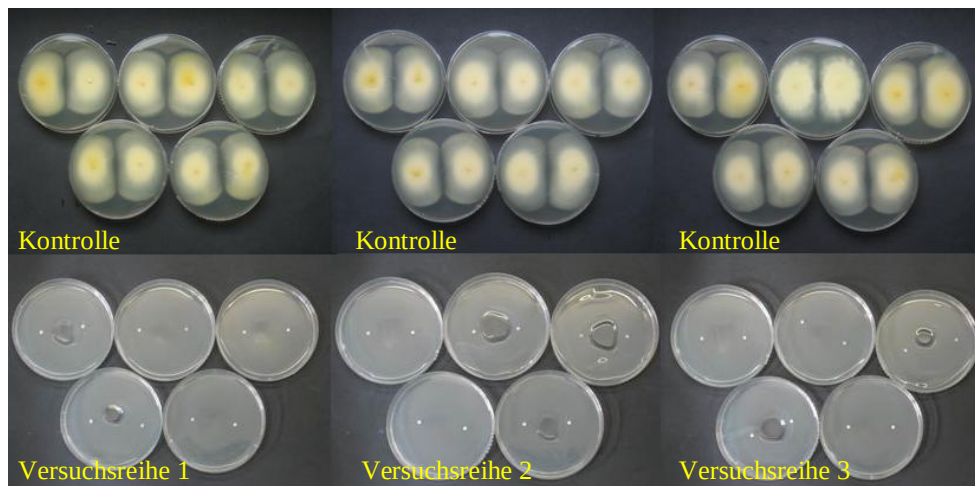


Abbildung 21: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

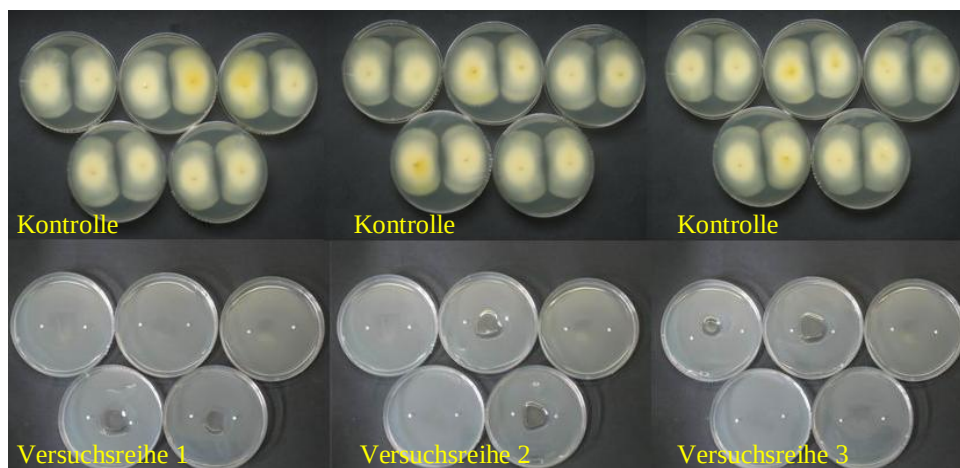
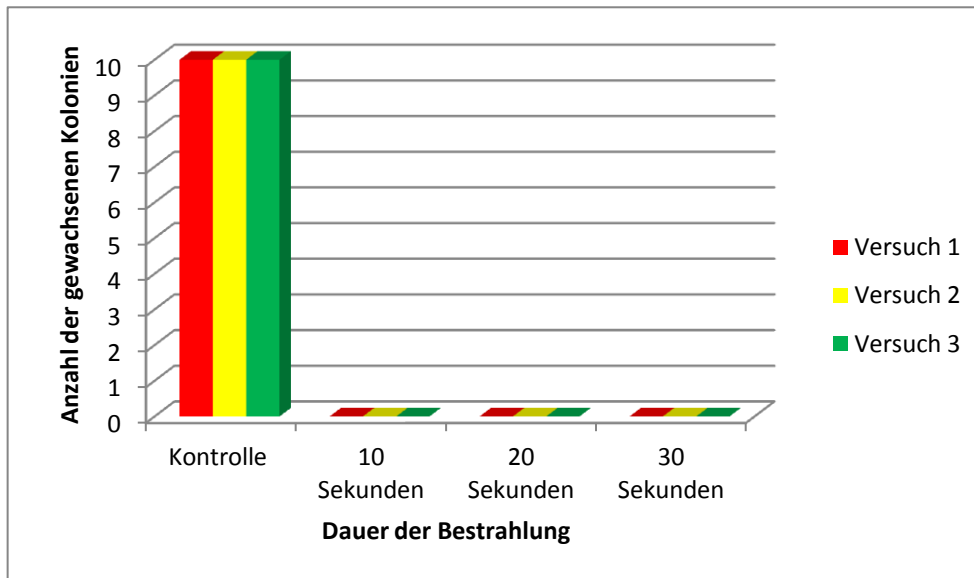


Abbildung 22: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.7. Versuch mit Flüssigkultur vom *Trichophyton rubrum* Stamm

Unter einer Bestrahlung von 240 Watt über 10, 20 und 30 Sekunden zeigte sich in keiner der jeweils 3 Versuchsreihen (á 10 Kolonien) Wachstum bei den Kolonien (Graphik 3 und Abbildungen 23 - 25). Die maximal erreichte Temperatur lag bei der Bestrahlung über 10 Sekunden bei 35°C, bei der über 20 Sekunden bei 40°C und bei der über 30 Sekunden bei 45°C.



Graphik 3: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

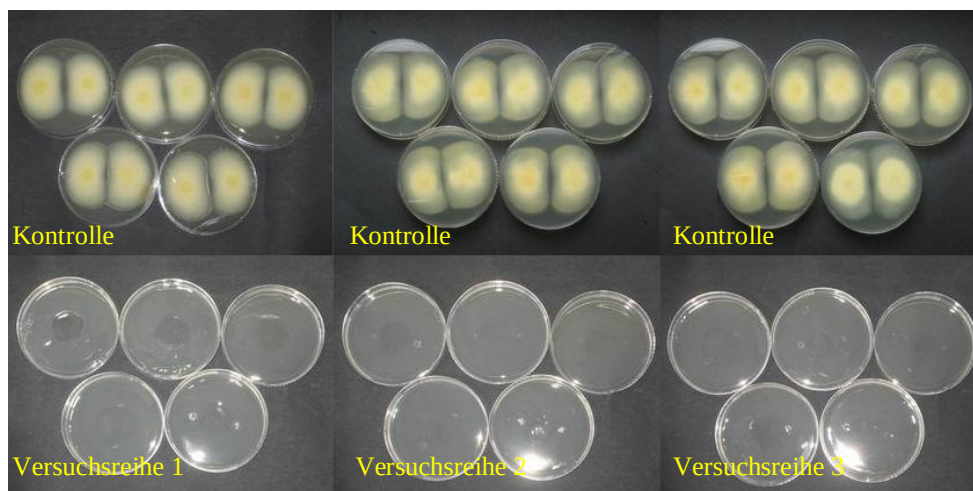


Abbildung 23: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 240W

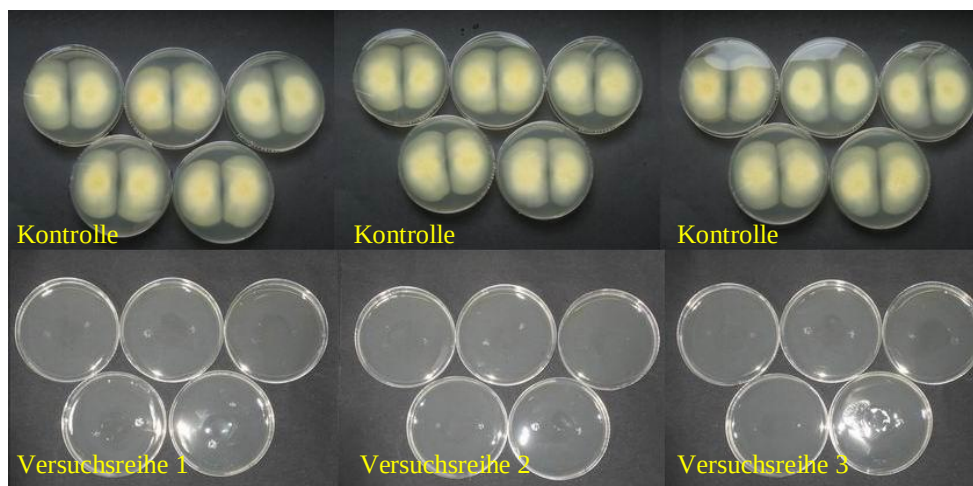


Abbildung 24: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

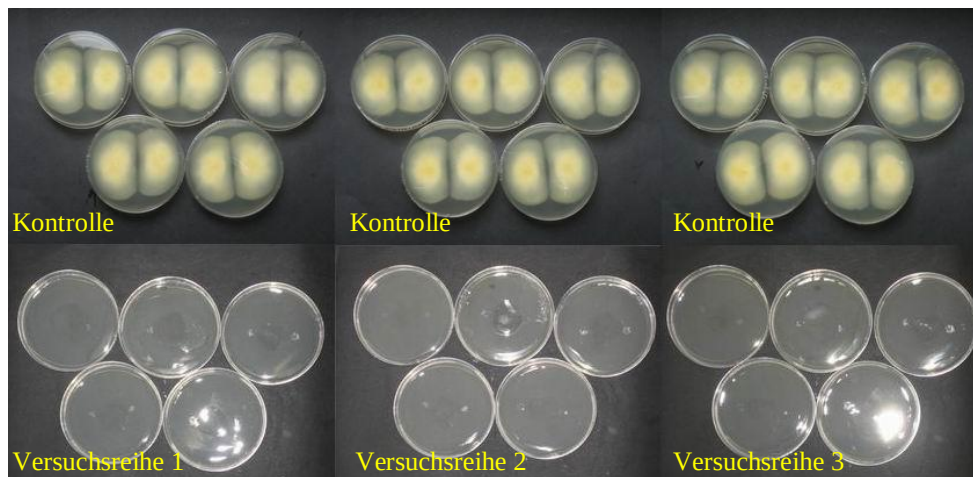


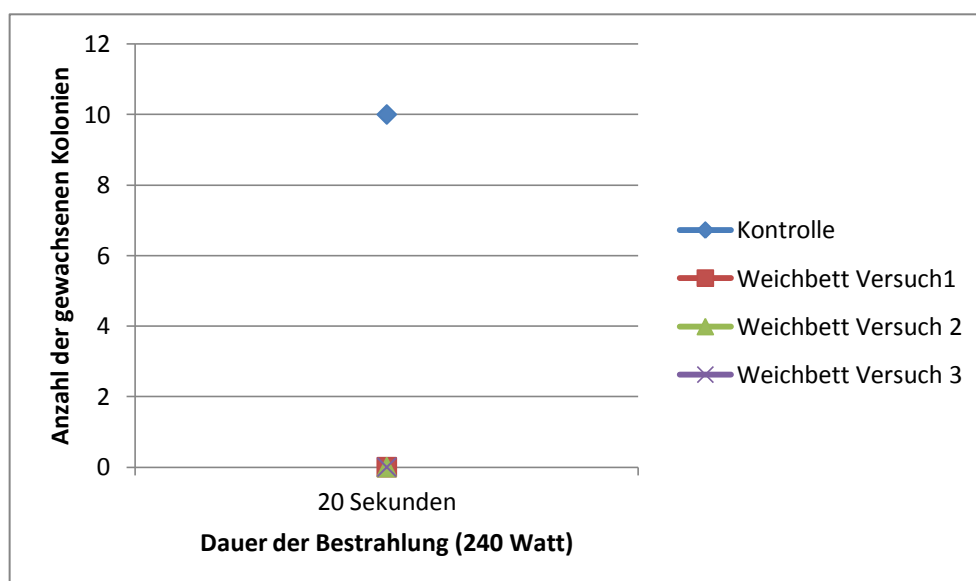
Abbildung 25: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8. Versuche mit Schuheinlagen

3.8.1. *Trichophyton rubrum*

3.8.1.1. Weichbettschuheinlage

Nach der ersten Bestrahlung über 20 Sekunden bei 240 Watt zeigte sich eine komplette Wachstumshemmung der *Trichophyton rubrum* Kolonien (Graphik 4 und Abbildung 26). Die maximal erreichte Temperatur betrug hierbei 35°C.



Graphik 4: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum* Kolonien nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240 W

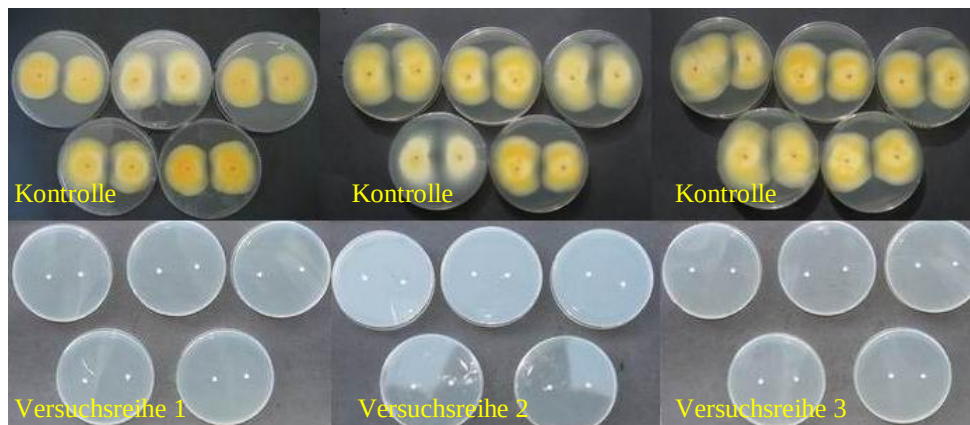
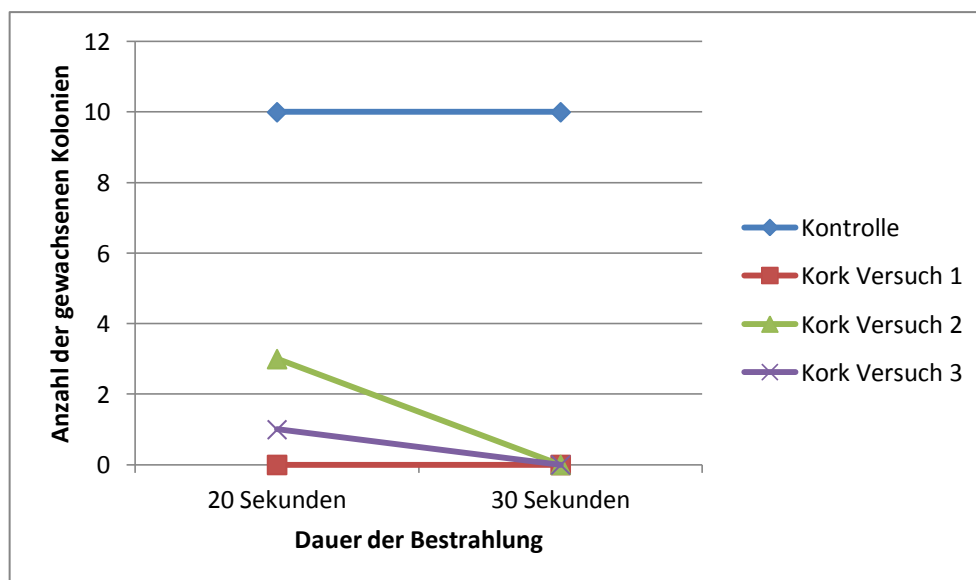


Abbildung 26: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8.1.2. Korkschuheinlage

Bei der Bestrahlung über 20 Sekunden bei 240 Watt sind 4 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=86,7%). Eine komplette Wachstumshemmung wird erreicht nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden bei 240 Watt (Graphik 5 und Abbildungen 27 - 28). Die maximal erreichte Temperatur betrug hierbei 35°C.



Graphik 5: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum* Kolonien nach unterschiedliche Bestrahlungsdauern mit 240W

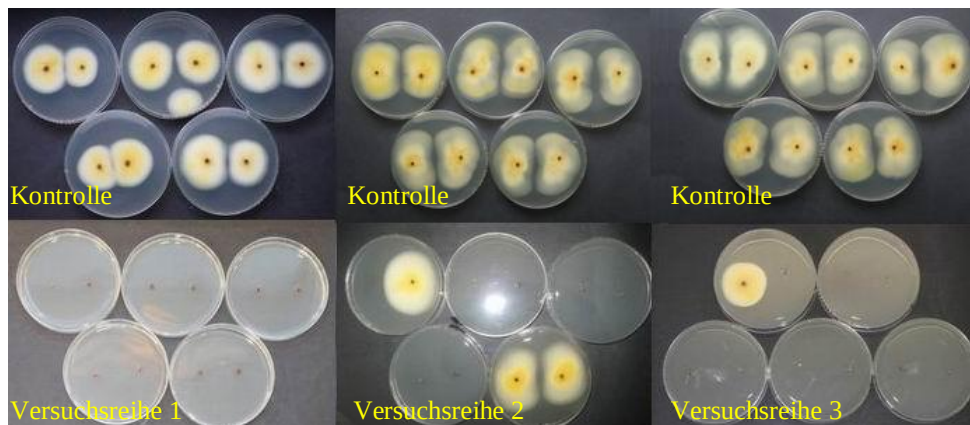


Abbildung 27: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

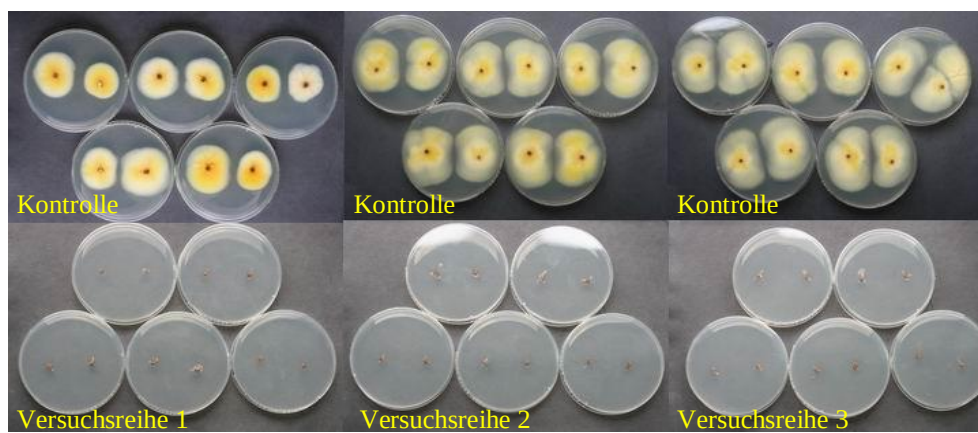
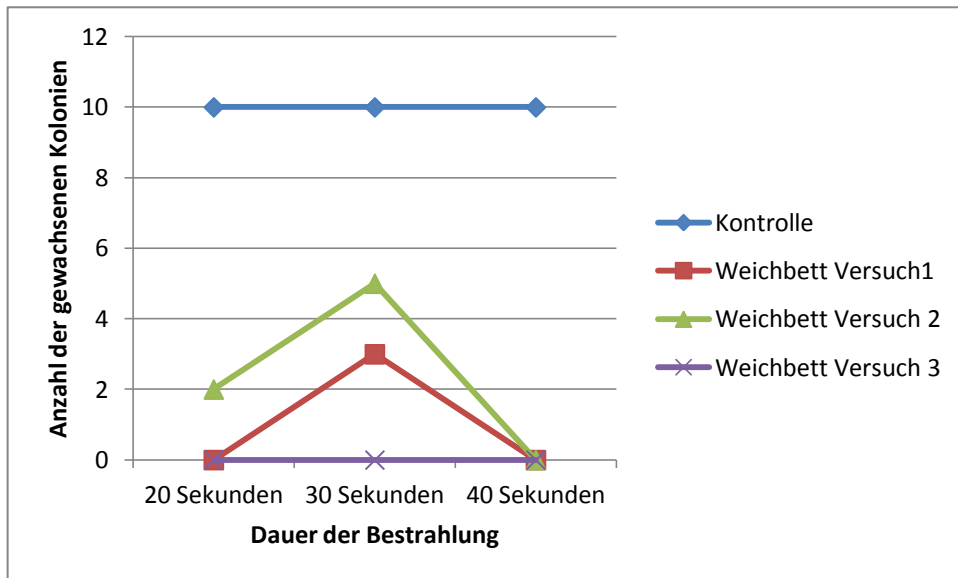


Abbildung 28: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8.2. *Trichophyton rubrum olexa*

3.8.2.1. Weichbettschuheinlage

Nach der Bestrahlung mit 240 Watt über 20 Sekunden sind 2 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=93,3%) und nach der Bestrahlung über 30 Sekunden sind 8 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=73,3%). Eine komplette Wachstumshemmung wird nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt erreicht. Die maximal erreichte Temperatur betrug bei der Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden jeweils 35°C und bei der über 40 Sekunden 50°C (Graphik 6 und Abbildungen 29 - 31).



Graphik 6: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum olexa* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240 W

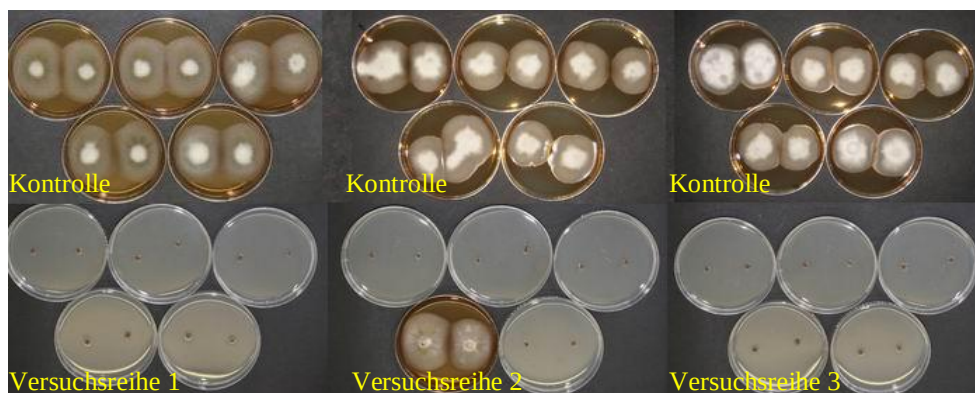


Abbildung 29: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

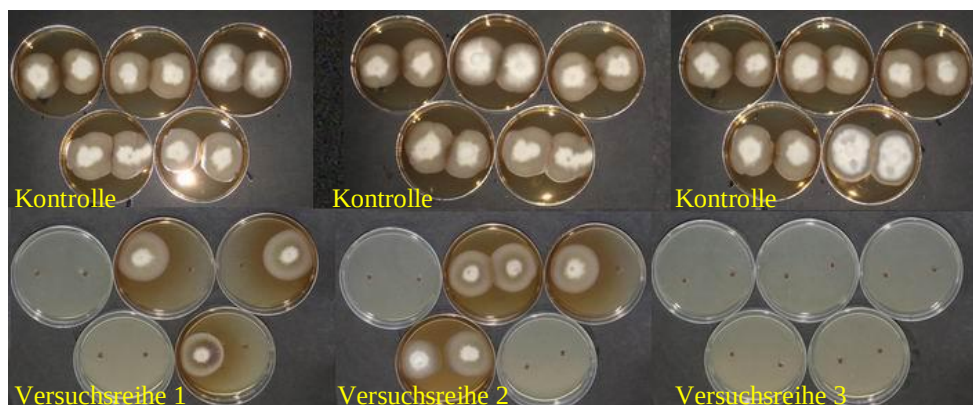


Abbildung 30: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

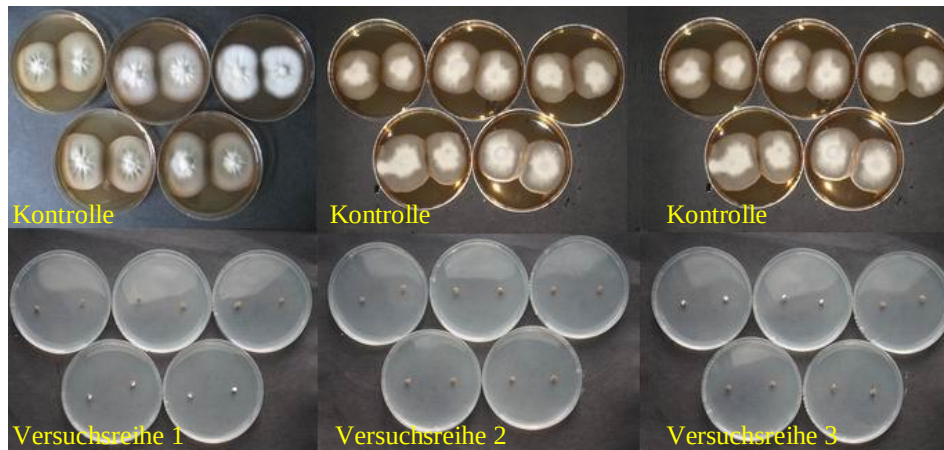
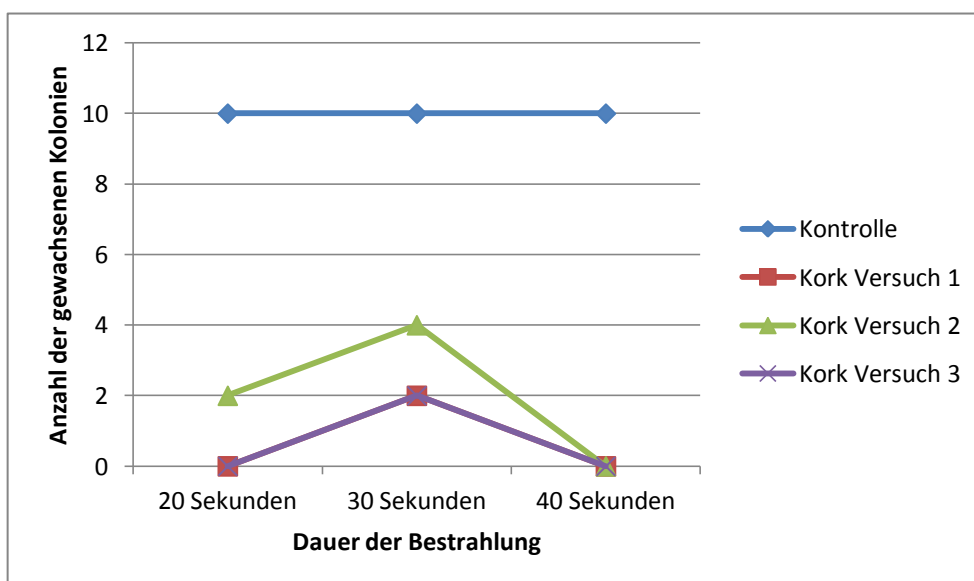


Abbildung 31: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8.2.2. Korkschuheinlage

Nach der Bestrahlung mit 240 Watt über 20 Sekunden sind 2 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=93,3%) und nach der Bestrahlung über 30 Sekunden sind 8 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=73,3%). Eine komplette Wachstumshemmung wird nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt erreicht. Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden war jeweils bei 35°C. Bei der Bestrahlung über 40 Sekunden lag die Maximaltemperatur bei 50°C (Graphik 7 und Abbildung 32 - 34).



Graphik 7: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton rubrum olexa* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

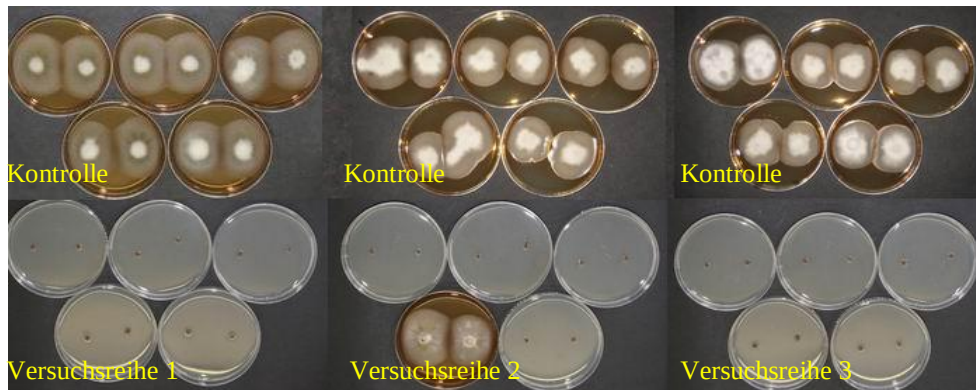


Abbildung 32: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

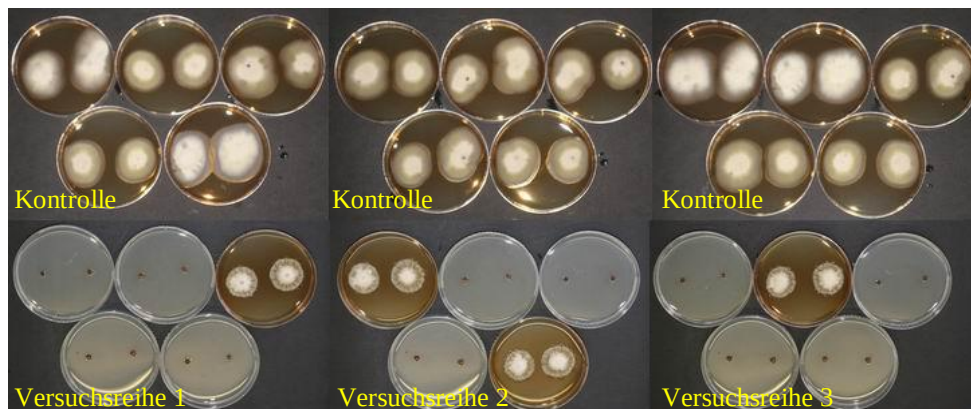


Abbildung 33: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

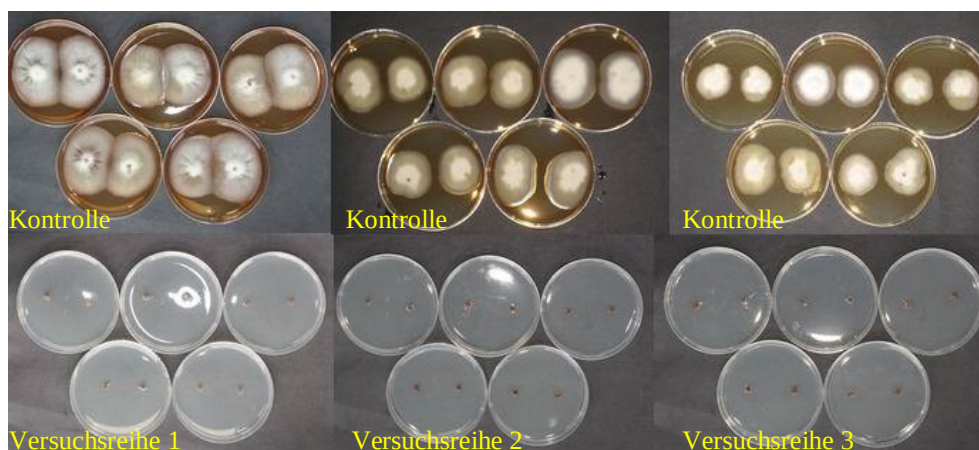


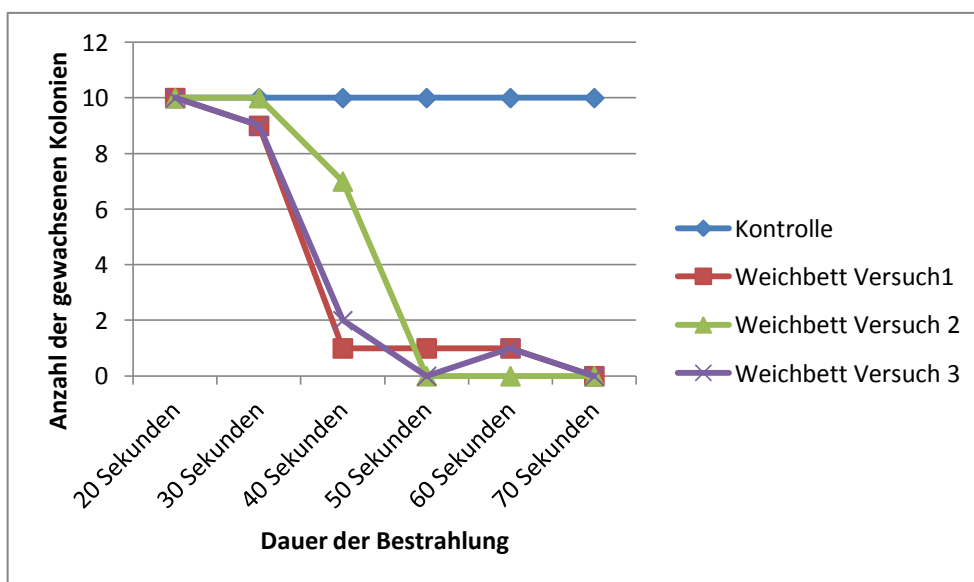
Abbildung 34: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

Im Vergleich zu den mit 20 Sekunden bestrahlten Kolonien sind bei den 30 Sekunden bestrahlten Kolonien mehr Kolonien trotz längerer Bestrahlungsdauer gewachsen. Die Abbildung 33 zeigt, dass die Durchmesser der bestrahlten Kolonien deutlich kleiner sind als die in der Kontrollgruppe. Damit ist auch hier eine Wachstumshemmung feststellbar.

3.8.3. *Microsporum canis*

3.8.3.1. Weichbettschuheinlage

Es erfolgte eine Bestrahlung bei 240 Watt. Die Bestrahlung über 20 Sekunden ergab keine Wachstumshemmung (30 von 30 Kolonien sind gewachsen). Nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden zeigte sich eine Wachstumshemmung von 6,7 % (28 von 30 Kolonien sind gewachsen). Eine Wachstumshemmung von 67,7 % (10 von 30 Kolonien gewachsen) wird nach einer Bestrahlung über 40 Sekunden erzielt. Desweiteren war eine Wachstumshemmung von 96,7 % (1 von 30 Kolonien gewachsen) nach einer Bestrahlung über 50 Sekunden und eine Wachstumshemmung von 93,3% (2 von 30 Kolonien gewachsen) nach einer Bestrahlung über 60 Sekunden zu beobachten. Die komplette Wachstumshemmung zeigte sich bei *Microsporum canis* nach einer Bestrahlung mit 240 Watt über 70 Sekunden (Weichbettschuheinlage) (Graphik 8 und Abbildungen 35 - 40). Die maximal erreichte Temperatur bei den Bestrahlungen über 20 und 30 Sekunden lag bei 35°C und bei den Bestrahlungen über 40 bis 70 Sekunden jeweils bei 50°C.



Graphik 8: Anzahl der gewachsenen *Microsporum canis* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

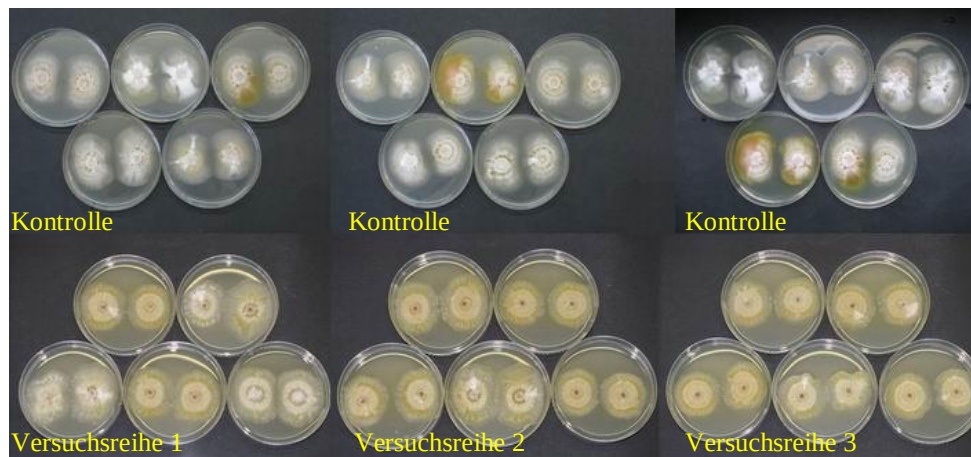


Abbildung 35: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

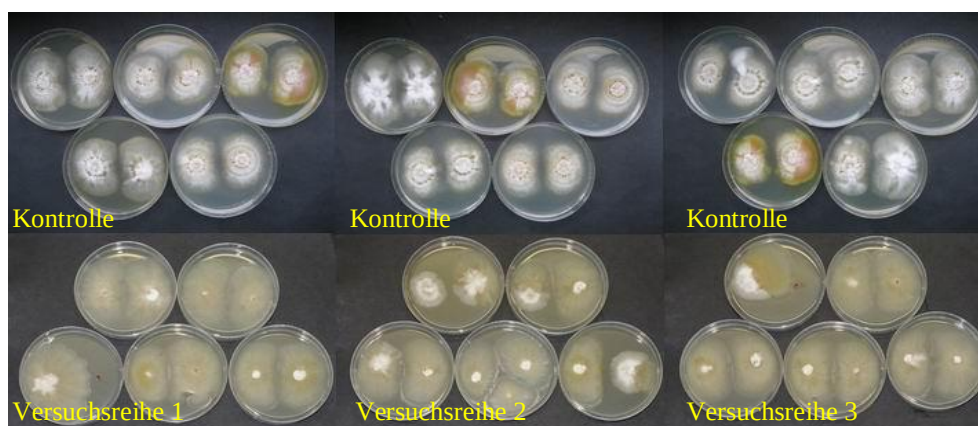


Abbildung 36: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

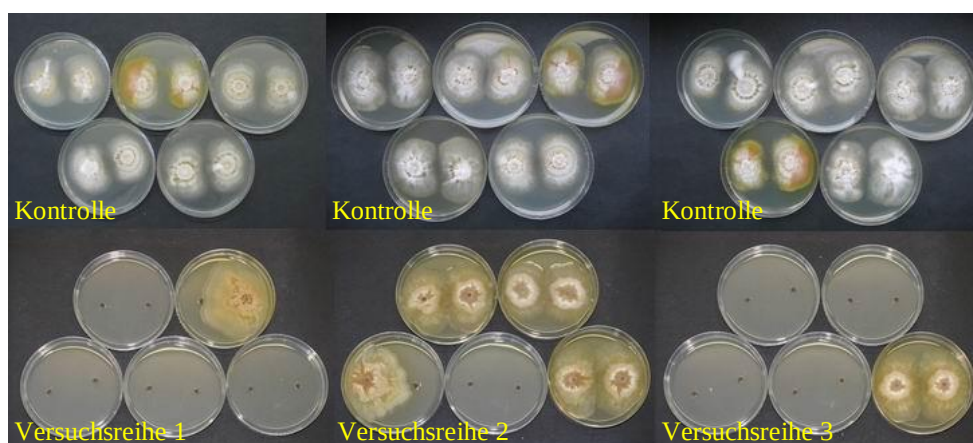


Abbildung 37: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

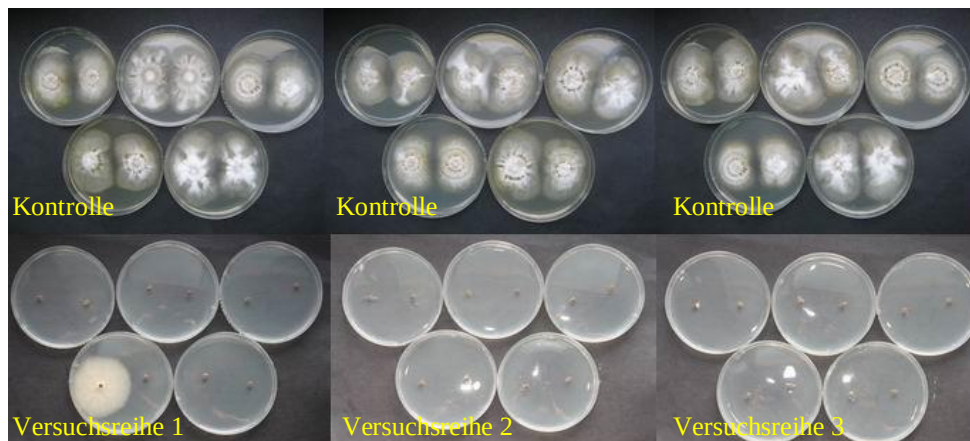


Abbildung 38: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 240W

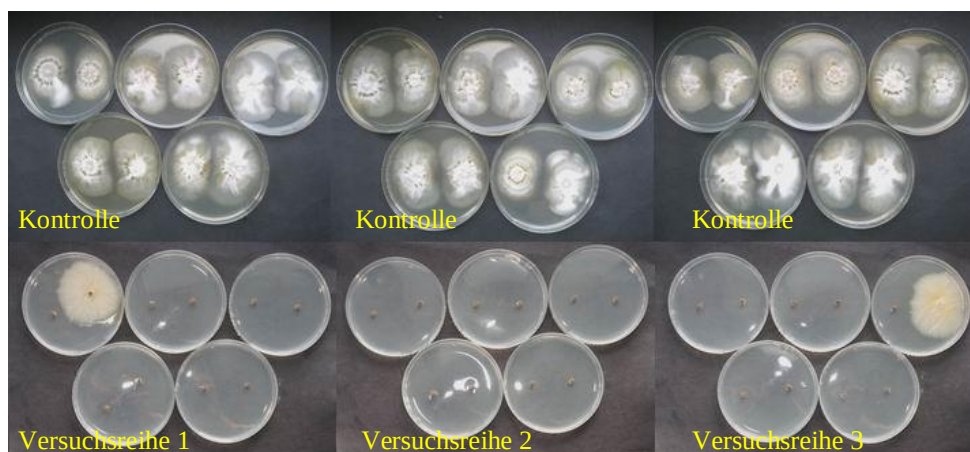


Abbildung 39: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 60 Sekunden Bestrahlung mit 240W

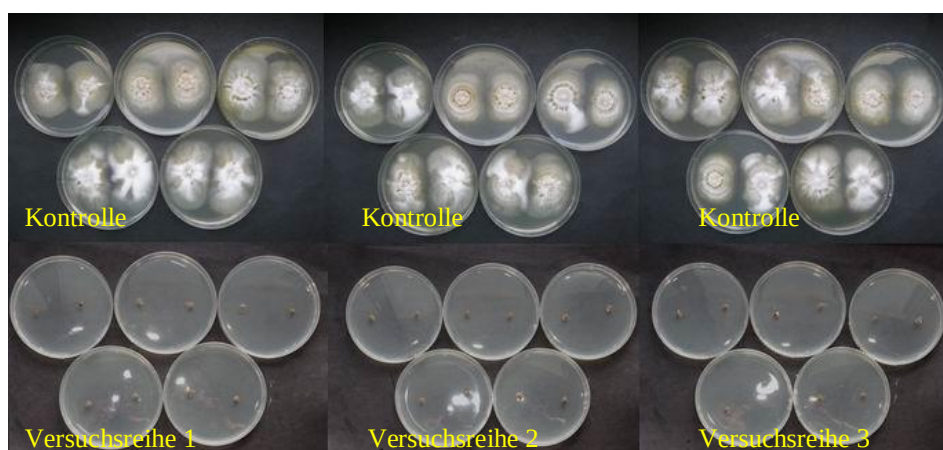
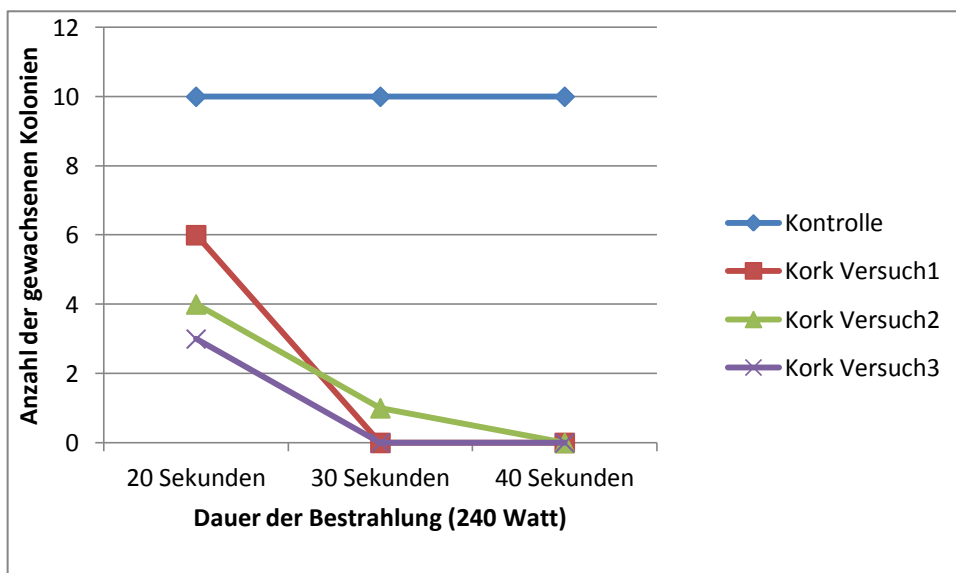


Abbildung 40: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 70 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8.3.2. Korkschuheinlage

Bei einer Bestrahlung mit 240 Watt zeigte sich eine Wachstumshemmung von 56,7% (13 von 30 Kolonien gewachsen) nach einer Bestrahlung über 20 Sekunden, sowie von 96,7% (1 von 30 Kolonien gewachsen) nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden. Eine komplette Wachstumshemmung wird nach einer Bestrahlung über 40 Sekunden erreicht (Graphik 9 und Abbildungen 41 - 43). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden lag bei 35°C und bei der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 50°C.



Graphik 9: Anzahl der gewachsenen *Microsporum canis* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

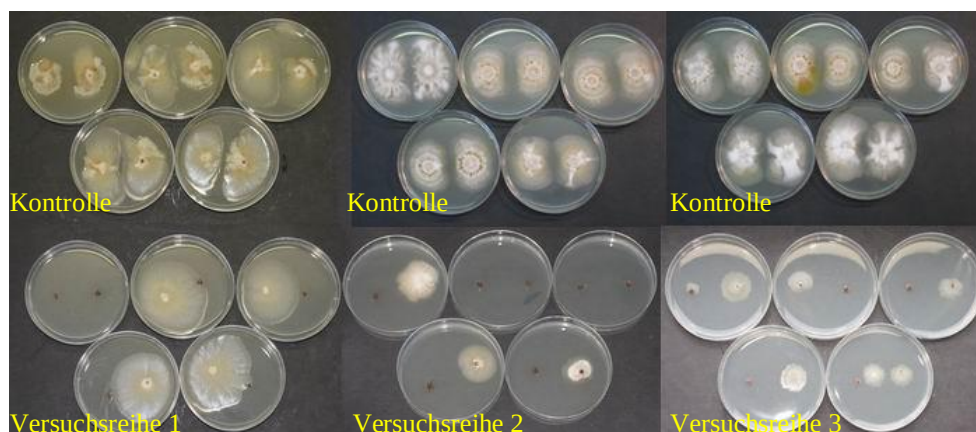


Abbildung 41: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

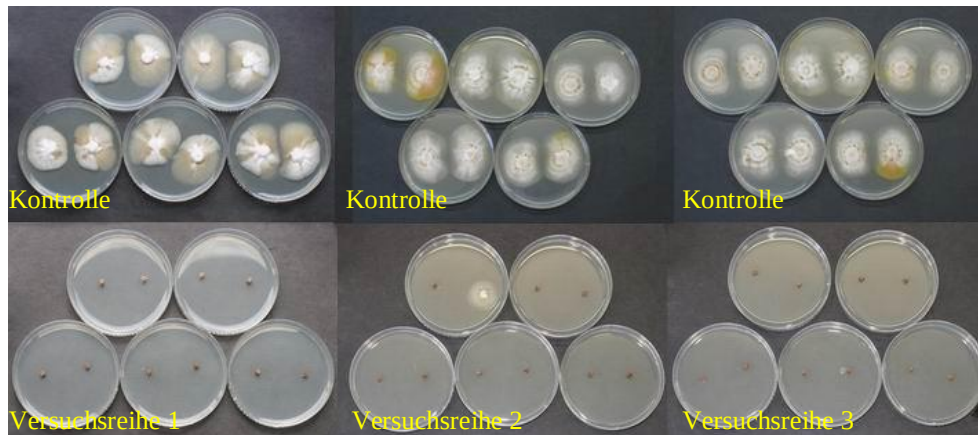


Abbildung 42: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

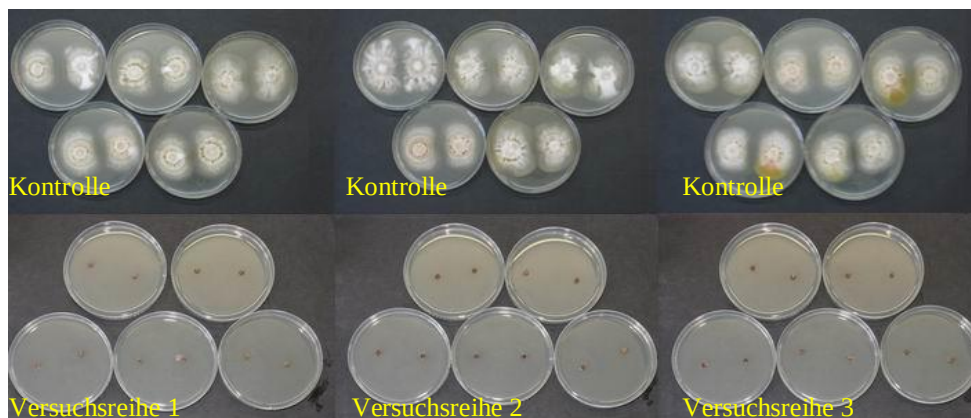
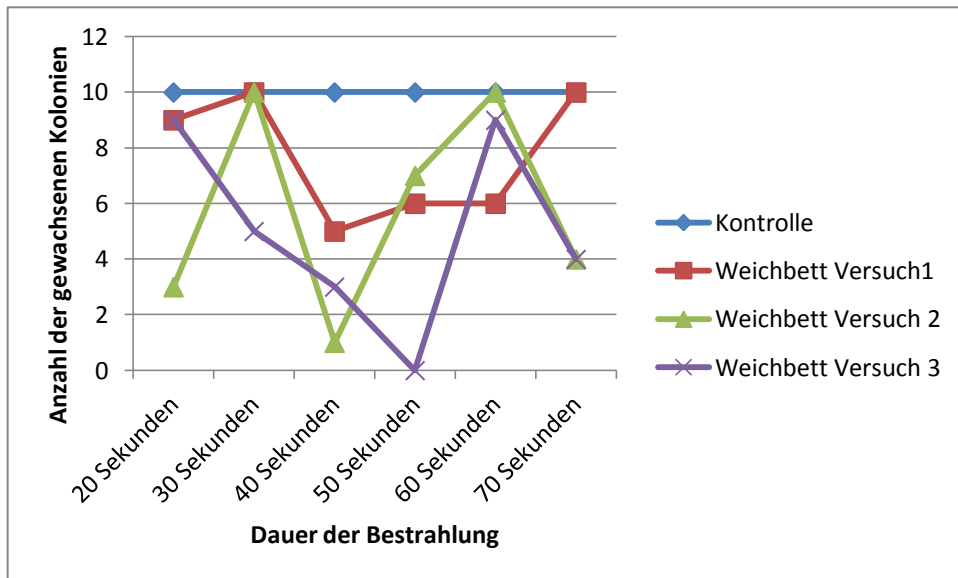


Abbildung 43: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

3.8.4. *Trichophyton interdigitale*

3.8.4.1. Weichbettschuheinlage

Nach der Bestrahlung mit 240 Watt sind nach 20 Sekunden noch 21 Kolonien (Wachstumshemmung=30%), nach 30 Sekunden 25 Kolonien (Wachstumshemmung=16,7%), nach 40 Sekunden 9 Kolonien (Wachstumshemmung=70%), nach 50 Sekunden 13 Kolonien (Wachstumshemmung=56,7%) und nach 60 Sekunden 25 Kolonien (Wachstumshemmung=16,7%) sowie nach 70 Sekunden 18 Kolonien von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung=40%) (Graphik 10 und Abbildungen 44 - 49). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden war 35°C. Bei der Bestrahlung über 40 Sekunden lag die Maximaltemperatur bei 45°C und bei den Bestrahlungen über 50 bis 70 Sekunden betrug sie jeweils 50°C.



Graphik 10: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton interdigitale* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

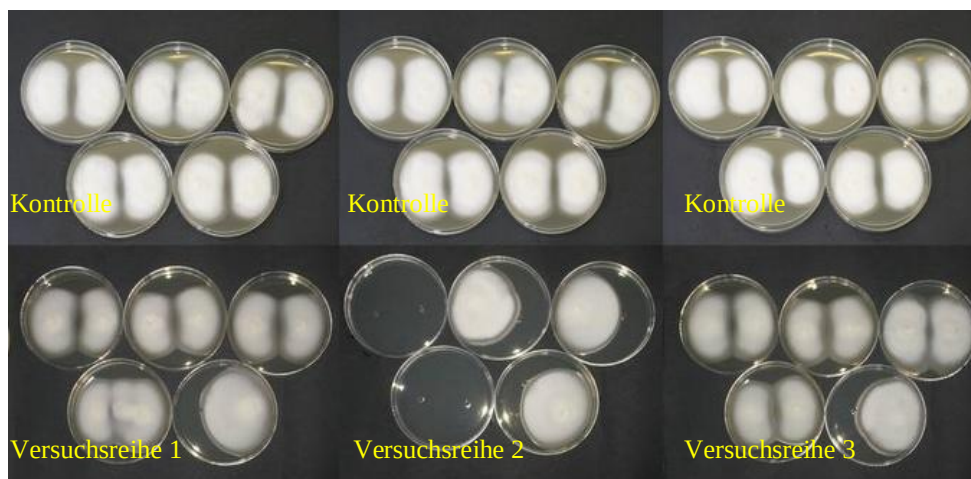


Abbildung 44: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

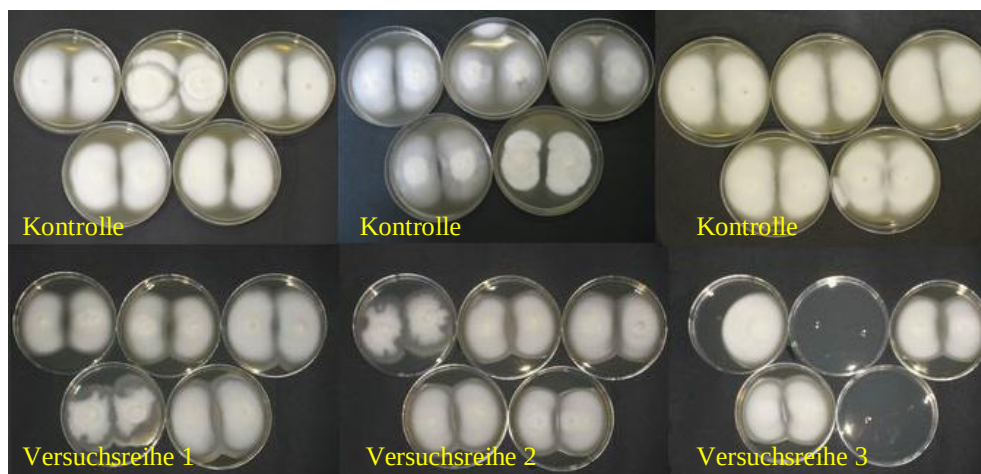


Abbildung 45: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

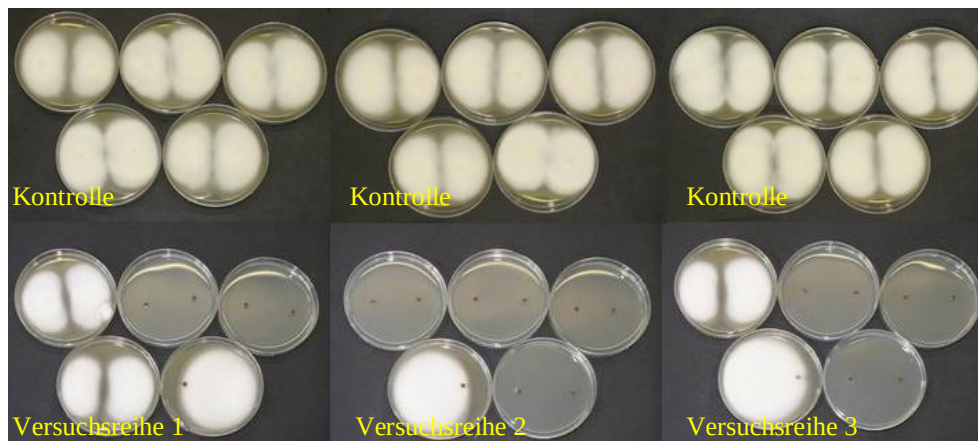


Abbildung 46: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

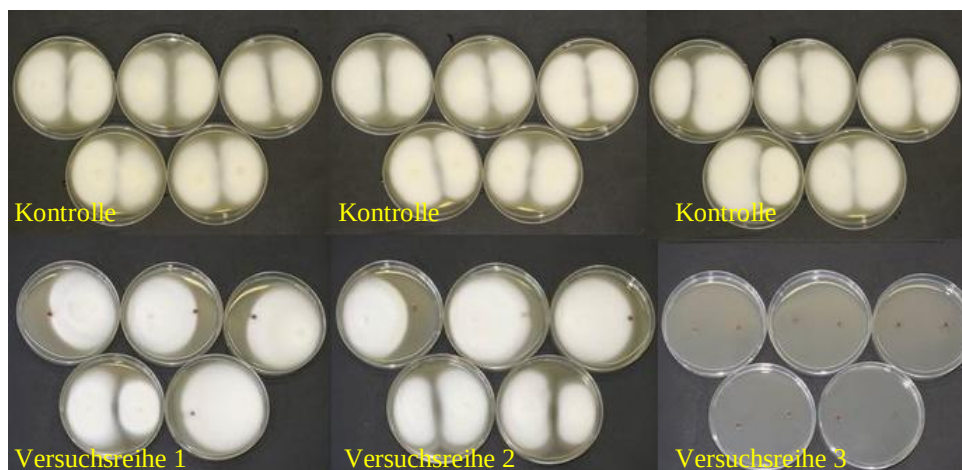


Abbildung 47: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 240W

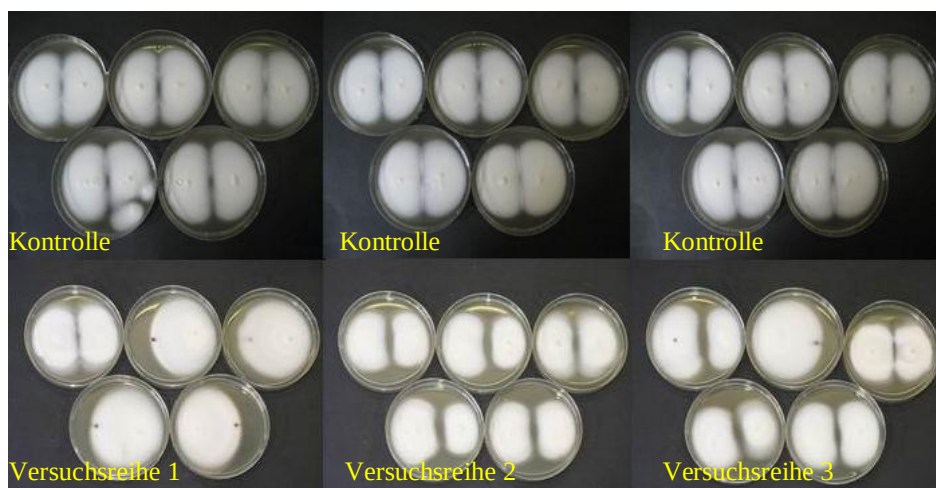


Abbildung 48: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 60 Sekunden Bestrahlung mit 240W

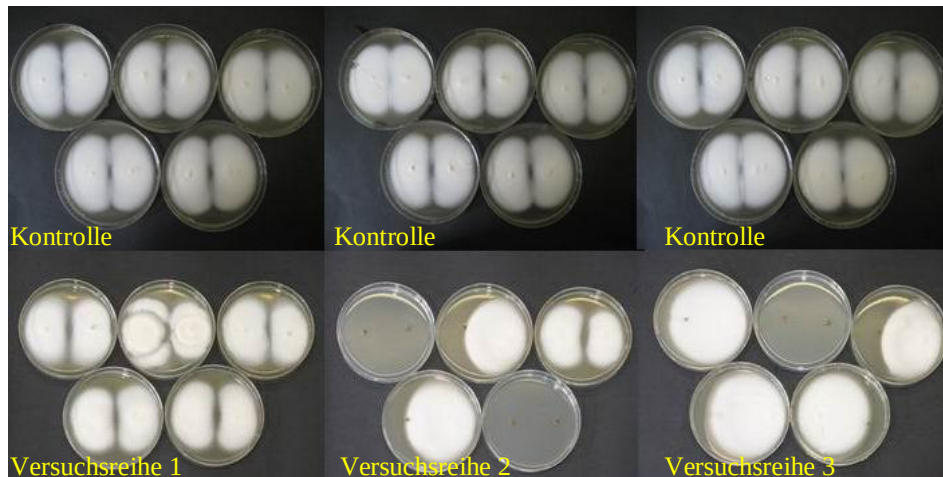
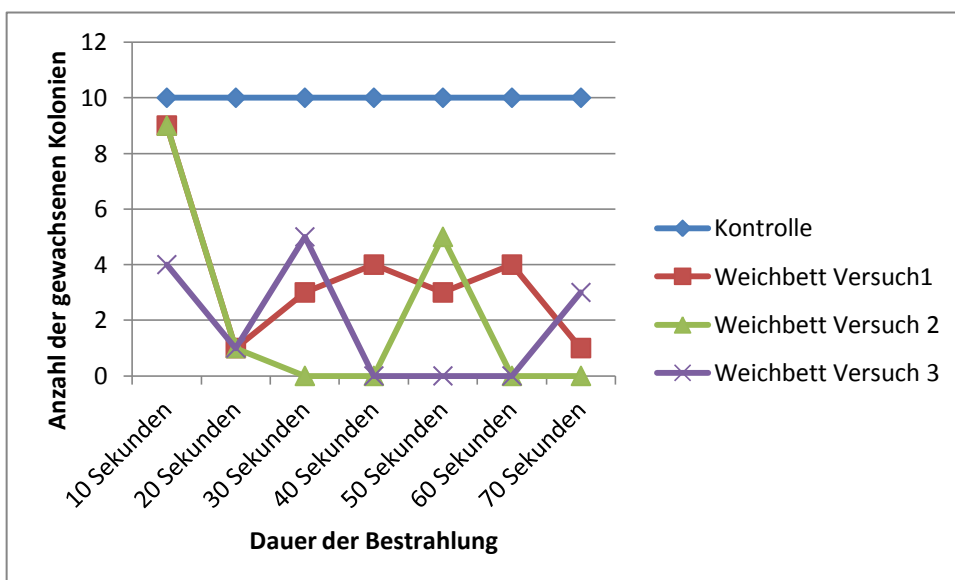


Abbildung 49: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 70 Sekunden Bestrahlung mit 240W

Mit 400 Watt zeigte sich eine Wachstumshemmung von 26,7% nach der Bestrahlung über 10 Sekunden, 90% nach 20 Sekunden, 73,3% nach 30 Sekunden, 86,7% nach 40 Sekunden und 73,3% nach 50 Sekunden sowie 86,7% nach 60 und 70 Sekunden (Graphik 11 und Abbildung 50 - 56). Die maximal erreichte Temperatur bei einer Bestrahlung über 10 Sekunden war 40°C, bei 20 und 30 Sekunden lag sie jeweils bei 45°C. Bei der Bestrahlung über 40 Sekunden betrug die Maximaltemperatur 50°C und über 50 bis 70 Sekunden lag sie bei 55°C.



Graphik 11: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton interdigitale* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 400W

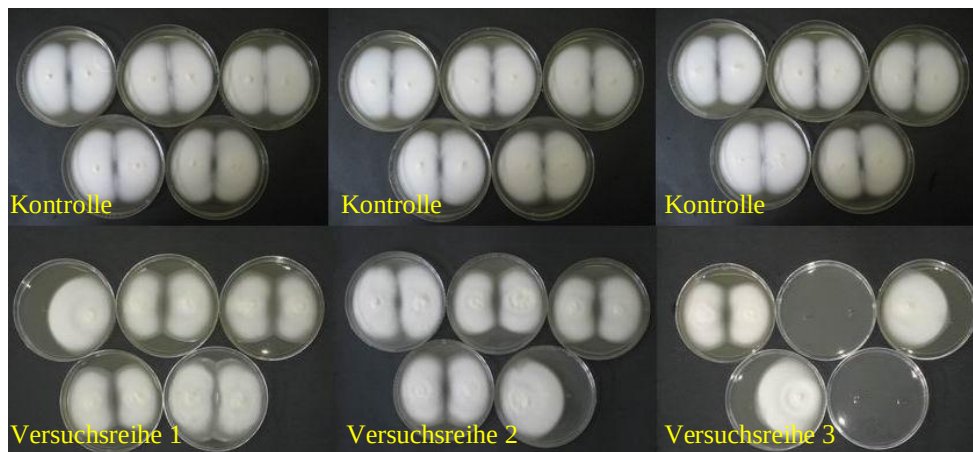


Abbildung 50: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 400W

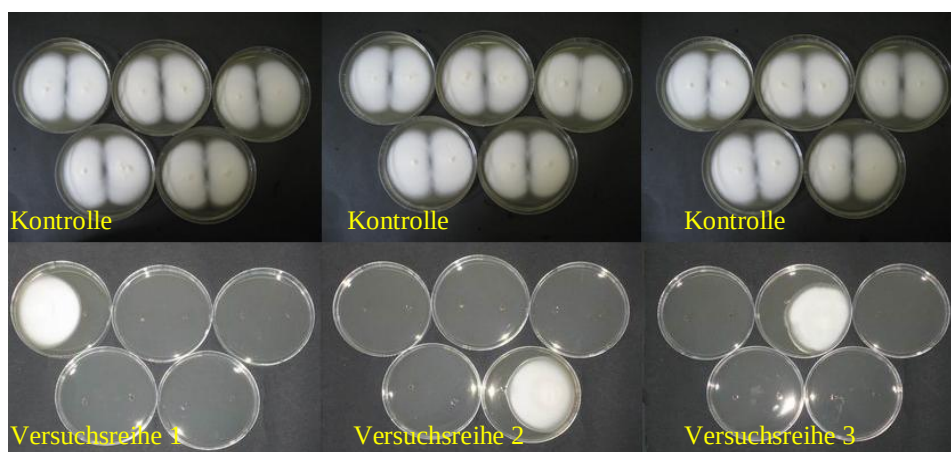


Abbildung 51: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 400W

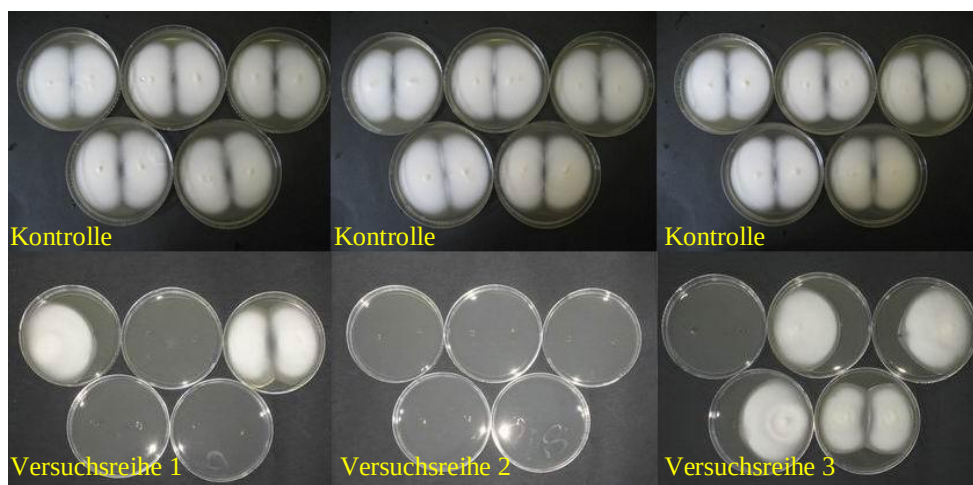


Abbildung 52: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 400W

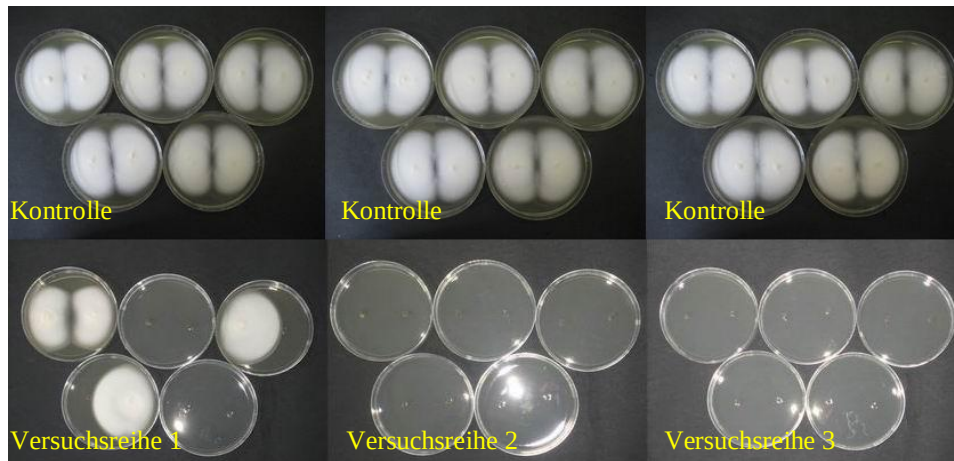


Abbildung 53: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 400W

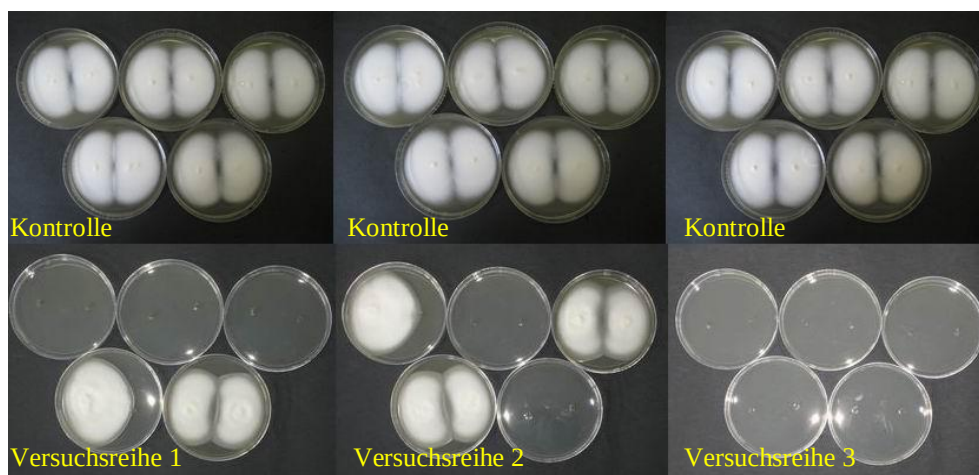


Abbildung 54: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 400W

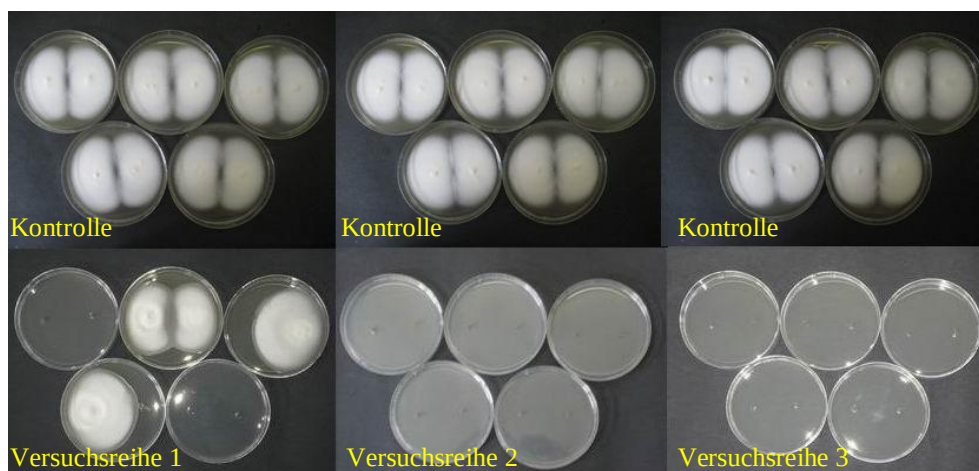


Abbildung 55: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 60 Sekunden Bestrahlung mit 400W

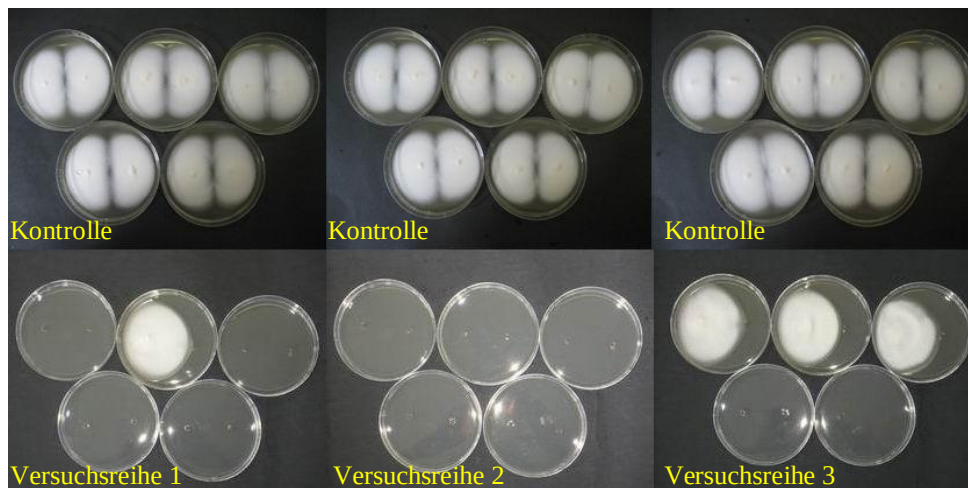
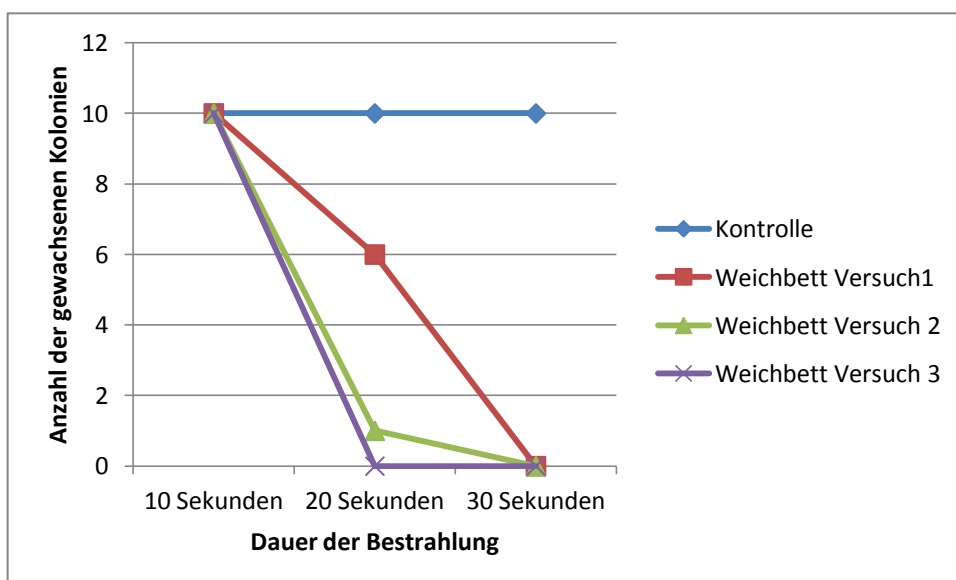


Abbildung 56: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 70 Sekunden Bestrahlung mit 400W

Nach einer Bestrahlung über 10 Sekunden mit 560 Watt zeigte sich keinerlei Wachstumshemmung. Nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 560 Watt sind 7 von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung 76,7%). Eine komplette Wachstumshemmung wird nach 30 Sekunden Bestrahlung bei 560 Watt erreicht (Graphik 12 und Abbildungen 57 - 59). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 10 Sekunden war 55°C. Bei der Bestrahlung über 20 Sekunden lag sie ebenfalls bei 55°C und über 30 Sekunden betrug sie 60°C.



Graphik 12: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton interdigitale* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 560W

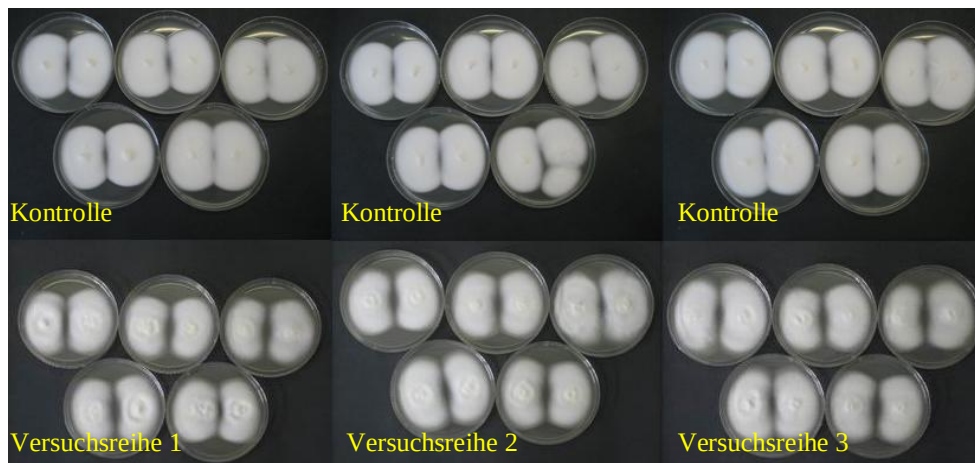


Abbildung 57: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 560W

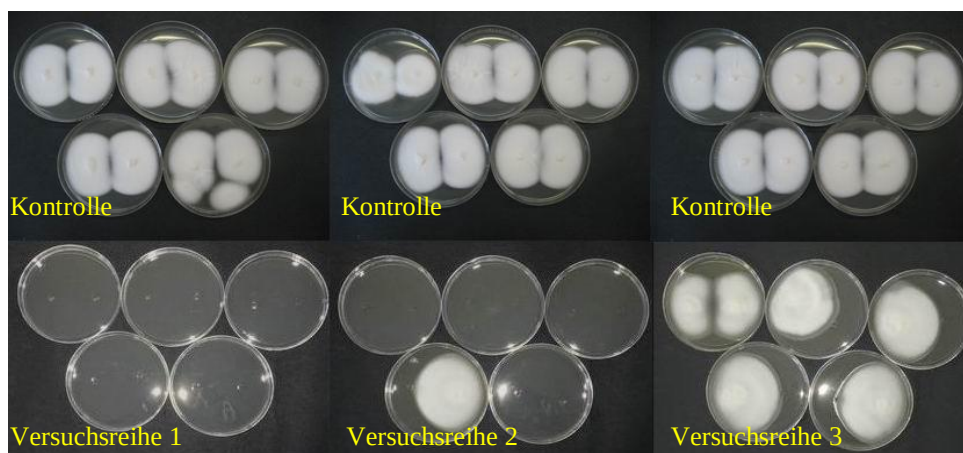


Abbildung 58: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 560W

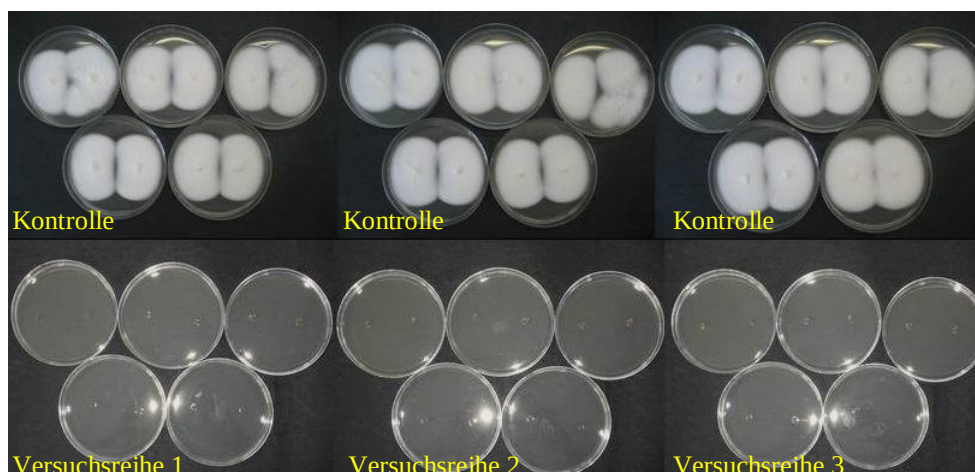
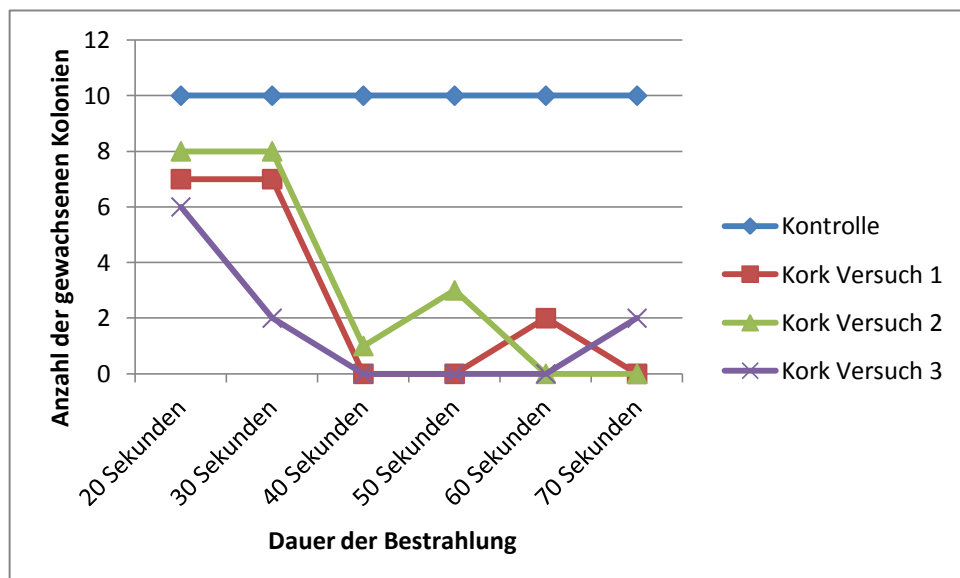


Abbildung 59: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

3.8.4.2. Korkschuheinlage

Nach einer Bestrahlung bei 240 Watt sind nach 20 Sekunden noch 21 Kolonien (Wachstumshemmung= 30%), nach 30 Sekunden 17 Kolonien (Wachstumshemmung= 43,3%), nach 40 Sekunden 1 Kolonien (Wachstumshemmung= 96,7%), nach 50 Sekunden 3 Kolonien (Wachstumshemmung= 90%) und nach 60 Sekunden sowie nach 70 Sekunden 2 Kolonien von 30 Kolonien gewachsen (Wachstumshemmung= 93,3%). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden war 30°C, bei der Bestrahlung über 40 bis 70 Sekunden betrug sie 50°C (Graphik 13 und Abbildungen 60 - 66).



Graphik 13: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton interdigitale* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 240W

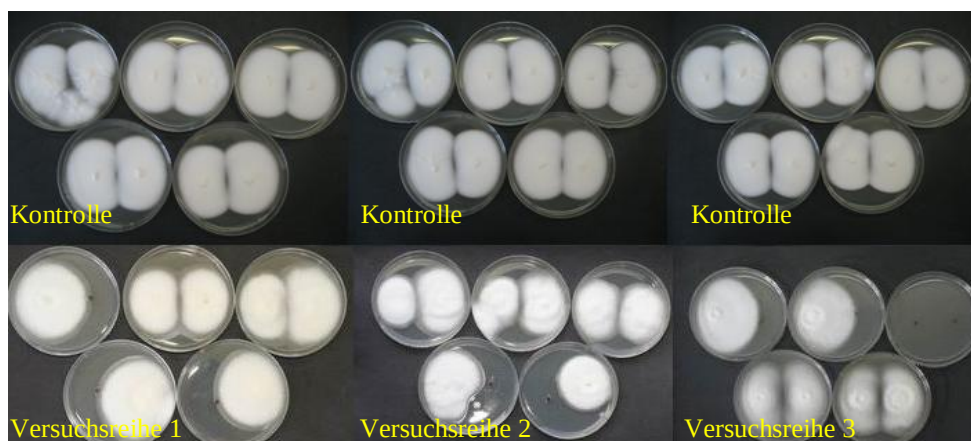


Abbildung 60: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 240W

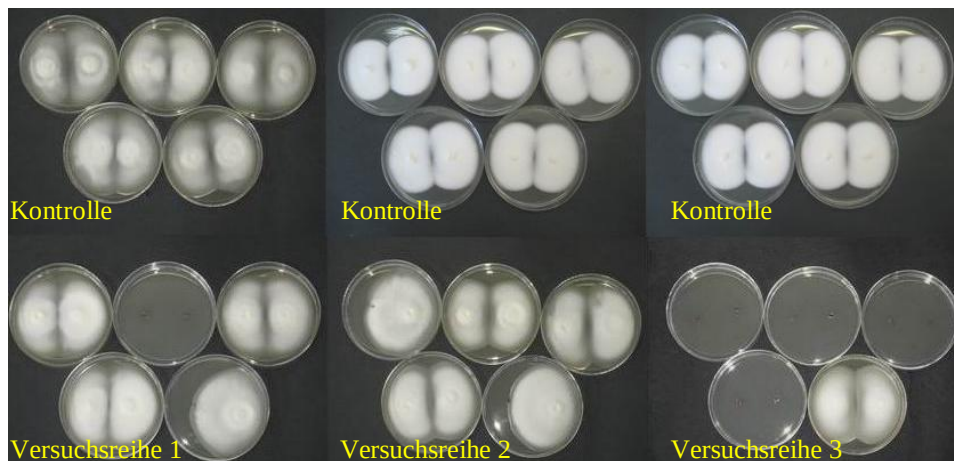


Abbildung 61: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 240W

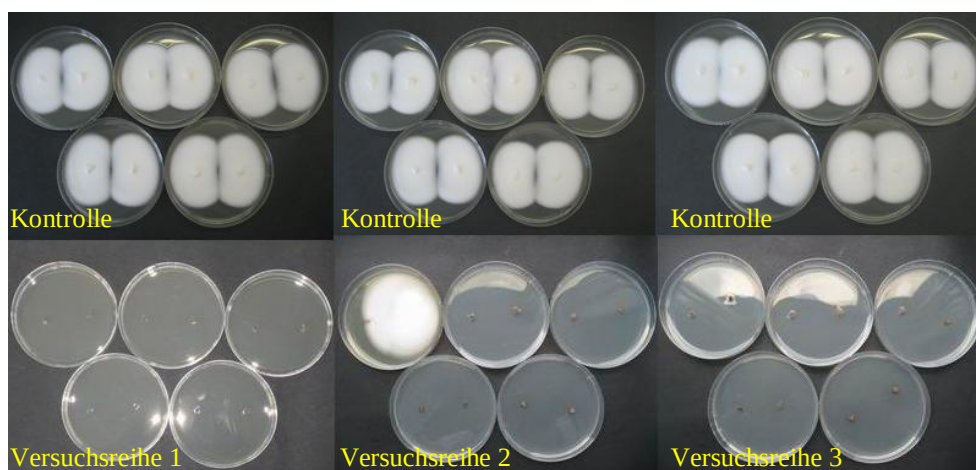


Abbildung 62: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 240W

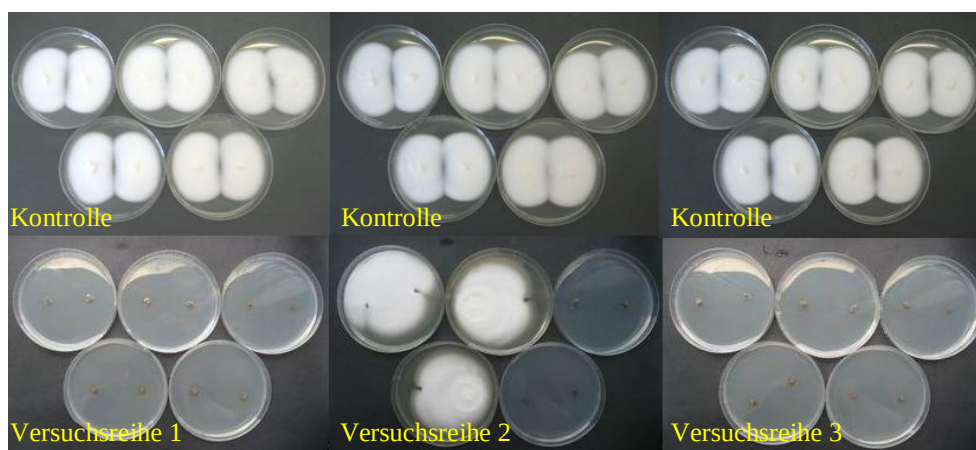


Abbildung 63: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 240W

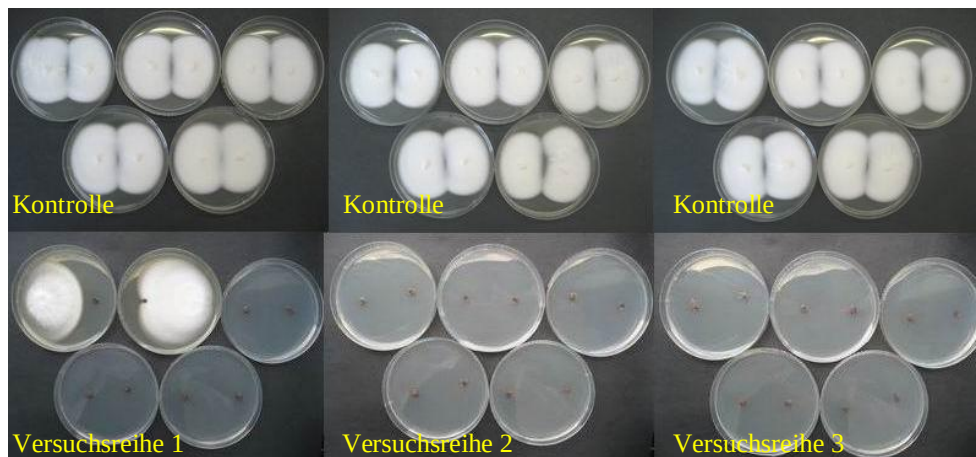


Abbildung 64: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 60 Sekunden Bestrahlung mit 240W

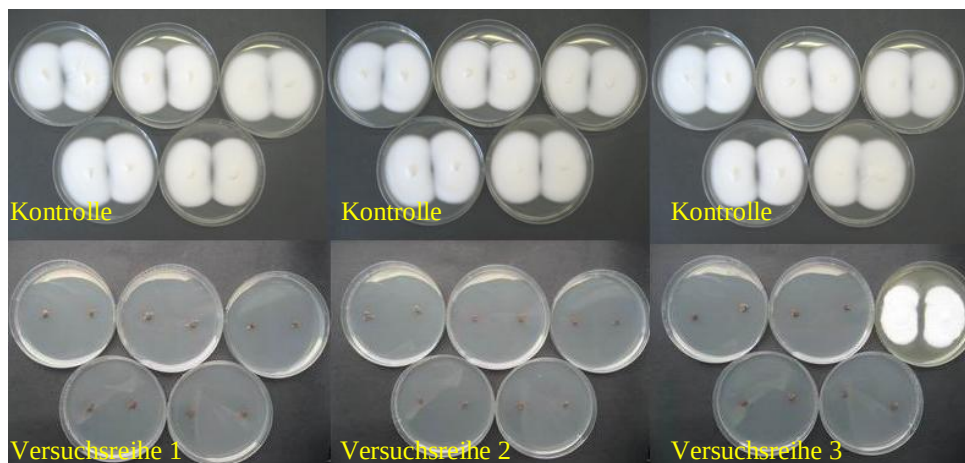
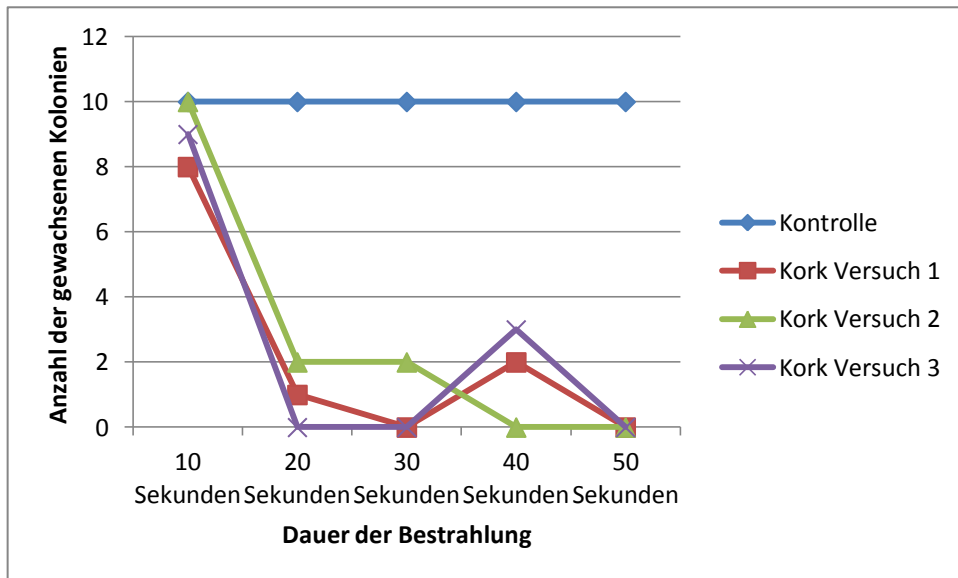


Abbildung 65: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 70 Sekunden Bestrahlung mit 240W

Mit 400 Watt zeigte sich eine Wachstumshemmung von 10% nach einer Bestrahlung über 10 Sekunden, 90% nach 20 Sekunden, 93,3% nach 30 Sekunden und 83,3% nach 40 Sekunden. Eine komplette Wachstumshemmung wurde nach einer Bestrahlung über 50 Sekunden erreicht (Graphik 14 und Abbildungen 66 - 70). Die maximal erreichte Temperatur bei der Bestrahlung über 10 bis 30 Sekunden war 45°C. Bei der Bestrahlung über 40 Sekunden lag sie bei 50°C und bei der Bestrahlung über 50 Sekunden betrug sie 55°C.



Graphik 14: Anzahl der gewachsenen *Trichophyton interdigitale* Kolonien nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern mit 400W

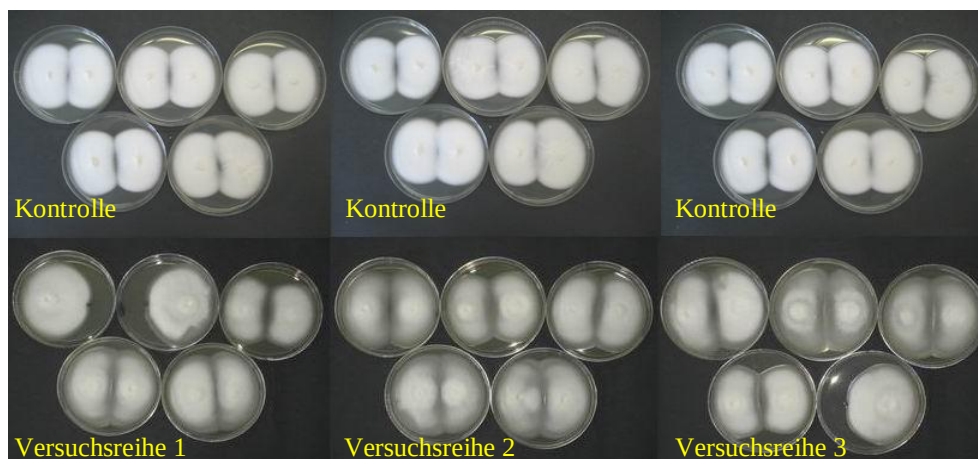


Abbildung 66: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 10 Sekunden Bestrahlung mit 400W

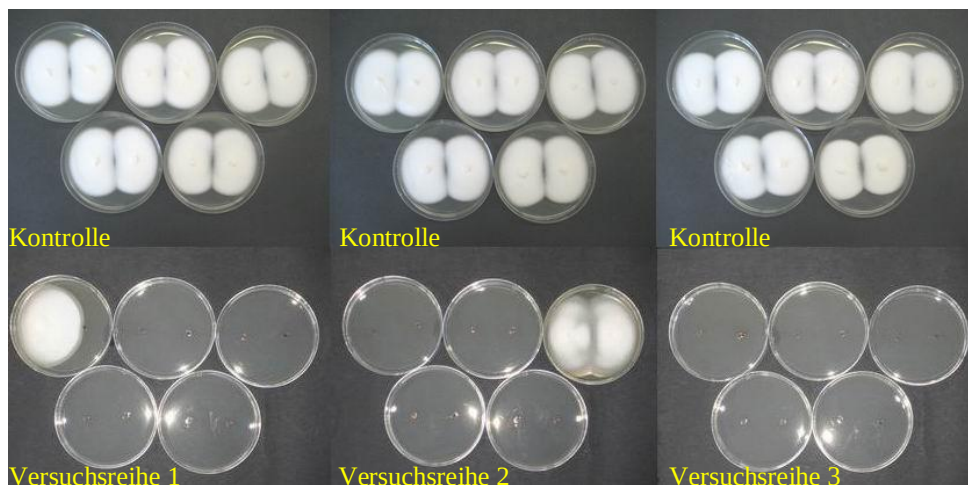


Abbildung 67: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 20 Sekunden Bestrahlung mit 400W

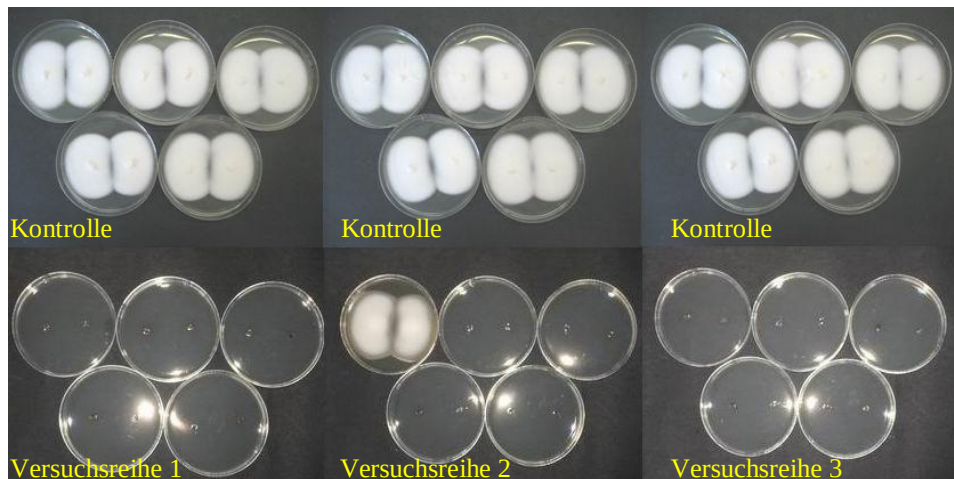


Abbildung 68: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 400W

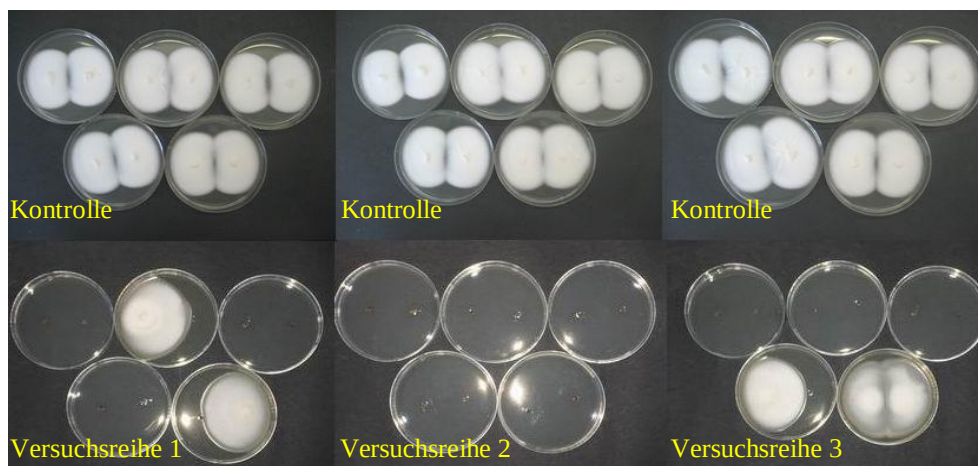


Abbildung 69: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 40 Sekunden Bestrahlung mit 400W

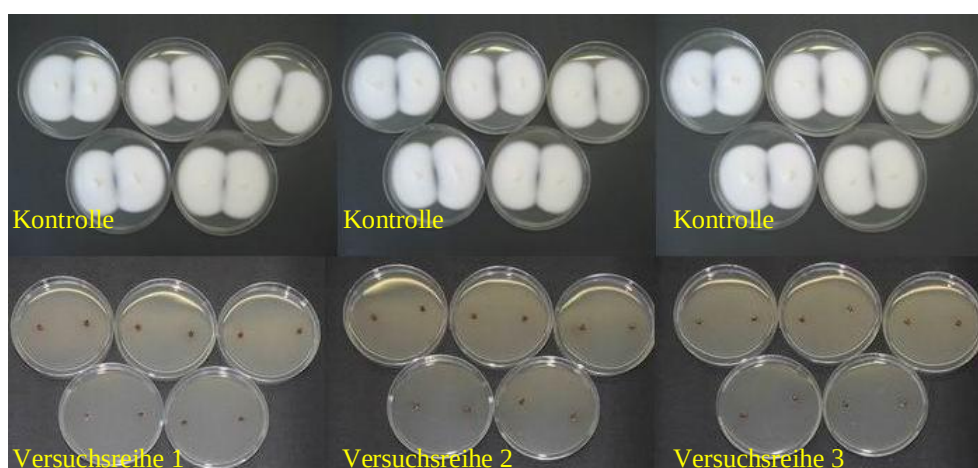


Abbildung 70: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3 nach 50 Sekunden Bestrahlung mit 400W

In einer Anschlussuntersuchung (Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560 Watt) zeigte sich in allen Fällen eine komplette Wachstumshemmung (Tabelle 3, Abbildungen 71 - 78). Die maximal erreichte Temperatur betrug dabei 60°C.

		T	V1	V2	V3
<i>Trichophyton rubrum</i>	Kontrolle		10	10	10
	Weichbett	60	0	0	0
	Kontrolle		10	10	10
	Kork	60	0	0	0
<i>Trichophyton rubrum olexa</i>	Kontrolle		10	10	10
	Weichbett	60	0	0	0
	Kontrolle		10	10	10
	Kork	60	0	0	0
<i>Trichophyton interdigitale</i>	Kontrolle		10	10	10
	Weichbett	60	0	0	0
	Kontrolle		10	10	10
	Kork	60	0	0	0
<i>Microsporum canis</i>	Kontrolle		10	10	10
	Weichbett	60	0	0	0
	Kontrolle		10	10	10
	Kork	60	0	0	0

T: Maximal erreichte Temperatur nach der Bestrahlung (in °C)

V1-3: Anzahl der gewachsenen Kolonien in jeder Versuchsreihe nach 21 Tagen Inkubation; 10=100%

Tabelle 3: Anzahl der gewachsenen Kolonien nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden mit 560W

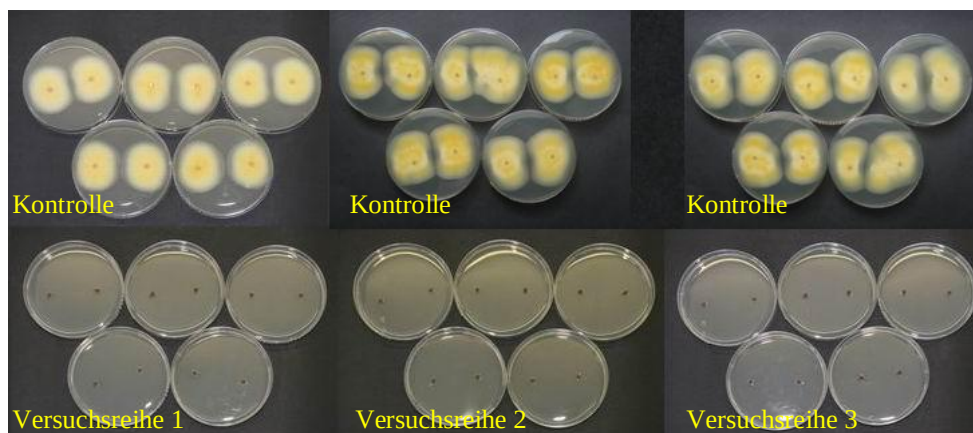


Abbildung 71: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton rubrum*, Weichbettschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

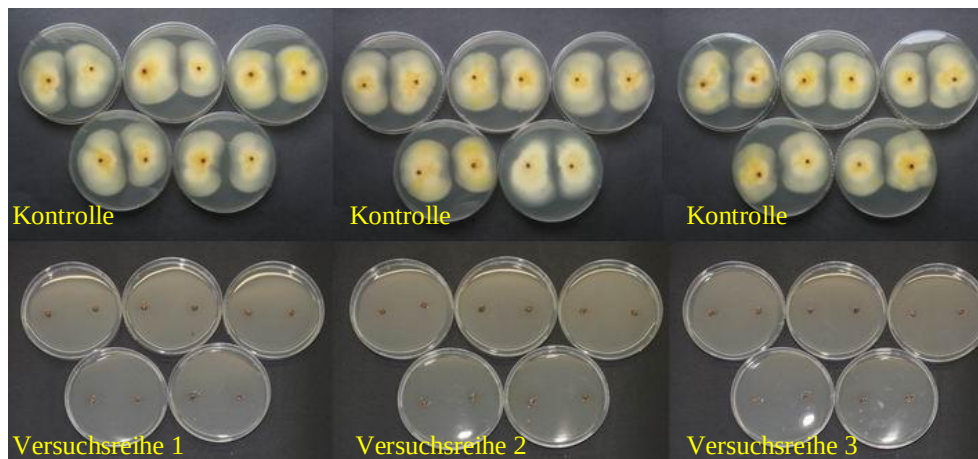


Abbildung 72: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton rubrum*, Korkschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

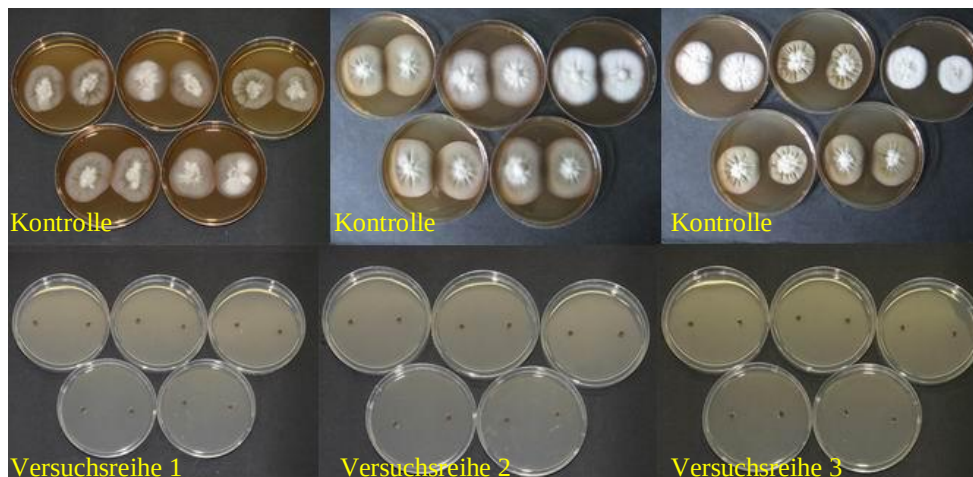


Abbildung 73: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton rubrum olexa*, Weichbettschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

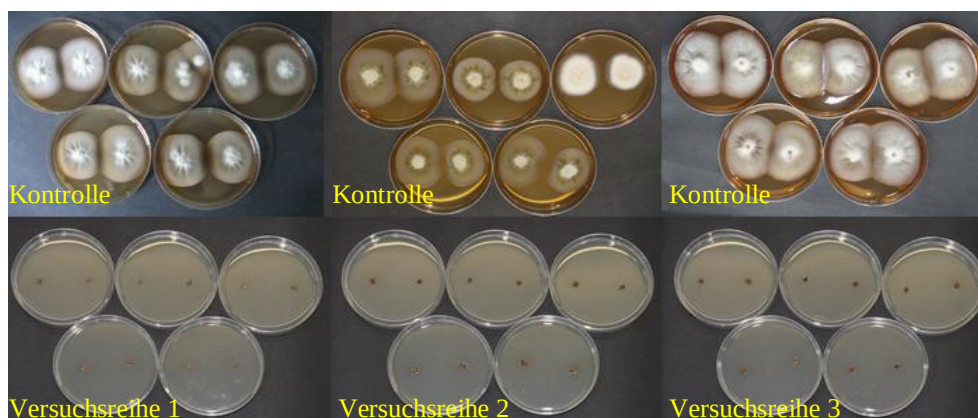


Abbildung 74: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton rubrum olexa*, Korkschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

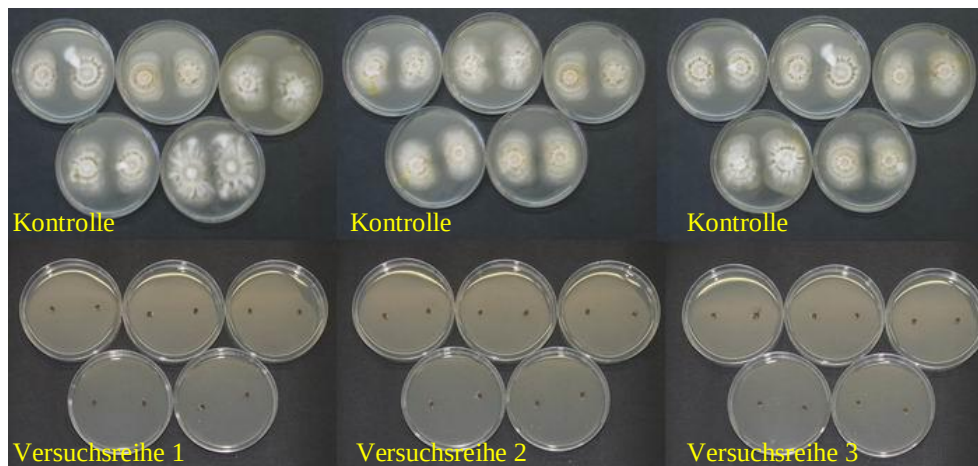


Abbildung 75: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Microsporum canis*, Weichbettschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

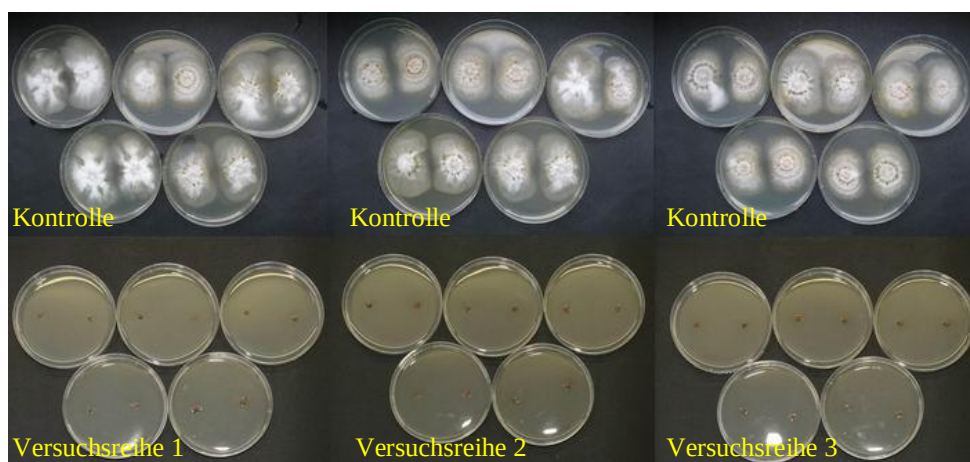


Abbildung 76: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Microsporum canis*, Korkschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

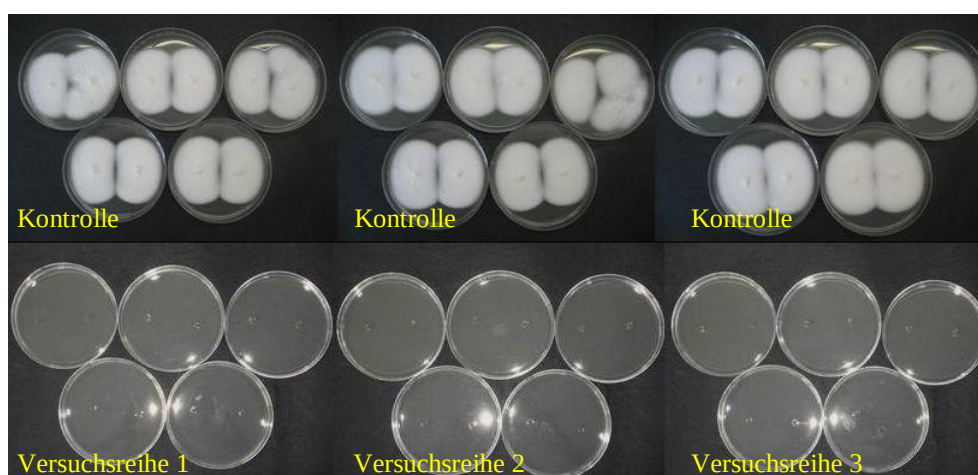


Abbildung 77: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton interdigitale*, Weichbettschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560W

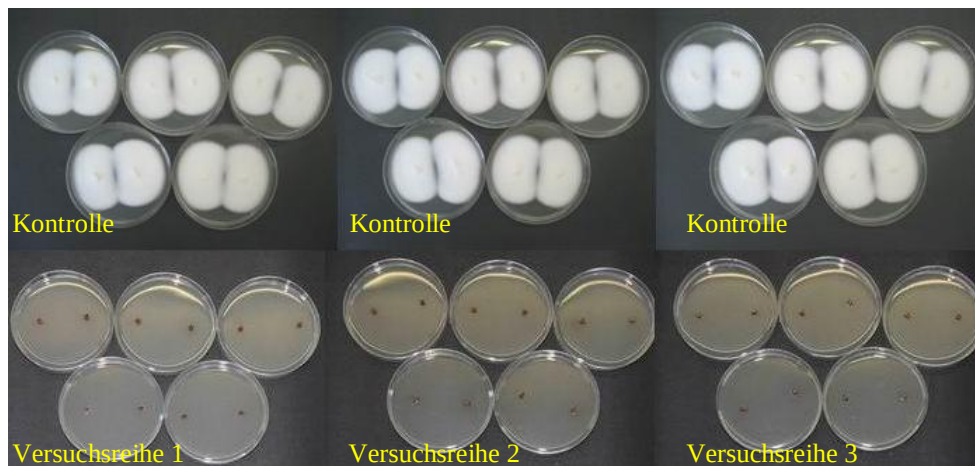
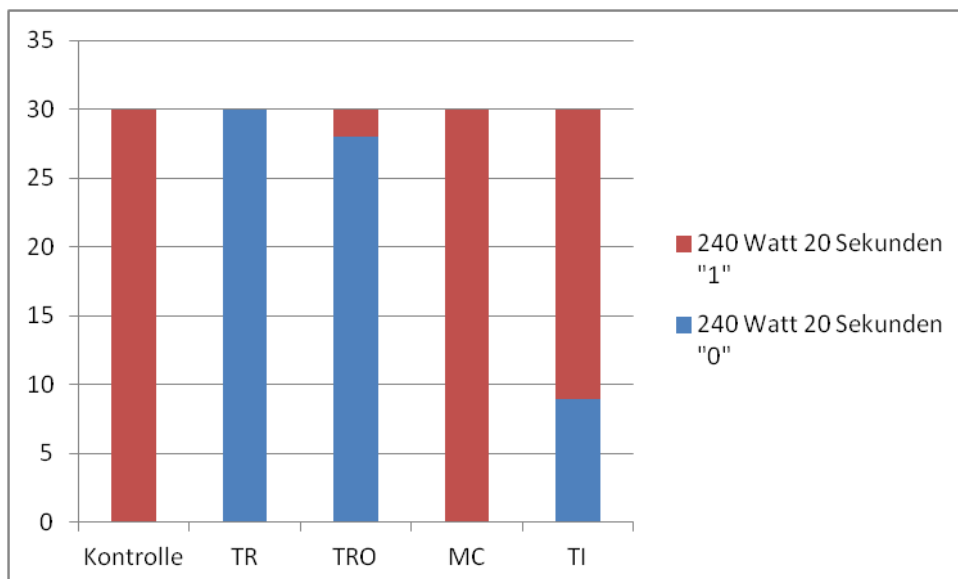


Abbildung 78: Kontroll- und Versuchsreihe 1 bis 3, *Trichophyton interdigitale*, Korkschuheinlage, nach 30 Sekunden Bestrahlung mit 560 W

3.9. Unterschiede zwischen den verschiedenen Dermatophyten bei verschiedener Dauer und Intensität der Bestrahlung

3.9.1. Weichbettsschuheinlage



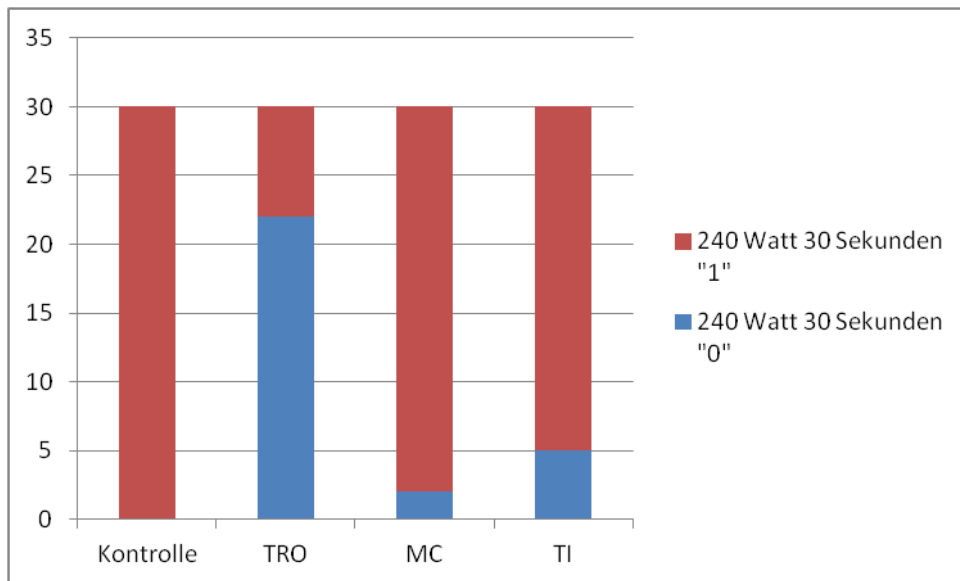
0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 15: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 20 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung von mit verschiedenen Dermatophyten infizierten Weichbettsschuheinlagen über 20 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum* keine Kolonien gewachsen sind. Bei *Trichophyton*

rubrum olexa sind 2, bei *Microsporum canis* sind 30 und bei *Trichophyton interdigitale* sind 21 Kolonien gewachsen (Graphik 15). Ein Vergleich der vier verschiedenen Dermatophyten mittels Chi²-Test ergab einen *p*-Wert von 0,000 (hoch signifikant).



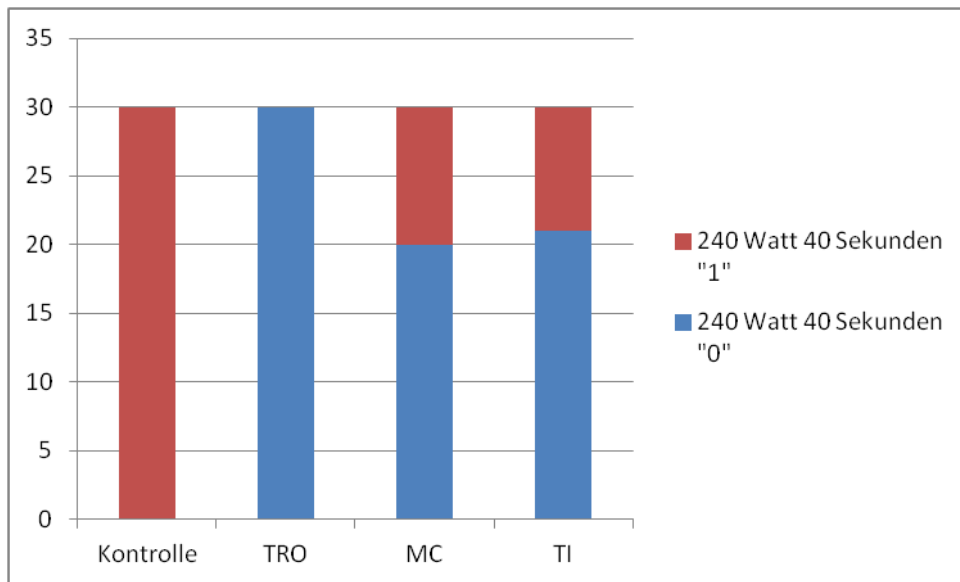
0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 16: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum olexa* 8, bei *Microsporum canis* 28 und bei *Trichophyton interdigitale* 25 Kolonien gewachsen sind (Graphik 16). Ein Vergleich der drei verschiedenen Dermatophyten ergab einen *p*-Wert von 0,000 (hoch signifikant).

Nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum olexa* keine Kolonien gewachsen sind. Bei *Microsporum canis* sind 10 und bei *Trichophyton interdigitale* sind 9 Kolonien gewachsen (Graphik 17). Ein Vergleich der drei verschiedenen Dermatophyten ergab einen *p*-Wert von 0,002 (signifikant).

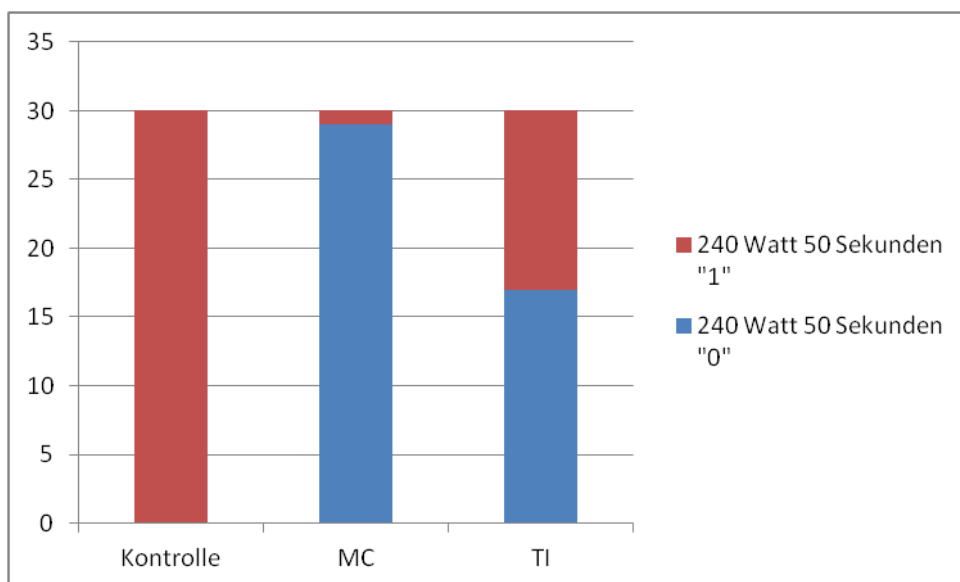


0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 17: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung über 50 Sekunden bei 240 Watt ist 1 Kolonie bei *Microsporum canis* und 13 Kolonien bei *Trichophyton interdigitale* gewachsen (Graphik 18).

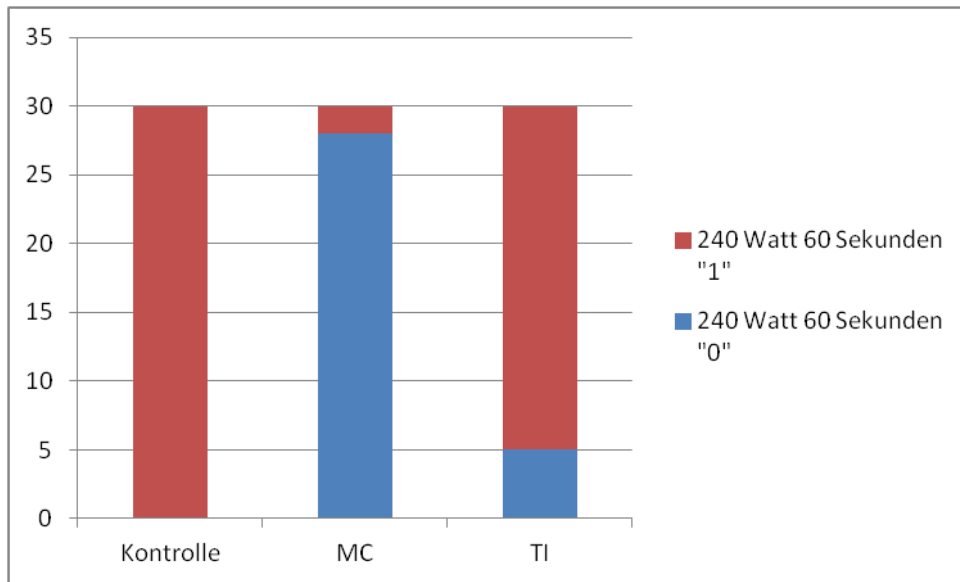


0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 18: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 50 Sekunden bei 240W

Desweiteren sind nach der Bestrahlung über 60 Sekunden bei 240 Watt 2 Kolonien bei *Microsporum canis* und 25 Kolonien bei *Trichophyton interdigitale* gewachsen (Graphik 19). Ein Vergleich der beiden verschiedenen Dermatophyten ergab einen p -Wert von 0,000 (hoch signifikant).

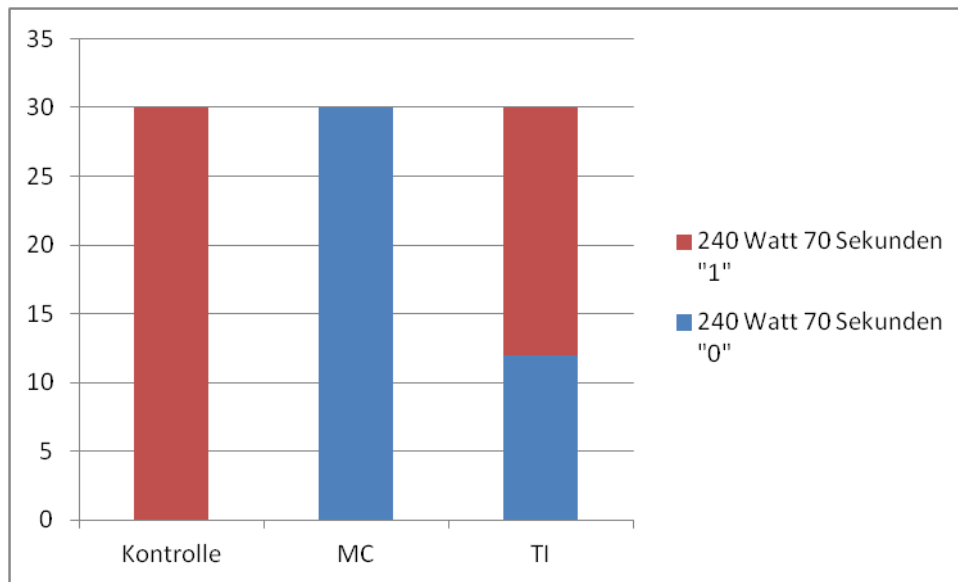


0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 19: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 60 Sekunden bei 240W

Zuletzt wurde die Bestrahlung über 70 Sekunden bei 240 Watt durchgeführt. Es zeigte sich bei *Microsporum canis* kein Kolonienwachstum und bei *Trichophyton interdigitale* sind hingegen 18 Kolonien gewachsen (Graphik 20). Ein Vergleich der beiden verschiedenen Dermatophyten ergab einen p -Wert von 0,000 (hoch signifikant).



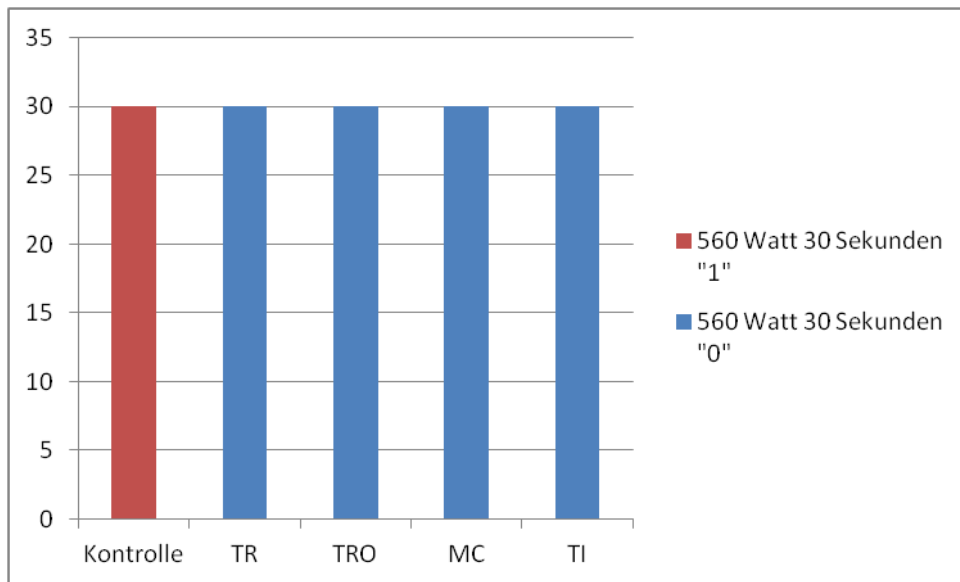
0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 20: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 70 Sekunden bei 240W

Ein weiterer Vergleich der Pilzstämme bei höheren Bestrahlungsintensitäten und längeren Bestrahlungsdauer erübrigt sich, da nur noch Kolonie des *Trichophyton interdigitale* gewachsen sind.

Bei der Anschlussuntersuchung über 30 Sekunden bei 560 Watt zeigte sich bei allen Dermatophyten kein Koloniewachstum (Graphik 21). Es zeigte sich kein Unterschied zwischen den vier verschiedenen Dermatophyten.



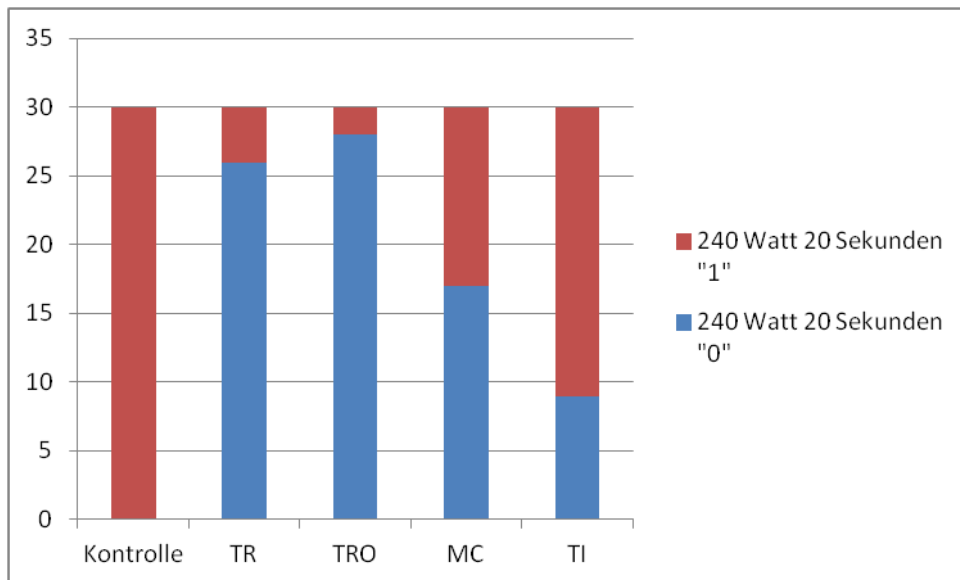
0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 21: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560W

Durch die Vergleiche der verschiedenen Dermatophyten innerhalb gleicher Bestrahlungsdauer und -intensität kann man feststellen, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Dermatophyten bei Weichbettschuheinlagen gibt. Während der *Trichophyton rubrum* schon bei kurzer Bestrahlung vollständig in seinem Wachstum gehemmt wird, ist *Microsporum canis* bei Bestrahlungen von über 40 Sekunden noch zum Teil wachstumsfähig, wohingegen *Trichophyton interdigitale* sogar noch nach 70 Sekunden Bestrahlung in über der Hälfte der Fälle wachstumsfähig war. Fazit: Eine Bestrahlung mit 240 Watt ist auch über 70 Sekunden keine Garantie für eine pilzfreie Schuheinlage. Erst nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560 Watt sind alle Dermatophyten auf den Weichbettschuheinlagen zu 100% wachstumsgehemmt. Die maximal erreichte Temperatur betrug hierbei 60°C.

3.9.2. Korkschuheinlage

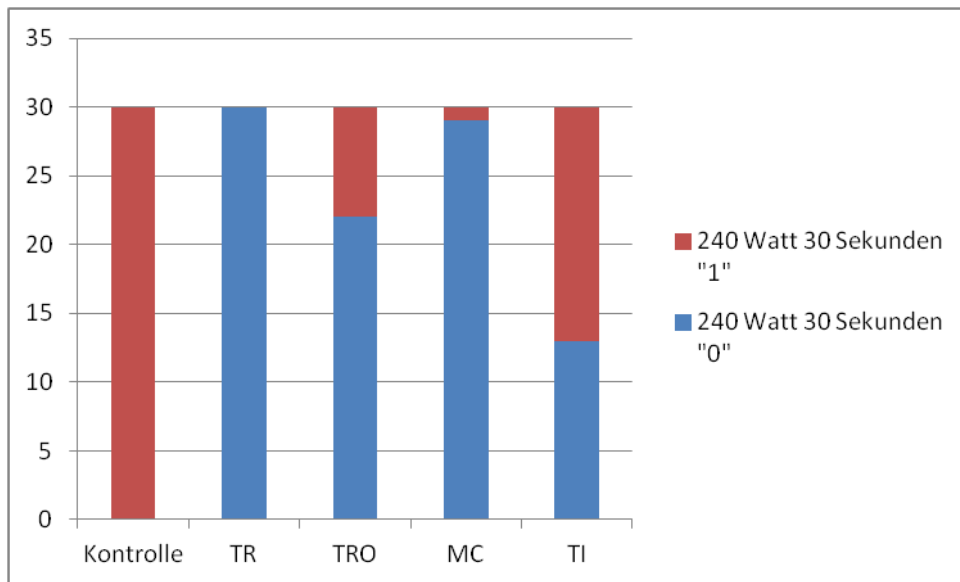


0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 22: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 20 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung von mit verschiedenen Dermatophyten infizierten Korkschuheinlagen über 20 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum* 4 Kolonien gewachsen sind. Bei *Trichophyton rubrum olexa* sind 2, bei *Microsporum canis* sind 13 und bei *Trichophyton interdigitale* sind 21 Kolonien gewachsen (Graphik 22). Ein Vergleich der vier verschiedenen Dermatophyten mittels Chi²-Test ergab einen *p*-Wert von 0,000 (hoch signifikant).



0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

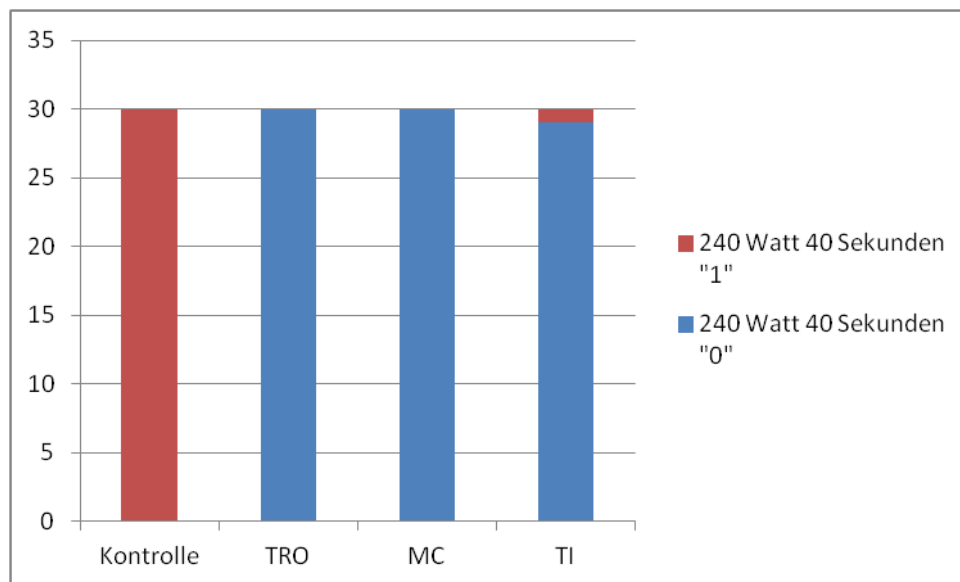
1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 23: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum* keine Kolonien gewachsen sind. Bei *Trichophyton rubrum olexa* sind 8, bei *Microsporum canis* ist 1 und bei *Trichophyton interdigitale* sind 17 Kolonien gewachsen (Graphik 23). Ein Vergleich der vier verschiedenen Dermatophyten ergab einen p -Wert von 0,000 (hoch signifikant).

Nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt konnte festgestellt werden, dass bei *Trichophyton rubrum olexa* und *Microsporum canis* keine Kolonien gewachsen sind. Bei *Trichophyton interdigitale* ist 1 Kolonie gewachsen (Graphik 24). Ein Vergleich der vier verschiedenen Dermatophyten ergab einen p -Wert von 0,364 (nicht signifikant).

Ein weiterer Vergleich der Pilzstämme bei höheren Bestrahlungsintensitäten und längeren Bestrahlungsdauer erübrigt sich, da nur noch Kolonie des *Trichophyton interdigitale* gewachsen sind.

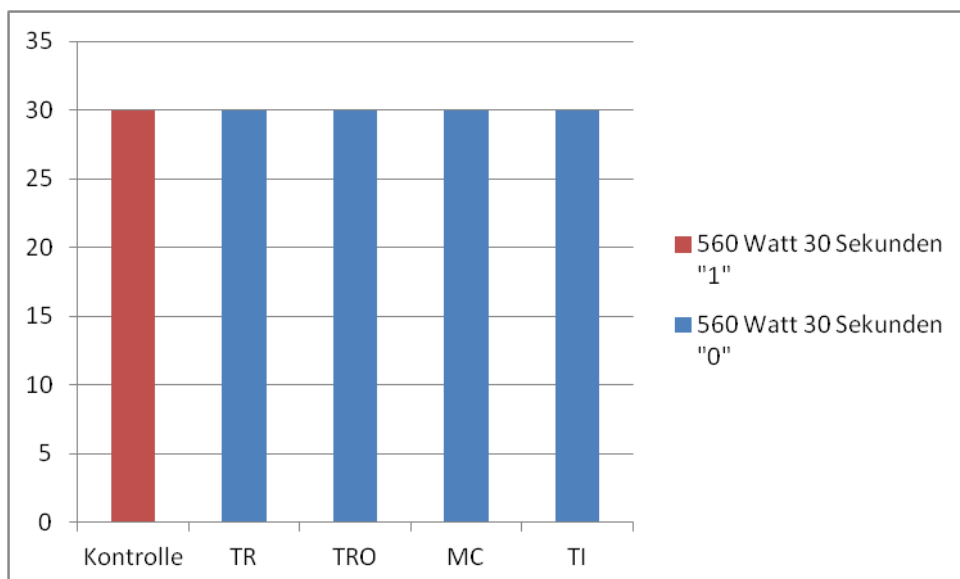


0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 24: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240W

Nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560 Watt in den Anschlussuntersuchungen zeigte sich bei allen Dermatophyten kein Koloniewachstum (Graphik 25). Es zeigte sich kein Unterschied zwischen den vier verschiedenen Dermatophyten.



0: Nicht gewachsene Dermatophyten-Kolonien

1: Gewachsene Dermatophyten-Kolonien

Graphik 25: Graphische Darstellung des Koloniewachstums verschiedener Dermatophyten nach der Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560W

Durch die Vergleiche der verschiedenen Dermatophyten innerhalb gleicher Bestrahlungsdauer und -intensität kann man feststellen, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Dermatophyten bei Korkschuheinlagen nach einer Bestrahlung über 20 und 30 Sekunden bei 240 Watt gibt. Nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt gibt es keinen signifikanten Unterschied mehr. Während *Trichophyton rubrum* schon nach 30 Sekunden Bestrahlung vollständig in seinem Wachstum gehemmt wird, zeigen *Microsporum canis* und *Trichophyton rubrum olexa* erst bei Bestrahlungen von 40 Sekunden eine komplette Wachstumshemmung. *Trichophyton interdigitale* zeigt weiterhin Wachstum nach Bestrahlung über 40 Sekunden. Die komplette Wachstumshemmung für alle Dermatophyten tritt erst nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560 Watt ein. Fazit: Eine pilzfreie Schuheinlage kann erst nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden bei 560 Watt erreicht werden. Die maximal erreichte Temperatur betrug 60 °C.

4. DISKUSSION

Dermatomykosen sind sehr häufige Erkrankungen im klinischen Alltag und stellen somit ein Problem dar, mit dem sich insbesondere der Dermatologe täglich auseinandersetzen muss. Trotz der zahlreichen wirksamen Antimykotika, gegen die bisher keine Resistenzen vorliegen, ist die Inzidenz von Dermatomykosen, vor allem der *Tinea pedum* weltweit weiterhin steigend.

Eine der möglichen Ursachen ist die Zunahme der Haus- / Tierhaltung. Die Inzidenz von Dermatomykosen durch zoophile Dermatophyten ist in der letzten Zeit zunehmend. Budihardja et al. berichteten im Jahr 2010 über ein dyshydrosiformes Handekzem, welches durch *Trichophyton erinacei* bei einer Igelzüchterin hervorgerufen wurde. Ein solches wurde auch, durch *Microsporum praecox* verursacht, bei einer Reiterin beobachtet (Budihardja und Mayser 2011).

Eine weitere mögliche Ursache sind veränderte Freizeitgewohnheiten („Lifestyle“), da die Menschen immer mehr in Hotels übernachten sowie Saunen, Wellnessbäder und Schwimmbäder besuchen als früher. Durch diese Veränderungen des *Lifestyles* ist es heutzutage einfacher, eine Infektion mit *Tinea pedum* zu bekommen, da die Kontaktmöglichkeiten mit dem infektiösen Material häufiger gegeben sind.

Zum effizienten diagnostischen und therapeutischen Vorgehen bei *Tinea pedum* ist es entscheidend, den Übertragungsweg, der durch Dermatophyten verursachten Pilzkrankungen zu kennen. Die Übertragung erfolgt fast ausschließlich auf indirektem Wege: Die aus den Pilzherden stammenden infektiösen Hautschuppen, Haare und Nagelteile gelangen zunächst in die Umgebung des Kranken. Sie finden sich häufig in Strümpfen und Schuhen, in der Wäsche der Patienten sowie auf Fußböden. Diese stellen als kontaminiertes Material eine Übertragungsquelle dar, an der sich Gesunde unmittelbar infizieren können, in dem sie mit dem infektiösen Material in Berührung kommen und dieses an gesunder Haut haften bleibt (Abou-Gabal und Rieth 1969). Die in diesem Material befindlichen Sporen der pathogenen Pilze sind monatelang lebensfähig. Daher stellen neben öffentlichen Saunen, Schwimmbädern und Teppichen besonders Schuhe eine persistierende Infektionsquelle dar (Karamfilov und Elsner 2002).

Der Pilz kann sich dort vorübergehend oder auch für längere Zeit ansiedeln. Er findet dort genügend Feuchtigkeit und organische Substrate, um sich zu vermehren. Der Pilz

wechselt vom parasitären in das saprophytische Stadium über, welches genauso wie das parasitäre Stadium infektiös ist (Abou-Gabal und Rieth 1969).

Wenn man von der Lebensdauer eines Pilzes spricht, dann bedeutet dies die Überlebenszeit der Pilzelemente, gerechnet vom Zeitpunkt der Sporen- oder Hyphenbildung bis zum Erlöschen ihrer Auskeimungsfähigkeit (Götz 1962).

Broccq-Rousseau et al. (1928) haben beschrieben, dass die Lebensdauer von *Trichophyton mentagrophytes* (*Trichophyton gypseum*) auf nährstoffarmen Medien wie Stroh 2 Jahre und 3 Monate beträgt. Das *Trichophyton equinum* bleibt auf einem ausgetrockneten Peptonagar über 3 Jahre vital. Kadisch (1929) testete unter anderem das *Microsporum gypseum* und das *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* auf Seide, Wolle, Leder, Leinen, Kehrlicht, Strohmist und Federn. Bei feuchter Aufbewahrung entwickelten sich die Pilze zufriedenstellend. Selbst Sägespäne, Erde, Lehm, Sand, Ziegelmehl, Tuch und Holz ermöglichten noch ein gewisses Vegetieren (Orlov 1940). Von Bonar und Dreyer (1932) und später Gavrilove (1939) liegen Beobachtungen vor, nach denen das *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* aus feuchten Schmutzrückständen, aus Spalten der Fußböden und auf sterilisiertem Holz wie Eiche und Erle wuchs.

In den Untersuchungen mit *Trichophyton rubrum* hat Schnitzer (1960) beschrieben, dass dieser Pilz auf Leder 2,5 Monate, auf Leinen und Schreibpapier 4 Monate, auf einem stark abgegriffenen Geldschein 1,5 Monate und auf neuen Geldscheinen 1 Monat vital ist.

Des Weiteren ähneln die Erscheinungen vom Tinea pedum auch dem Erscheinungsbild von trockener Haut, so dass der Patient nicht bemerkt, dass er mit Tinea pedum infiziert ist, somit nicht therapiert wird und weiterhin infektiöses Material verbreitet (Mayser et al. 2004).

Hammer et al. im Jahr 2011 weisen in ihrer Publikation darauf hin, dass es nicht nur öffentlich genutzte (Freizeit-) Einrichtungen sein müssen, in denen eine (Fuß-) Mykose verbreitet werden kann. Eine Ausbreitung innerhalb der Familie kann bei einem erkrankten Familienmitglied auch über die Wäsche erfolgen, wenn diese nur bei niederen Temperaturen gereinigt wird. Es wird empfohlen, kontaminierte Wäsche getrennt aufzubewahren und ebenso getrennt bei einer Temperatur von 60°C zu waschen.

Im Jahr 2000 hatten Watanabe et al. beschrieben, dass zur Vermeidung von Infektionen mit Tinea pedum die Verhinderung des Kontaktes zwischen der gesunden Fußsohle und

dem Pilzmaterial ein entscheidender Faktor ist. Er beschreibt hierbei vier mögliche Methoden, um den Kontakt nach dem Besuch eines öffentlichen Bades (hier in Japan) zu verhindern:

1. Das Abreiben der Fußsohlen mit einem Handtuch.
2. Das Waschen der Fußsohlen mit Seife.
3. Das hundertmalige Auftreten der Füße im Wechsel auf einer sauberen Matte.
4. Das Hochlegen der Füße für eine Stunde.

Diese Methoden stellen sich im praktischen Alltag zum Teil problematisch dar. Bei den Methoden eins und drei wird die Desinfektion von Handtüchern und Fußmatten erforderlich, um weitere Kontamination zu verhindern. Und in einem öffentlichen Bad ist eine Trennung der kontaminierten und nicht kontaminierten Wäsche (wie oben vom Hammer et al. empfohlen wurde), wenn überhaupt, nur schwer umsetzbar. Zeitlich ist auch die Methode vier im Alltag nicht umsetzbar. Methode zwei scheint hier noch am meisten praktikabel, jedoch muss sie konsequent durchgeführt werden, um eine Kontamination der Fußsohlen und damit der Schuheinlagen zu verhindern. Leider hat Watanabe nicht beschrieben, ob er eine normale Haushaltsseife genommen hat oder eine spezielle antiseptische Seife.

2006 berichtete Tanaka et al., dass das Anziehen von Baumwollsocken oder Tabi (Japanische Socken) effektiv ist, um die Adhäsion von Dermatophyten an den Fußsohlen zu verhindern. Hierfür ist es jedoch auch erforderlich, wie bei o.g. Methoden eins und drei, die verwendeten Materialien (Baumwoll Socken und Tabi) zu desinfizieren.

Erste Untersuchungen zur Desinfektion von Schuheinlagen und zur Verhinderung von (Re)Infektionen wurden bereits im Jahre 1952 von Fischer durchgeführt. Er stellte fest, dass die Desinfektion mit Lösungen, wie z.B. mit 0,2%iger wässriger Merfenlösung und Merfentinktur (Phenylquecksilberborat), 1%iger wässriger Tegolösung (Höher molekulare Aminosäuren) und mit der originalen Mykotin[®] Lösung (Zink auf Undencylsäurebasis, Frankfurter Arzneimittelfabrik GmbH) nur dann als ausreichend einzustufen ist, wenn der Schuhe mit der Lösung völlig durchtränkt wird. Diese Desinfektionsmethoden sind allerdings bei den meisten verwendeten Schuhmaterialien (z.B. Leder) nur sehr schwer einsetzbar, ohne die Schuhe zu beschädigen. Ein Auswischen oder einfaches Ausspülen des Schuhs mit Desinfektionsmittel erreicht die in den Spalträumen und tieferen Schichten sitzenden Pilzsporen und Myzelien nicht. Desweiteren sind quecksilberhaltige Desinfektionsmittel auch nicht mehr zugelassen.

Die besten Erfolge sind mit einem Verfahren (Methode von McCormick) mit der Einlage von Formaldehydgas-Wattebauschen in Schuhen erzielt worden. Auch dies wird heute nicht mehr empfohlen.

Schäfer und Haas haben im Jahr 1958 eine Desinfektion der Schuhe mit Manusept®-Paste (eine Hände-Schnell-Desinfektion) während der Behandlung von an *Tinea pedum* leidenden Patienten empfohlen. Hierbei nutzten sie die fungizide Wirkung von diesem halogenierten Phenolpräparat, das in Verbindung mit einer Gel-Masse eine gute Tiefenwirkung entwickelte. Zusätzlich sollte dieses Verfahren auch als prophylaktische Maßnahme bei gefährdeten Personen z.B. bei Bergarbeitern, Sportlern und Soldaten zur Anwendung kommen. Die Manusept®-Paste ist derzeit nicht mehr erhältlich. Laut Datenblatt der Berufsgenossenschaft für Rohstoffe und chemische Industrie sollte der direkte Hautkontakt mit phenolhaltigen Desinfektionsmitteln vermieden werden. Es handelt sich hierbei um einen hautgefährdenden Gefahrstoff nach TRGS (Technische Regeln für Gefahrstoffe) 401. Dieser kann Gesundheitsstörungen wie Hautausschläge, Hautentfärbung, Leberschäden, Nierenschäden und Nervenschäden verursachen. Eine Sensibilisierung und nachfolgende allergische Reaktionen sind möglich. Sensibilisierte Personen können schon auf sehr geringe Konzentrationen von Desinfektionsmitteln auf Phenolbasis reagieren und auch deshalb ist die Verwendung von diesen Desinfektionsmitteln mit direktem Hautkontakt nicht zu empfehlen. Der ursprüngliche Hersteller bietet jetzt ein flüssiges Handdesinfektionsmittel (Manusept® basic) auf 99% Ethanol Basis an. Die Wirkung von Manusept® basic zur Desinfektion von Schuheinlagen wurde bisher noch nicht in Studien überprüft.

Abou-Gabal und Rieth beschrieben 1969, dass sich Includal Spray [0,4 % Benzyl-bis(2'-hydroxyethyl)-dodecylammoniumchlorid und 0,1 % Dodecyl-triphenyl-phosphoniumbromid in Isopropylalkohol] auch gut wirksam gegen eine Reihe von Dermatophyten (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* und *Epidermophyton floccosum*) erwiesen hat. Leider ist dieses Verfahren nur an Agarplatten *in vitro*, nicht jedoch an handelsüblichen Schuheinlagen überprüft worden.

Japanische Forscher (Tanaka et al. 2006) untersuchten verschiedene Methoden, um Dermatophyten von Sandalen, Sneakers und Stiefeln zu beseitigen. Das Abwischen der Schuhe mit einem nassen Handtuch sowie das Übergießen der Schuhe mit kaltem- und kochendem Wasser wurden als effektiv bewertet. Insbesondere konnten keine

Dermatophyten-Kolonien nach Übergießen mit kochendem Wasser isoliert werden. Die Methoden erwiesen sich aber als sehr materialstrapazierend.

In einer placebokontrollierten Doppelblind-Studie wurde 2% Miconazol Puder zweimal wöchentlich über zwei Jahre in Schuhen und an Füßen angewendet, insbesondere an Füßen von Patienten nach Abschluss einer Onychomykose-Therapie. Es zeigte sich, dass kein signifikanter Effekt zur Vermeidung einer Reinfektion mit *Tinea unguium* festgestellt werden konnte. Bei Betrachtung dieser Ergebnisse muss allerdings berücksichtigt werden, dass nur eine kleine Fallzahl (48 Patienten) untersucht wurde (Warshaw und Clair 2005).

Ulbricht beschrieb in 2003, dass die Applikation von Ciclopirox Puder (Batrafen[®] Puder) mittels eines feinen Zerstäubers in Schuhen und das gleichmäßige Verteilen von Hand in den Schuhen danach an drei aufeinanderfolgenden Tagen sehr viel effektiver war als das Einbringen der Sportschuhe in die Tiefkühltruhe oder die Behandlung der Sportschuhe mit einem formaldehydgetränkten Lappen. Der Puder besitzt eine spezielle galenische Formulierung und lässt sich dadurch sehr gut verteilen. Dabei nimmt er die im Schuh befindliche Feuchtigkeit rasch auf. Dem Pilz wird somit das für ihn benötigte feuchte Milieu entzogen. Gleichzeitig werden die Pilze und deren Überdauerungsformen, die Sporen, durch die fungizid und sporozid wirkende Substanz abgetötet. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, dass die Kosten für Batrafen[®] Puder relativ hoch sind. 30 Gramm kosten 18,64 Euro. Da das Puder nur apothekenpflichtig ist, werden diese Kosten auch nicht von den Krankenkassen übernommen.

Resümierend aus der vorliegenden Studienlage zeigte sich, dass die sicherste Methode zur Desinfektion von Schuheinlage bisher die Anwendung von Formaldehyd gewesen ist.

Allerdings vermutet man aufgrund von Tierversuchen eine krebserzeugende Wirkung des Formaldehyd beim Menschen. Jedoch konnte in zahlreichen epidemiologischen Untersuchungen kein erhöhtes Krebsrisiko nachgewiesen werden. In einer Stellungnahme des Bundesinstituts für Risikobewertung vom 29.11.2004 wurde deshalb Formaldehyd als Stoff mit „begründetem Verdacht auf ein krebserzeugendes Potenzial“ eingestuft (www.bfr.bund.de). Desweiteren wurde über eine erhöhte Sterblichkeit durch Tumore des Nasen-Rachenraumes bei Arbeitern, die in der Industrie gegenüber Formaldehyd exponiert waren, berichtet. Es wurde gleichfalls von einem Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Leukämie und der Exposition gegenüber Formaldehyd am Arbeitsplatz berichtet. Dies führte dazu, dass Formaldehyd durch die

International Agency for Research on Cancer (IARC) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als krebserzeugend für den Menschen eingestuft wurde.

Das Robert Koch Institut gibt selbst keine offizielle Empfehlung für Schuhdesinfektionsmittel. Laut der Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und –verfahren gibt es 5 Gruppen von Flächendesinfektionsmitteln (Wischdesinfektion), nämlich Alkohol, Phenol oder Phenolderivate, Chlor, organische oder anorganische Substanzen mit aktivem Chlor, Peroxyverbindungen, Formaldehyd und/oder sonstige Aldehyde bzw. Derivate (insbesondere quaternäre Ammoniumverbindungen).

Darunter fallen auch die standardmäßig eingesetzten Desinfektionsmittel, die freiverkäuflich sind, wie z.B. Sagrotan Lösung. Diese beinhalten Ethanol (50 – 70 %) und Benzalkoniumchlorid (unter 0,1 %). Pedexan Schuhdesinfektionsmittel, besteht hingegen aus Ethanol und Isopropanolol oder auch Calcifu Schuhdesinfektionsmittel, welches aus Polyhexamethylenbiguanid HCl und Didecyldimethylammoniumchlorid besteht.

Eine Anwendung dieser Flächendesinfektionsmittel ist wie oben von Fischer beschrieben bei der Desinfektion von Schuhen nicht ganz unproblematisch. Zum einen erreicht ein Auswischen oder einfaches Ausspülen des Schuhs mit Desinfektionsmittel die in den Spalträumen und tieferen Schichten sitzenden Pilzsporen und Myzelien nicht. Zum anderen ist es nicht unwahrscheinlich, dass empfindliche Materialien, wie z.B. (Wild-)Leder durch das angewendete Desinfektionsmittel angegriffen werden können, so dass es z.B. zu Farbveränderungen kommen kann. Deshalb ist auch vor jeder Anwendung die Materialverträglichkeit zu prüfen.

Es gibt auch „Hausmittel“, die für eine Desinfektion eingesetzt werden, wie z.B. Teebaum Öl. Hier können jedoch andere Probleme auftreten, da dieses oft allergische Kontaktekzeme verursacht (Pirker et al. 2003).

Unter Berücksichtigung dieser bekannten Erkenntnisse prüften wir in dieser Arbeit ein anderes Verfahren zur Desinfektion von Schuheinlagen. Hier wurde die Wirkung von Mikrowellenstrahlung auf Dermatophyten in Schuheinlagen erstmals untersucht. Ziel war es, ein neues schonendes Desinfektionsverfahren zu finden, um die Infektion und Reinfektion mit *Tinea pedum* zu verhindern. Hierbei untersuchten wir verschiedene Dermatophyten Spezies, die als häufige Ursachen von *Tinea pedum* beschrieben sind (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa* als Subspezies vom *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton interdigitale*), sowie *Microsporum canis* da dieser gegenüber

dem derzeit gegen Dermatophyten wirksamsten Antimykotikum Terbinafin nur eine eingeschränkte Ansprechrate zeigt. Als Schuheinlage benutzen wir handelsübliche Weichbett- und Korkschuheinlagen.

In den Untersuchungen mit durch *Trichophyton rubrum* infizierten Schuheinlagen zeigte sich, dass eine komplette Wachstumshemmung schon nach einer Bestrahlung über 20 Sekunden mit 240 Watt bei Weichbettschuheinlagen und nach 30 Sekunden mit 240 Watt bei Korkschuheinlagen erreicht wurde. Die maximal erreichte Temperatur betrug dabei 35°C.

In den Untersuchungen mit infizierten Schuheinlagen durch *Trichophyton rubrum olexa* wurde eine komplette Wachstumshemmung nach der Bestrahlung über 40 Sekunden bei 240 Watt, sowohl bei Weichbett- als auch bei Korkschuheinlagen, erreicht. Die maximal erreichte Temperatur betrug 50°C. Da *Trichophyton rubrum* zu 90% die Ursache von Tinea pedum ist, ist dieses Ergebnis besonders bemerkenswert unter praktischen Gesichtspunkt.

Auch die getestete melaninhaltige Subspezies von *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa*, musste nur 20 Sekunden bei Weichbettschuheinlagen und 10 Sekunden länger bei Korkschuheinlage bestrahlt werden als *Trichophyton rubrum*, um eine komplette Wachstumshemmung zu erzielen. Melanin entfaltet somit nur eine geringe Schutzwirkung gegenüber Mikrowellenstrahlung.

Die komplette Wachstumshemmung zeigte sich bei der Untersuchung mit durch *Microsporum canis* infizierten Schuheinlagen nach der Bestrahlung mit 240 Watt über 40 Sekunden (Korkschuheinlagen) und über 70 Sekunden (Weichbettschuheinlagen). Hierbei war die maximal erreichte Temperatur 50°C

Im Wachstum der Stämme von *Trichophyton interdigitale* war eine höhere Intensität und längere Dauer der Bestrahlung bis zu einem kompletten Wachstumsstillstand erforderlich. Hierfür war eine Bestrahlung mit 400 Watt über 60 Sekunden bei Korkschuheinlagen mit einer maximalen Temperatur von 55°C nötig. Bei Weichbettschuheinlagen war sogar eine Bestrahlung mit 560 Watt über 30 Sekunden erforderlich. Die maximal erreichte Temperatur betrug 60°C.

Bereits in 2001 hat Hiti et al. gezeigt, dass mit Trophozoiten von verschiedenen *Acanthamoeba* sp., infizierte Kontaktlinsen effektiv durch Mikrowellenbestrahlung über 3 Minuten bei 600 Watt gereinigt werden können, ohne dass die Kontaktlinsen zerstört wurden.

In 2007 hat Cardoso et al. den Effekt von Mikrowellenbestrahlung auf mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* infizierten Gazen beschrieben. Nach einer Bestrahlung über 30 Sekunden mit 1000 Watt zeigte sich eine Hemmung des Wachstums der Mikroorganismen, der vergleichbar war mit Autoklavieren (121°C über 20-30 Minuten). Diese Methode stellte sich als effektiv und zeitsparend heraus.

Dovigo et al. 2009 zeigten, dass nach einer Mikrowellenbestrahlung über 3 Minuten mit 650 Watt eine Sterilisation von Zahnprothesen, die mit *Staphylokokkus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* infiziert waren, erfolgreich war.

Bezüglich der Pilzinfektionen waren bisher in der Literatur verschiedene Untersuchungen im zahnmedizinischen Bereich erfolgt, die den desinfizierenden Effekt von Mikrowellenstrahlung auf mit *Candida. sp* infizierten Zahnprothesen untersucht haben. Silva et al. 2008 wiesen eine Sterilisation von *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* infizierten Zahnprothesen nach 6 Minuten Mikrowellenbestrahlung mit 650 Watt nach. Die Eradikation weiterer *Candida*-Stämme (*Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Candida dublinensis* und *Candida tropicalis*) von Acrylharz Zahnprothesen gelang Sanitá et al. nach 3 Minuten Mikrowellenbestrahlung mit 650 Watt.

Dies legt die Vermutung nah, dass Mikrowellenstrahlung auch eine Möglichkeit der Eradikation von Dermatophyten darstellt, da der Letaleffekt von Mikrowellenstrahlung bei unterschiedlichen Mikroorganismen nachweislich gut funktionierte. Der hierfür verantwortliche Mechanismus ist bisher aber noch nicht völlig geklärt. Einzelne Studien vertreten die Theorie, dass hierbei die Hitzewirkung (Thermaleffekt) der entscheidende Faktor ist (Fitzpatrick et al. 1978 und Yeo et al. 1999). Kozempel et al. postulierten 1998, dass Zytoplasma aufgrund seiner höheren ionischen Konzentration anfälliger auf Erhitzung reagiert als umliegendes Flüssigmedium. Andere Studien sind der Meinung, dass der Letaleffekt durch die Interaktion zwischen Elektromagnetfeld, den Zellen und dem umliegenden Flüssigmedium (Non-Thermaleffekt) entsteht (Silva et al. 2006 und Watanabe et al. 2007). Eine mögliche Erklärung für diesen Non-Thermaleffekt ist eine selektive Absorption der Mikrowellenstrahlung durch bestimmte biochemische Moleküle, wie z.B. Nukleinsäuren, Proteinen und Protein-Lipopolysaccharide-Komplexe der Zellmembranen. Dieser Effekt hat eine schädigende Wirkung auf die Vitalaktivität der Mikroorganismen (Culkin und Fung 1975, Hiti et al. 2001 und Watanabe et al. 2007). Außerdem erzeugt das Elektromagnetfeld von

Mikrowellenherden eine elektrische Ladung auf Membranen, was zur Ruptur der Membranen oder zur Destruktion innerer Moleküle führt.

Ossowski und Duchmann 1997 berichteten, dass beim Waschen von Textilien, unabhängig vom Gewebematerial und verwendetem Vollwaschmittel eine 60°C-Wäsche zu einer sicheren Dekontamination der Textilien nach Inokulation mit *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* und *Scopulariopsis brevicaulis* führte. Bei *Trichophyton rubrum* wird dies schon nach einer 30°C-Wäsche erreicht. Im Gegensatz dazu beschrieb Hammer, dass dies bei *Trichophyton rubrum* auch erst nach einer 60°C-Wäsche erreicht wird. Unsere Untersuchungen bei *Trichophyton rubrum* unterstützen die Ergebnisse von Ossowski, da auch in unseren Untersuchungen mit *Trichophyton rubrum* eine 100%-ige Wachstumshemmung bei 35°C eingesetzt hat. Dies wiederum passt auch zu der Thermaleffekt Theorie, da in unterschiedlichen Verfahren bei nahezu identischen Temperaturen die komplette Wachstumshemmung eingesetzt hat.

In den Untersuchungen mit *Microsporum canis* bei Weichbettschuheinlagen kann man sehen, dass bei der Bestrahlung über 40, 50, 60 und 70 Sekunden bei 240 Watt die gleiche Temperatur (50°C) erreicht wurde, aber trotzdem die komplette Wachstumshemmung erst nach 70 Sekunden Bestrahlung eingesetzt hat. Dies widerspricht der Theorie des Thermaleffekts und stützt die des Non-Thermaleffektes.

In den Untersuchungen mit *Trichophyton interdigitale* bei Weichbettschuheinlagen wurde nach Bestrahlungen über 10 Sekunden bei höherer Leistung (z.B. 560 Watt) eine niedrigere Wachstumshemmung festgestellt, als nach einer längeren Bestrahlung mit einer geringeren Leistung (z.B. 70 Sekunden bei 400 Watt). Trotzdem wurde bei beiden oben genannten Bestrahlungen die gleiche Temperatur, nämlich 55°C erreicht.

Dieses Phänomen passt zu der Non-Thermaleffekt-Theorie, da die längere Bestrahlung zu einer höheren Absorption der Mikrowellenstrahlung führt, was wiederum eine schädigende Wirkung auf die Vitalaktivität der Dermatophyten hat.

Unabhängig davon, welche der vorgenannten Theorien den Letaleffekt der Mikrowellenstrahlung auf verschiedene Mikroorganismen zutreffend beschreibt, stellt unsere Untersuchung fest, dass alle untersuchten Pilzstämme durch die Anwendung von Mikrowellenstrahlung bei 560 Watt über 30 Sekunden abgetötet werden.

Die Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit konnten zeigen, dass Mikrowellenstrahlung als einfaches, schnelles, erfolgreiches, kostengünstiges Desinfektionsverfahren für unterschiedliche Dermatophyten angewendet werden kann. Desweiteren erfordert die

Anwendung von Mikrowellenherden keine spezielle Lagerung, hat kein Verfallsdatum und führt zu keiner Resistenz der Pilze und anderer Mikroorganismen. Ebenso scheint das Verfahren keine negativen Auswirkungen auf das bestrahlte Material zu haben, es kommt bei sachgemäßer Anwendung und intaktem Mikrowellenherd zu keinen sichtbaren Beschädigungen. Die Untersuchungen zeigten, dass sich nach Bestrahlungen mit 240 Watt (über 20 bis 70 Sekunden bei Weichbettsschuheinlagen und über 20 bis 30 Sekunden bei Korkschuheinlagen) signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Pilzspezies zeigten. Desweiteren zeigte die Untersuchung, dass es unerheblich ist, um welche der untersuchten Pilzspezies es sich handelt, da bei einer Bestrahlung von 30 Sekunden mit 560 Watt die Wachstumshemmung bei allen untersuchten Stämmen 100% beträgt. Unabhängig davon, dass zur Festlegung der geeigneten Therapie für den Patienten die Pilzspezies genau bestimmt werden muss, kann die Desinfektion der Schuheinlagen schon vorher erfolgen und so das Risiko einer Reinfektion vermindert werden. Dies wiederum kann sich dann auch positiv auf den Genesungsprozess auswirken.

Mit nur wenigen Sekunden bis zum Einsetzen der vollständigen Wachstumshemmung ist die Bestrahlungsmethode wesentlich schneller als alle oben beschriebenen Methoden. Insbesondere im Vergleich zu den oben beschriebenen Methoden mit Formaldehyd oder Batrafen® Puder, die mehrere Tage bis zu einer vollständigen Desinfektion brauchen, ist die Bestrahlungsmethode deutlich schneller und stellt eine wesentliche Verbesserung dar. Sie kann daher auch problemlos in regelmäßigen Abständen prophylaktisch eingesetzt werden.

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Methoden ist die Bestrahlung mit Mikrowellen nicht nur schnell, sondern auch ohne jegliche gesundheitlichen Gefahren für den Anwender bzw. Patienten durchführbar.

Durch die einfache Handhabung ist es auch, möglich, den Patienten selbst die Desinfizierung mittels eines Mikrowellenherdes durchführen zu lassen. Alternativ ist natürlich auch die Anschaffung eines Mikrowellenherdes in einer Haus- oder Hautarztpraxis oder auch in einer Fussambulanz beim Diabetologen möglich, so dass der Patient seine Schuheinlagen zur Desinfektion mitbringen kann. Auf Grund der kurzen Dauer der Bestrahlung ist dies auch ohne größere Wartezeiten möglich und rein theoretisch könnte der Patient die Desinfektion in der Praxis selbst durchführen. Die Bestrahlung kann auch bei Bedarf bei jedem Kontrolltermin wiederholt werden.

Zu guter Letzt ist das Verfahren auch kostengünstig, da man mit einem Mikrowellenherd (Handelsüblicher Mikrowellenherd ab einem Preis von € 45 zu erhalten) unzählige Schuheinlagen von vielen Patienten desinfizieren kann. Auf Grund der Einfachheit der Bestrahlung sind Anwendungsfehler auch nahezu ausgeschlossen, so dass es zu weniger Reinfektionen kommt und damit teure Nachbehandlungen vermieden werden können.

Auf diesen Ergebnissen aufbauend bietet sich die Durchführung weiterer Arbeiten mit größeren Fallzahlen zunächst für andere Stämme der untersuchten Spezies, später auch für andere Pilzspezies an, um dieses kostengünstige Desinfektionsverfahren weiter zu etablieren.

Untersucht wurde in dieser Arbeit jeweils nur ein Stamm einer Spezies, Auf der Basis der durchweg positiven Ergebnisse sollte daher in Folgeuntersuchungen geklärt werden, ob es signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Stämmen bei Bestrahlung mit Mikrowellen gibt. Dann sollten diese Untersuchungen auch auf andere Pilzspezies erweitert werden.

Da in der vorliegenden Arbeit ausschließlich unter Laborbedingungen getestet wurde, würde es sich empfehlen auch Untersuchungen in *in vivo* Situationen durchzuführen. Zum Beispiel könnten Schuheinlagen von Patienten mit *Tinea pedum*, begleitend zur Behandlung, mit Mikrowellenstrahlung desinfiziert werden, um dann die Reinfektionsrate mit einer Vergleichsgruppe, bei denen keine Desinfektion der Schuheinlagen vorgenommen wurde, zu vergleichen. Bei solchen Untersuchungen der *in vivo* Situation ließen sich dann auch Aussagen über den Tragekomfort der bestrahlten Schuheinlagen evaluieren.

Denkbar wäre es auch, die Anwendung auf andere infizierte Gegenstände auszudehnen, solange diese keine Metallbestandteile haben, wie zum Beispiel Socken oder auch ganze Schuhe. Allerdings dürften bei Schuhen häufig Metallteile verarbeitet sein. Vor allem die Löcher für die Schnürsenkel sind oft mit Metall verstärkt, was auch bei der Sicherheitskontrolle am Flughafen die Metalldetektoren regelmäßig auslöst. Kompressionsstrümpfe dürfen laut Waschanleitung nur im Schon- oder Feinwaschgang bei 40°C gewaschen werden, da ansonsten der Gummi beschädigt wird. Allerdings dauert ein Maschinenwaschgang wesentlich länger als eine Bestrahlung über 30

Sekunden. Daher scheidet eine Desinfektion mit Mikrowellenstrahlung nicht von vorne herein aus, sondern müsste im Einzelfall getestet werden.

Da die Spezies *Microsporum canis* auch als eine der häufigsten Ursachen von *Tinea capitis et corporis* bei Kinder verantwortlich ist, ist auf Grund der Tatsache, dass Mikrowellenstrahlung hier eine effektive Desinfizierung ermöglicht, auch zu überlegen, ob dieses Verfahren zur Desinfektion vom Kuscheltieren eingesetzt werden kann.

Die Eingangs gestellten Fragen sind daher wie folgt zu beantworten:

1. Wie sind die Effektivität und Wirksamkeit von Mikrowellenstrahlung als Desinfektionsmaßnahme für mit *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa*, *Trichophyton interdigitale* und *Microsporum canis* infizierten Schuheinlagen?

Nach einer Bestrahlung der beiden Schuheinlagen (Weichbett und Kork) über 30 Sekunden bei 560 Watt zeigte sich eine komplette Wachstumshemmung bei allen untersuchten Dermatophyten. Mikrowellenstrahlung ist somit erwiesener Maßen eine wirksame und effektive Desinfektionsmaßnahme. Einschränkend wurde bisher aber erst nur jeweils ein (Referenz-) Stamm von jeder Spezies getestet. Gerade für den häufigsten Erreger der *Tinea pedum*, *Trichophyton rubrum*, sollten daher in Folgeuntersuchungen weitere Stämme getestet werden, um Varianzen zu erfassen.

2. Gibt es Unterschiede zwischen den verschiedenen Dermatophytenspezies bei verschiedener Dauer und Intensität der Bestrahlung?

Im Rahmen der Untersuchung zeigte es sich, dass zwischen den verschiedenen Dermatophytenspezies bezüglich der Wachstumshemmung ein teilweise signifikanter Unterschied bei gleicher Bestrahlungsdauer und –intensität mit Mikrowellenbestrahlung besteht. Während einige Dermatophyten schon bei kurzer Bestrahlung vollständig im Wachstum gehemmt waren, zeigte sich bei anderen auch über eine längere Bestrahlungsdauer noch ein gewisses Wachstum.

Erst bei der unter Ziffer 1 genannten Bestrahlungsdauer und –intensität erfolgte bei allen Dermatophyten eine vollständige Wachstumshemmung und zwar unabhängig davon, welche Schuheinlage dabei benutzt wurde. Auch dies sollte jedoch an einer breiteren Zahl von Stämmen verifiziert werden.

3. Hat Melanin eine Schutzwirkung vor Mikrowellenstrahlung?

Melanin hat nach den bisherigen Ergebnissen an einer melanisierten Subspezies von *Trichophyton rubrum* nur eine geringe Schutzwirkung vor Mikrowellenstrahlung

4. Wie ist die Verträglichkeit der Mikrowellenstrahlung auf die zu untersuchenden Weichbett- und Korkschuheinlagen?

Bei den Versuchen zeigte sich keine negative Beeinflussung der Schuheinlagen durch die vorgenommene Bestrahlung. Die maximale Hitzeentwicklung überstieg 60°C nicht und auch die Mikrowellenstrahlen an sich haben das Material (Kork- oder Weichbettschuheinlage) nicht beschädigt. Einschränkend wurden aber nur kleine Proben der jeweiligen Schuhsohlen getestet, die jedoch mit hohen Inokula des jeweiligen Pilzes beimpft wurden. In einem nächsten Schritt sollten tatsächlich verwendete Schuheinlagen getestet werden und auch der Tragekomfort nach der Behandlung verglichen werden.

5. Wie ist die Praktikabilität des Desinfektionsverfahrens?

Das Desinfektionsverfahren ist sehr praktikabel, da die Bestrahlung nur kurze Zeit braucht, um eine vollständige Wachstumshemmung herbeizuführen. Gleichzeitig ist das Verfahren sehr einfach und kann fast von jedermann man entweder zu Hause oder in der Praxis durchgeführt werden. Es gibt keine aufwendigen Vorbereitungen und das Verfahren ist - ohne den Dermatophyten genau identifizieren zu müssen - sofort anwendbar, da es bei einer Bestrahlungsdauer von 30 Sekunden und einer Bestrahlungsintensität von 560 Watt bei allen untersuchten Dermatophyten gleich wirksam ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Dermatomykosen gehören zu den häufigsten dermatologischen Krankheitsbildern und sind auch in Deutschland endemisch. Die verbreitetsten Dermatomykosen sind *Tinea pedum* et *unguium pedum*. In letzter Zeit nimmt die Inzidenz von *Tinea pedum* durch den veränderten Freizeitgewohnheiten („Lifestyle“) zu. Da die Menschen auf Grund dieser Veränderung der Lebensumstände mehr Sport treiben als früher, ist das Risiko eine *Tinea pedum* zu bekommen, gestiegen. Dies resultiert aus der Tatsache, dass viele Menschen mehr Sportschuhe und Sportausrüstung tragen und auch öfter Kontakt zu vielbesuchten Sportstätten, wie z.B. Schwimmbädern haben. Desweiteren werden heutzutage auch mehr öffentliche Saunen, Thermalbäder und Hotels besucht, was ebenfalls das Risiko für *Tinea pedum* steigert.

Die Übertragung der durch Dermatophyten verursachten Pilzkrankungen erfolgt fast ausschließlich auf indirektem Wege: Das aus den Pilzherden stammenden infektiöse Material gelangt zunächst in die Umgebung des Kranken, von dort kann sofort der nächste infiziert werden.

Um eine Reinfektionsgefahr bei *Tinea pedum* zu vermindern, ist ein geeignetes Desinfektionsverfahren sehr wichtig. Die sehr einfachen und wirkungsvollen Hitzedesinfektionsverfahren (Kochen, trockene Hitze im Backofen und Autoklavieren) werden von vielen Schuheinlagen nicht vertragen und kommen deshalb nicht in Betracht. Von den chemischen Desinfizienten muss man verlangen, dass sie weder die Schuheinlage beschädigen noch nachteilig auf die Haut wirken. Das bisher effektivste chemische Desinfektionsmittel ist Formaldehyd. Die Benutzung von Formaldehyd ist aber nicht mehr zu empfehlen, es wurde von der International Agency for Research on Cancer (IARC) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als krebserzeugend für den Menschen eingestuft.

In dieser Arbeit wurde der Effekt von Mikrowellenstrahlung auf mit verschiedenen Dermatophyten infizierte Kork- und Weichbettschuheinlagen untersucht, um festzustellen, ob sich Mikrowellenstrahlung als wirksame Desinfektionsmethode eignet. Als Dermatophyten wurden die häufigsten Erreger von *Tinea pedum* ausgewählt (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa* als Subspezies von *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton interdigitale*), sowie *Microsporum canis*, da dieser gegenüber dem derzeit gegen Dermatophyten wirksamsten Antimykotikum Terbinafin nur eine eingeschränkte Ansprechrate zeigt. Die kontaminierte Schuheinlage wurde mit

Mikrowellen verschiedener Intensität und unterschiedlicher Dauer bestrahlt. Es wurden jeweils 10 Kolonien mit Kork- und Weichbettschuheinlagen bei gleicher Dauer und Intensität bestrahlt und mit einer entsprechenden nicht bestrahlten Kontrollgruppe verglichen. Dieser Versuch wurde dann dreimal wiederholt und die Ergebnisse statistisch über Chi²-Test auf Signifikanz überprüft. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Dermatophytenspezies bei Weichbettschuheinlagen und teilweise auch bei Korkschuheinlagen innerhalb gleicher Bestrahlungsdauer und Intensität.

Es konnte in den Untersuchungen aber gezeigt werden, dass eine komplette Wachstumshemmung aller vier Dermatophytenspezies nach einer Bestrahlung von 30 Sekunden bei 560 Watt bei beiden Schuheinlagentypen eintritt. Die maximal erreichte Temperatur lag dabei bei 60°C. Hierbei sind die Schuheinlagen optisch nicht beschädigt worden

Aus diesen Versuchen kann daher abgeleitet werden, dass Mikrowellenstrahlung eine einfache, wirksame und schonende Desinfektionsmethode für mit Dermatophyten kontaminierte Schuheinlagen bietet. Sie benötigt nur kurze Zeit, schont das Material und hat keine negativen Auswirkungen auf die Haut.

6. SUMMARY

Dermatomycosis are counted among the most common dermatological symptoms; they are also endemic in Germany. The most frequent forms of dermatomycosis are *Tinea pedum* et *unguium pedum*. Recently, the incidence of *Tinea pedum* are increasing due to a changing lifestyle whereby people are adapting to by engaging themselves more in sports activities. The risk of acquiring *Tinea pedum* are consequently higher following the more use of athletic shoes and sports equipments as well as contact with public sports facilities, e.g. swimming pools. Furthermore, public saunas, thermal spas, and hotels are likewise the common sports wherein the risk of *Tinea pedum* is nowadays identified.

The transmission of fungal diseases that are caused by dermatophytes is spread almost exclusively through indirect contacts, i.e., contagious material initially contaminates the patient's environment that subsequently facilitates the spread of infection to others.

A suitable disinfection procedure for "fungal reservoirs" is very important in order to reduce the danger of re-infection of *Tinea pedum*. The very simple and efficient procedure of heat disinfection such as boiling, oven-drying, and steaming, is out of the question, considering that many shoe insoles are not heat resistant. By the same token, the alternative procedure using chemical disinfectant tends to damage shoe insoles, or even presents problems associated with the skin.

Up until now, the most effective chemical disinfectant is Formaldehyd. Nevertheless, the use of Formaldehyd is not recommended, taking into account that it is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) of the World Health Organization (WHO) as carcinogenic to humans.

This thesis investigates the effect of microwave radiation on various dermatophytes-infected cork and polyethylene sponge shoe insoles. Thus, the result determines whether microwave radiation is an effective disinfection method. For this purpose, the most predominant etiologic agents of *Tinea pedum* (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton rubrum olexa* as subspecies from *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*) are selected and also *Microsporum canis*. The later Species is chosen due to its restricted response rate to Terbinafin, which is the current most effective antimycosis treatment. The contaminated Shoe insoles are then irradiated with various intensities and durations of microwave. In each case, ten colonies on cork and polyethylene sponge insoles are irradiated with the same intensity and duration, and subsequently compared

with those of corresponding non-irradiated control groups. This experiment is repeated three times and the result is statistically verified using Chi-squared test for significance. Through this statistical analysis, it is established that there is a significant distinction between the various dermatophytes on polyethylene sponge insoles and also partly on cork insoles within the same irradiation intensity and duration.

However, it is also shown in the findings that a complete growth inhibition of all four dermatophytes occurs on both types of insoles after a thirty-seconds exposure at 560 Watt. The maximum temperature reached is sixty degrees Celsius, whereby the insoles are optically not damaged.

Hence, it can be concluded from these experiments that microwave radiation offers a simple, effective, and gentle disinfection method for dermatophytes-contaminated insoles. Moreover, this method requires only a short length of time, protects the material, and has no negative effect on skin.

7. LITERATURVERZEICHNIS

Abou-Gabal M, Rieth H. Schuh- und Flächendesinfektion mit Includal. Nachweis der antimycetischen Wirkung. Mykosen 12: 245-246, (1969).

Allen AM, King RD. Occlusion, carbon dioxide and fungal Skin infection. Lancet I:360-362, 1978.

Brasch J. Bewährte und neue Verfahren zur Differenzierung von Dermatophyten. Hautarzt 55: 136-142, 2004.

Brenner IKM, Shek PN, Shephard RJ. Infections in athletes. Sports Med 17: 86-107, 1994.

Boboschko I, Jockenhöfer S, Sinkgraven R, Rzany B. Hyperhidrosis als Risikofaktor der Tinea pedis. Hautarzt 56: 151-154, 2005.

Bonar L, Dreyer AD. Studies on ringworm fungus with reference to public health problems. Am J publ. Hlth 22: 909, 1932.

Brocq-Rousseu D, Urbain , Barotte J. Cultures du trichophyton gypseum en dehors de l'organisme et des milieus usu els. Ann. Inst. Pasteur 42:895, 1928.

Budihardja D, Möhle H, Mayser P. Schmusen mit einem Igel (*Atelerix albiventris*): Tinea manus durch *Trichophyton erinacei* – eine zunehmende Epidemie. Posterpräsentation auf der 44. Jahrestagung der deutschsprachigen mykologischen Gesellschaft in Wien, 2010.

Budihardja D, Mayser P. Mein Pferd, die Tinea und Ich. Die Täter sind *T. equinum*, *T. verrucosum* und.... Posterpräsentation auf der 45. Jahrestagung der deutschsprachigen mykologischen Gesellschaft in Kiel, 2011.

Budihardja D, Lang S, Mayser P. Terbinafine induzierte subakut kutanes Lupus erythematodes. Posterpräsentation auf der 45. Jahrestagung der deutschsprachigen mykologischen Gesellschaft in Kiel, 2011.

Cardoso VH, Goncalves DL, Angioletto E, Dal-Pizzol F, Streck EL. Microwave disinfection of gauze contaminated with bacteria and fungi. Indian J Med Microbiol 25:428-429, 2007.

Caputo R, De Boulle K, Del Rosso J, Nowicki R. Prevalence of superficial fungal infections among sports-active individuals: results from the Achilles survey, a review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 15: 312-316, 2001.

Crawford F. Athlete's Foot. In: Williams H, Bigby M, Diepgen T, Herxheimer A, Naldi L, Rzany D (Hsrg.): Evidence based dermatology. BMJ Books, London, 436-440, 2003

Culkin KA, Fung DY. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. *J Milk Food Technol* 38: 8-15, 1975.

Dovigo LN, Pavarina AC, Ribeiro DG, Aparecida de Oliveira J, Vergani CE, Machado AL. Microwave disinfection of complete dentures contaminated *in vitro* with selected bacteria. *J Prostodont* 18: 611-617, 2009.

Drake LA, Dinehart SM, Farmer ER, Goltz RW, Graham GF, Hordinsky MK, Lewis CW, Pariser DM, Skouge JW, Webster SB, Whitaker DC, Butler B, Lowery BJ, Elewski BE, Elgart ML, Jacobs PH, Leshner JL Jr, Scher RK. Guidelines of care for superficial mycotic infections of the skin: tinea corporis, tinea cruris, tinea faciei, tinea manuum, and tinea pedis. Guidelines/Outcomes Committee. American Academy of Dermatology. *J Am Acad Dermatol* 34: 282-286, 1996.

Field LA, Adams BB. Tinea pedis in athletes. *Int J Dermatol* 47: 285-492, 2008.

Fischer GW. Schuh- und Strumpfdesinfektion bei Epidermophytie. *Hautarzt* 3: 549-551, 1952.

Fitzpatrick JA; Kwao-Paul J, Massey J. Sterilization of bacteria by means of microwave heating. *J Clin Eng* 3: 44-47, 1978.

Fra'gner, P. *Trichophyton rubrum* (Cast.) Sabouraud var. *nigricans* var. nova. *Ceska Mykol.* 20:27-28, 1996.

Gavrilove NF. Sur l'épidémiologie d'épidermophytie, viabilité des epidermophytes sur les substrats végétaux morts. *Vest. Vener. Derm:* 9/10: 36, 1939.

Götz H. Lebensdauer und Resistenz der Dermatophyten in Jadassohn J: Die Pilzkrankheiten der Haut durch Dermatophyten, vierter Band/ dritter Teil vom

Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 112-119, 1962.

Gupta AK, Chow M, Daniel CR, Aly R. Treatments of tinea pedis. *Dermatol Clin* 21: 431-462, 2003.

Gupta AK, Cooper EA. Update in Antifungal Therapy of Dermatophytosis. *Mycopathologia* 166: 353-367, 2008.

Gupta M, Wong WL. *Microwaves and Metals*, Wiley, Singapore, 2007.

Hammer TR, Mucha H, Hoefer D. Infection risk by dermatophytes during storage and after domestic laundry and their temperature-dependent inactivation. *Mycopathologia* 171(1): 43-9, 2011.

Hay RJ, Ashbee HR. Superficial Mycosis in: Burns T, Brearhnach S, Cox N, Griffiths C (Hrsg.): *Rook's Textbook of Dermatology*, 8th Edition, Wiley-Blackwell, Singapore, 36.1-36.69, 2012.

Hiti k, Walochnik J, Fachinger C, Haller-Schober EM, Aspöck H. Microwave treatment of contact lense cases contaminated with *Acanthamoeba cotnea*. *Cornea* 20(5): 467–470, 2001

<http://www.bfr.bund.de/de/start.html>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Mikrowellenherd>

Janssen J, Laatz W. *Statistische Datenanalyse mit SPSS für Windows*, 3. Auflage, Springer, Berlin Heidelberg, 262-268, 2007.

Kadisch E. Über das Fortkommen der pathigenen Hautpilze außerhalb des Körpers. *Derm. Wschr.* 89: 1423, 1929.

Karamfilov T, Elsner P. Sport als Risikofaktor und therapeutisches Prinzip in der Dermatologie. *Der Hautarzt* 53: 98-103, 2002.

Korting HC. Mykosen. In: Braun-Falco, Plewig, Wolff, Burgdorf, Landthaler (Hrsg.): *Dermatologie und Venerologie*, 5. Auflage, Springer, Heidelberg, 179-207, 2005.

Kozempel MF, Annous BA, Cook RD, Scullen OJ, Whiting RC. Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. *J Food Protect* 61: 582-585, 1998.

Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, Hasegawa A, Tajiri Y, Hanazawa R, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. Phylogenetic Classification and Species Identification of Dermatophyte Strains Based on DNA Sequences of Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer 1 Regions. *J of Clin Microbiol* 37 (4): 920-924, 1999.

Masri-Fridling GD. Dermatophytosis of the feet. *Dermatol Clin* 14: 33-40, 1996.

Mayser P. Mykologische Fortbildung Teil 2: Dermatophyten und Dermatophytosen, *Almirall Hermal*, 10-11, 2011.

Mayser P: Superfizielle Mykosen - Dermatophytosen. In: Plewig, Landthaler, Burgdorf, Hertl, Ruzicka (Hrsg.): *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*, 6. Auflage, Band 1, Springer, Berlin Heidelberg, 247-254, 2012.

Mayser P, Gründer K. Das Erregerspektrum der Onychomykosen in der Universitäts-Hautklinik Giessen 1987–1992 und dessen potentielle Bedeutung für eine antimykotische Therapie. *Z Hautkr* 68: 716–721, 1993.

Mayser P, Hensel J, Thoma W, Podobinska M, Geiger M, Ulbricht H, Haak T. Prevalence of fungal foot infections in patients with Diabetes mellitus type 1 – Underestimations of Moccasin-Type Tinea. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 112: 264-268, 2004.

Misner BD. A novel aromatic oil compound inhibits microbial overgrowth on feet: a case study. *J Int Soc Sports Nutr* 4:3, 2007.

Nenoff P, Krüger M, Haustein U.-F. 15. Tagung der Arbeitsgemeinschaft „Mykologische Laboratoriumsdiagnostik“ innerhalb der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft (DMykG) am 16. November 2001 in Leipzig. *Akt Dermatol* 28: 44-50, 2002.

Nolting S, Ulbricht H. Pilzinfektionen der Körperoberfläche- das Wichtigste von A-Z, *Aventis Pharma Deutschland GmbH*, 40-41.

Orlov FM. Das Wachstum einiger Dermatomyzeten auf einfachen Nährboden . Sovet. Vet: 4: 40, 1940.

Ossowski B, Duchmann U. Effect of domestic laundry processes on mycotic contamination of textiles. Hautarzt. 1997; 48(6):397–401, 1997.

Padheye AA, Weitzman I. The Dermatophytes. In : Vollier L, Balows A, Sussman M, Ahello L, Hay RJ (Hsrg.): Topley and Wilson's medical mycology. Oxford University Press, New York: 215-236, 1998.

Panackal AA, Halpern EF, Watson AJ. Cutaneous fungal infections in the United States: analysis of the National Ambulatory Medical Care Survey (NAMCS) and National Hospital Ambulatory Medical Care Survey (NHAMCS), 1995-2004. Int. J Dermatol. 48: 704-712, 2009.

Pirker C, Hausen BM, Uter W; Hillen U, Brasch J, Bayerl C, Lippert U, Fuchs T, Aberer W, Fartasch M, Tebbe B, Richter G, Kinacivan T, Frosch PJ: Sensitization to tea tree oil in Germany and Austria. A multicenter study of the German Contact Dermatitis Group. J Dtsch Dermatol Ges 1(8): 629-634, 2003.

Reipert S, Kotisch H, Wysoudil B, Wiche G. Rapid microwave fixation of cells monolayers preserves microtubule-associated cell structures. J Histochem Cytochem 56: 697-709, 2008.

Ries J. Mykosen und Sport - Verbreitung von Mykosen bei sportschuhtragenden Sportlern, Phil. Habilitationsschrift, Johann Wolfgang Goethe – Universität zu Frankfurt am Main, 2002.

Rukavishnikova VM, Platonova MP, Yatsukha MV. Some aspects in the epidemiology of mycoses of the soles. Vestn Dermatol Venerol 3:18–22, 1991.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA 74: 5463-5467, 1977.

Sanitá PV; Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Machado AL. Growth of *Candida* species on complete dentures: effect of microwave disinfection. Mycoses 52: 154-160, 2008.

Schäfer W, Haas F. Zur Desinfektion von Schuhen. Hautarzt 9: 135-137, 1958.

Schnitzer T. Vitalität von Pilzelementen (Dermatophyten). Inaug. –Diss. München, 1960.

Seebacher C und Expertengruppe der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft, der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft und des Berufsverbandes der Deutschen Dermatologen. Tinea der freien Haut. In: Korting HC, Callies R, Reusch M, Schläger M, Sterry W (Hrsg.): Dermatologische Qualitätssicherung Leitlinien und Empfehlungen, 6. Auflage, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin; 279-287, 2009.

Silva MM, Vergani CE, Giampaolo ET, Neppelenbroek KH, Spolidoria DMP, Machado AL. Effectiveness of microwave irradiation on the Disinfection of complete dentures. Int J Prosthodont 19:288-293, 2006.

Tanaka K, Katoh T, Irimajiri J, Taniguchi H, Yokozeki H. Preventive effects of various types of footwear and cleaning methods on dermatophyte adhesion. J Dermatol 33: 528-536, 2006.

Ulbricht H. Pilzinfektion des Fußbereiches bei Sportlern. DMykG Forum, Ausgabe 3: 24-26, 2003.

Ulbricht H, Noss G, Nietsch K.-H. Wirksamkeit von Ciclopiroxilamin-Puder in pilzkontaminierten Sportschuhen. Haut 5: 185-186, 2002.

Warshaw EM, St. Clair KR. Prevention of Onychomycosis reinfection for patient with complete cure of all 10 toenails; result of a double blind, placebo-controlled, pilot study of prophylactic miconazole powder 2%. J Am Acad Dermatol 53: 717-20, 2005.

Watanabe K, Kakita Y, Kashige N, Miake F, Tsukiji T. Effect of ionic strength on the inactivation of micro-organisms by microwave irradiation. Lett Appl Microbiol 31(1): 52–56, 2007.

Watanabe K, Taniguchi H, Katoh T. Adhesion of dermatophytes to healthy feet and its simple treatment. Mycoses 43: 43-50, 2000.

Yeo CBA, Watson IA, Stewart-Tull DES, Koh VHH. Heat transfer analysis of *Staphylococcus aureus* on stainless steel with microwave radiation. J Appl Microbiol 87: 396-401, 1999.

Zuikhin DP, Manzurov RM. Use of formidron for the treatment and prevention of foot mycoses and perspiration. Voenn Med Zh 6:76, 1975.

8. ERKLÄRUNG ZUR DISSERTATION

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Giessen, 01.08.2013

Debby Budihardja

9. DANKSAGUNG

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Peter Mayser für die Überlassung des Themas, das mir entgegengebrachte Vertrauen und die beständige, freundliche Unterstützung und Betreuung bei Erstellung dieser Arbeit.

Fr. Förste und dem ganzen mykologischen Team danke ich ganz herzlich für die Hilfe bei den Pilzkulturen und deren Sequenzierung, sowie für die spannenden Kaffee- und Mitternachtspausen.

Dr. Marten Lößner danke ich für die sehr gute statistische Beratung.

Viviane Freund danke ich ganz herzlich für die sprachliche Hilfe, die es ermöglicht hat, diese Arbeit fertig zu stellen, und dass ich den Mut nicht verloren habe.

Insbesondere möchte ich mich bei Papa und Mama bedanken für die liebevolle Unterstützung und ihr Vertrauen in mich, dass ich es schaffen kann. Ohne meine Eltern, wäre ich nicht, was ich jetzt bin.

Anita und Andi, sowie meiner Familie in Deutschland, Ie Ajan, Ie Afung, Anja und deren Familie, danke ich von ganzem Herzen für alles.

Keisha, Nathan und Jonas, meinen Sonnenscheinen, ich bin glücklich dass ihr da seid.

Rouven, danke dass du da bist.

11. ANHANG

	3.Nov	4.Nov	5.Nov	6.Nov	7.Nov	8.Nov	9.Nov	10.Nov	13.Nov	14.Nov	16.Nov	17.Nov	18.Nov	19.Nov	20.Nov	21.Nov	22.Nov	23.Nov	24.Nov	27.Nov	28.Nov
24 Tage alt Ku	3	4	4	5	7	10	11	12.5	20	22	24	25	27	28	31	34	37	78	80	80	80
A	3	4	4	5	8	9	11	13	19	22	25	25	30	31	34	37	40				
B	3	4	4	6	8	10	12	14	20	22	27	29	30	32	34	36	77	78	80	82	82
B	3	4	4	6	8	10	12	14	21	23	26	34	35	38	38	40					
C	3	4	5	6	8	10	12	14	21	23	28	30	33	34	37	38	39	78	80	80	80
C	3	4	5	6	8	11	12	14	21	22	27	30	33	34	38	38	38				
D	3	4	5	6	8	10	12	14	21	22	28	30	33	35	38	38	40	80	80	80	80
D	3	4	4	6	8	10	11	14	21	22	28	30	33	34	37	38	38				
E	3	4	5	6	9	10	12	14	21	23	28	30	33	35	37	38	39	79	80	80	80
E	3	4	5	6	8	11	12	14	20	23	27	30	33	35	36	37	39				
16 Tage alt Ku	3	4	5	6	9	11	12	14	21	24	28	30	33	34	35	36	37	38	39	40	80
A	3	4	5	6	8	10	13	14	21	24	28	30	33	35	36	37	38	38	39	39	
B	3	4	5	6	8	11	12	15	21	24	28	30	33	36	37	38	39	78	80	80	80
B	3	4	6	6	9	11	12	14	20	23	27	30	33	34	37	37	38				
C	3	4	6	6	9	11	12	14	21	23	28	29	30	33	35	37	76	79	80	80	80
C	3	4	5	6	9	10	12	15	20	23	27	28	30	33	35	37					
D	3	4	5	5.5	9	10	12	14	21	23	30	33	35	36	40	38	39	79	80	80	80
D	3	4	5	5.5	9	10	12	14	21	23	28	30	32	34	38	38	38				
E	3	3	4	6	9	10	12	14	21	23	28	30	32	33	34	35	75	75	75	75	75
E	3	3	4	6	9	10	13	14	20	23	28	30	31	34	36	39					
8 Tage alt Kul	3	4	6	7	9	11	13	14	20	23	27	30	32	35	37	38	39	80	80	80	80
A	3	4	6	7	9	11	13	14	20	24	28	30	32	33	37	38	41				
B	3	4	6	7	9	11	13	14	21	23	28	30	33	35	36	38	39	80	80	80	80
B	3	4	6	7	9	11	13	15	23	25	29	32	35	36	39	40	40				
C	3	4	5	6	9	11	13	14	21	24	28	32	33	35	38	39	39	79	80	80	80
C	3	4	5	6	9	11	13	14	22	24	28	32	34	36	38	40	39				
D	3	4	5	7	9	11	13	15	21	22	28	31	32	35	38	38	39	80	80	80	80
D	3	4	5	7	9	11	13	14	20	23	27	30	33	34	37	38	39				
E	3	4	6	6	9	11	13	15	20	23	28	30	32	36	37	38	39	80	80	80	80
E	3	4	5	6	9	11	12	13	20	23	28	30	32	34	35	37	39				

Tabelle 2. Wachstumsgeschwindigkeit verschiedenen alter *Trichophyton rubrum* Stämme in Zentimeters