

## 6. Zusammenfassung

Es wurden 10 T. ment.-Stämme hinsichtlich ihrer Fähigkeit der Keratinasebildung untersucht. Acht der 10 Stämme gehörten der Varietät *asteroides* (früher *granulosum*) an. Der Stamm K 1312/91 zeigte die Merkmale der Varietät *interdigitale*, während der T. ment.-Stamm K 728/92 der Varietät *quinckeanum* angehörte. Die Untersuchungen sollten die Frage klären, ob die gebildeten Keratinasen stammesspezifische Unterschiede aufweisen.

Es konnte gezeigt werden, daß alle 10 untersuchten T. ment.-Stämme in der Lage waren, keratinolytische Enzyme *in vitro* zu sezernieren. Weiterhin wurde deutlich, daß die Bildung und Sekretion dieser Keratinasen durch die angebotenen keratinhaltigen Substrate im Inkubationsmedium induziert wurden.

Erstmals wurde in einer Verlaufsstudie über 28 Tage die Keratinasesekretion durch Stämme des Dermatophyten T. ment. beobachtet. Dabei zeigte sich, daß die Höhe und Dauer der Keratinasesekretion sowohl von dem Substrat als auch von dem T. ment.-Stamm abhängig war.

Acht der 10 untersuchten T. ment.-Stämme zeigten eine längere und höhere Keratinasesekretion in Anwesenheit von gereinigtem Keratin. Eine Ausnahme bildete der Stamm E 1031/91, der bei Inkubation mit Haaren eine höhere Keratinasebildung zeigte. Die Dauer der Sekretion war wiederum bei Zugabe von Keratin länger. Auch der Stamm K 1312/91 zeigte ein abweichendes Verhalten, da die Keratinasesekretion in Anwesenheit von Haaren länger andauerte. Die Höhe der Keratinasesekretion war jedoch unabhängig vom Substrat.

Doch auch die 8 oben erwähnten T. ment.-Stämme wiesen starke Unterschiede hinsichtlich Höhe und Dauer der Keratinasesekretion auf, so daß von einer stammesspezifischen Bildung der Keratinasen gesprochen werden kann.

Die von den untersuchten T. ment.-Stämmen gebildeten Keratinasen

erwiesen sich als unterschiedlich, was durch die verschiedenen Molekulargewichte zum Ausdruck kommt.

Es wurde deutlich, daß sich besonders die Keratinasen der Varietäten interdigitale und quinckeanum von den Keratinasen der anderen Stämme unterscheiden. So bildete der T. ment. var. quinckeanum-Stamm K 728/92 als einziger eine Keratinase mit einem Molekulargewicht von 46.000 Da. Bei den 3 von dem T. ment. var. interdigitale-Stamm K 1312/91 isolierten Proteinen könnte es sich möglicherweise um Untereinheiten eines größeren, keratolytischen Enzyms handeln, das durch die SDS-Page reduziert und aufgespalten wurde. Vier der T. ment. var. asteroides-Stämme bildeten eine Keratinase mit einem Molekulargewicht von 28.000 Da. Zusätzlich zu dieser Keratinase bildete der Stamm E 851/91 zwei weitere, deren Molekulargewichte bei 38.000 Da und 65.000 Da lagen. Der Stamm K 834/92 sezernierte ebenfalls eine Keratinase mit einem Molekulargewicht von 38.000 Da, doch konnte keine Keratinase mit einem Molekulargewicht von 28.000 Da, wie bei den anderen T. ment. var. asteroides-Stämmen, nachgewiesen werden. Mit dem Nachweis der Bildung der oben beschriebenen verschiedenen Keratinasen könnte die Möglichkeit einer Zuordnung von T. ment.-Isolaten zu Varietäten bestehen. Dazu wären Untersuchungen mit weiteren T. ment.-Stämmen der Varietäten interdigitale und quinckeanum nötig.

Ob ein Zusammenhang zwischen der Bildung verschiedener Keratinasen, auch innerhalb einer Varietät, und unterschiedlich ausgeprägten klinischen Erscheinungsformen besteht, bedarf ebenfalls noch der Klärung.

## Summary

Siesenop, Ute

Isolation and demonstration of keratinases from different *Trichophyton mentagrophytes* strains

Ten strains of *Trichophyton mentagrophytes* (*T. ment.*) were examined according to their ability to produce keratinases. Eight of these strains belonged to the *varietas asteroides* (before *granulosum*). Strain K 1312/91 showed the morphology of the *varietas interdigitale*, while the strain K 728/92 belongs to the *varietas quinckeanum*. The studies should answer the question whether the expression of keratinases is specific for the *T. ment.* strains.

All 10 strains were able to secrete a keratinolytic enzyme *in vitro*. The results indicate that the production and the secretion of these keratinases were induced by the keratinous substrate in the medium.

For the first time the secretion of keratinases by strains of the dermatophyte *T. ment.* was studied over a period of 28 days. These examination showed that the duration and the extent of the secretion of keratinase depended both on the substrate and on the *T. ment.* strain.

Eight of the 10 strains studied showed a longer and higher production of keratinase with a pure keratin as substrate. In contrast the secretion of keratinase by the strain E 1031/91 was higher while incubated with hair. On the other hand the duration of the keratinase production was longer with keratin as substrate. The strain K 1312/91 also behaved different. The duration of the expression was longer with hair as substrate while the extent of secretion was not influenced by the substrate. But even the mentioned 8 strains showed striking differences concerning the duration and the extend of the production of keratinases.

Further on the *T. ment.* strains studied produced different keratinases, which is expressed by the different molecular weights of the enzymes.

Especially the keratinases produced by the strains belonging to the varieties *interdigitale* and *quinckeanum* differ from the keratinases of the other strains.

The keratinase of the *T. ment.* var. *quinckeanum* strain K 728/92 was the only keratinase produced with a molecular weight of 46.000 Da. The 3 proteins isolated from the *T. ment.* var. *interdigitale* strain K 1312/91 may be subunits of a great keratinolytic enzyme which was reduced and splitted by the SDS-page. Four of the *T. ment.* var. *asteroides* strains produced a keratinase with the molecular weight of 28.000 Da. In addition to this enzyme the strain E 851/91 secreted two others with molecular weights of 38.000 Da and 65.000 Da. The strain K 834/92 also expressed a keratinase with a molecular weight of 38.000 Da while a keratinase of a molecular weight of 28.000 Da was not produced.

By detecting the secretion of the different keratinases mentioned above there might be the possibility to classify *T. ment.* isolates to the different varieties. Therefore more studies with *T. ment.* var. *interdigitale* and var. *quinckeanum* will be necessary.

Also it should be clarified if there is a connection between the production of different keratinases and various clinical signs.