

Aus dem Department für Interdisziplinäre Lebenswissenschaften
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Messerli Forschungsinstitut
(Leiter: Univ.-Prof. Dr.rer.nat. Ludwig Huber)

**Bestimmung von Speichelcortisolwerten von
Blindenführhunden zur Ermittlung ihres Stresslevels
im Vergleich zu Familienhunden sowie anderen
Assistenzhundeklassen**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Britta Mang, MSc.

Wien, Juli 2024

Betreuer:

Univ.-Prof. Dr.rer.nat. Ludwig Huber

Messerli Forschungsinstitut

Department für Interdisziplinäre Lebenswissenschaften

Veterinärmedizinische Universität Wien

Mag. med.vet. Karl Weissenbacher

Messerli Forschungsinstitut

Prüf- und Koordinierungsstelle Assistenzhunde und
Therapiebegleithunde

Veterinärmedizinische Universität Wien

Gutachter:

Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Rupert Palme

Department für Biologische Wissenschaften und
Pathobiologie

Experimentelle Endokrinologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Alle sinngemäß und wörtlich übernommenen Textstellen aus fremden Quellen wurden kenntlich gemacht.

Wien, den 01.07.2024

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'B' followed by a horizontal line and a diagonal stroke.

Britta Mang

Zusammenfassung

Blindenführhunde spielen in unserer Gesellschaft eine große Rolle für Inklusion von Menschen mit Sehbeeinträchtigungen. Es existieren einige Studien, die sich mit der Eignung von Hunden für diese Aufgabe im Vorfeld beschäftigen. Jedoch gibt es im Hinblick auf das Wohlergehen der Blindenführhunde nach der Anerkennung wenig wissenschaftliche Grundlagen. Gerade weil sie in vielen unterschiedlichen Situationen konzentriert arbeiten müssen, ist es möglich, dass Blindenführhunde einer erhöhten Stressbelastung ausgesetzt sind, was dem Körper auf Dauer schaden kann. Ziel dieser Studie ist daher, die Stressbelastung im Alltag von Blindenführhunden im Vergleich zu anderen Hundegruppen (Familienhunde, Therapiebegleithunde, Diabetikerwarnhunde und Assistenzhunde für Menschen mit posttraumatischer Belastungsstörung (PTBS)) zu untersuchen.

Ein guter Biomarker für die Bestimmung von akutem Stress ist das Hormon Cortisol, welches unter anderem in Speichelproben nachgewiesen werden kann und sich bereits in Studien mit Hunden als verlässlicher Parameter zeigte. Proben von neun in Österreich anerkannten Blindenführhunden wurden über einen Zeitraum von sieben Tagen dreimal täglich entnommen, um mögliche Schwankungen zu detektieren. Stressereignisse wurden während des Entnahmezeitraumes dokumentiert. Es zeigte sich, dass weder Entnahmezeitpunkt noch der Entnahmetag einen Einfluss auf die Cortisolkonzentrationen hatten. Im Vergleich zu Daten aus früheren Studien zeigten die Blindenführhunde tendenziell niedrigere Cortisolwerte als Familienhunde, Therapiebegleithunde und Diabetikerwarnhunde. Die Cortisolwerte der PTBS-Assistenzhunde liegen im Bereich der Testgruppe.

Beide Assistenzhundeklassen sind in permanenter nonverbaler Kommunikation mit ihren Hundeführer:innen. Um den Herausforderungen im Alltag gewachsen zu sein, ist mitunter eine besondere Resilienz und Ausgeglichenheit von Nöten, was sich auch in einem niedrigeren Cortisolspiegel zeigen kann. Qualitative Betrachtungen in dieser Studie haben zudem gezeigt, dass Blindenführhunde durchaus mit einem Cortisolanstieg auf dezidierte Stressstimuli reagieren.

Generell legen die Ergebnisse dieser Untersuchung nahe, dass die momentanen Auswahlkriterien für potenzielle Blindenführhunde und die anschließende Ausbildung adäquat sind, sodass keine erhöhte Stressbelastung im Alltag entsteht.

Für eine statistische Vergleichbarkeit der Hundegruppen ist sowohl eine größere Stichprobe als auch eine maximale Standardisierung im Versuchsdesign und der Vergleichsgruppen erforderlich.

Abstract

Guide dogs play a significant role in promoting inclusion and integration for individuals with visual impairments. While numerous studies have assessed the suitability of dogs for this role, there is a lack of scientific research focusing on the welfare of guide dogs post-certification. Given the diverse and often demanding situations these dogs encounter, they may experience elevated stress levels, potentially leading to long-term physiological damage. This study aims to evaluate the everyday stress levels of guide dogs compared to other dog groups (family pets, therapy dogs, diabetic alert dogs, and PTSD assistance dogs).

Cortisol, a hormone measurable in saliva, serves as a reliable biomarker for acute stress in dogs, as established by previous research. Saliva samples from nine certified guide dogs were collected three times daily over a seven-day period to detect potential fluctuations. Special stress-inducing events were documented throughout the sampling period.

The findings indicate that neither the time of day nor the specific day of sampling significantly affected cortisol concentrations. Compared to data from previous studies, guide dogs exhibited lower cortisol levels than family pets, therapy dogs, and diabetic alert dogs. The cortisol levels of PTSD assistance dogs were comparable to those of the guide dogs.

Both guide dogs and PTSD assistance dogs share a close partnership with their handlers, involving constant non-verbal communication. This unique relationship may foster resilience and emotional stability, reflected in lower cortisol levels. Qualitative analyses also revealed that guide dogs respond to specific stress stimuli with a rise in cortisol. Due to the significant individual variability in basal cortisol levels, examining relative cortisol responses presents a promising avenue for future research to better evaluate stress in assistance dogs.

Overall, the results of this study suggest that the current selection criteria and training processes for prospective guide dogs are adequate, ensuring that they do not experience increased stress levels in their daily lives.

For statistical comparability of the dog groups, both a larger sample size and maximum standardization in the experimental design and comparison groups are required.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Wohlergehen und Stress	1
1.2	Cortisol als Stressmarker.....	3
1.3	Assistenzhunde – ein Überblick.....	4
1.4	Fragestellung und Zielsetzung.....	5
2.	Material und Methoden.....	7
2.1	Studienzulassung	7
2.2	Probanden.....	7
2.3	Studiendesign und Probenentnahme.....	7
2.4	Cortisol Messung	9
2.5	Vergleichsgruppen und Datenanalyse	10
3.	Ergebnisse	11
3.1	Stress und Abnahmezeitpunkt als Einflussfaktoren	12
3.2	Cortisollevel im Vergleich zu anderen Hundegruppen.....	16
4.	Diskussion	18
4.1	Versuchsdesign als Einflussfaktor	18
4.2	Hundeklassen im Vergleich	19
4.3	Individuelle Cortisollevel	21
4.4	Zusammenfassung und Ausblick	22
5.	Literatur	24
6.	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	30
7.	Anhang	31
	Informationen über die Blindenführhunde der Studie	31
	Infomaterial für Besitzer	32
	Danksagung	36

1. Einleitung

In den letzten 20 Jahren gerät das Wohlergehen von Tieren in menschlicher Obhut, vor allem aber auch von Hunden in der Mensch-Tier-Beziehung zunehmend in den Fokus wissenschaftlicher Betrachtungen (1–3). Dahinter steht der Wunsch, das Wohlergehen auf Seiten der Tiere sowohl zu definieren als auch gegebenenfalls zu optimieren. Ein wichtiger Baustein in unserer Gesellschaft sind in diesem Zusammenhang Assistenzhundeteams, welche in den letzten Jahren immer stärker an Bedeutung gewonnen und sich in diverse Richtungen entwickelt haben (4).

Die bekannteste und größte Gruppe innerhalb der Assistenzhunde stellen dabei nach wie vor die Blindenführhunde mit 120 geprüften Teams in Österreich allein dar. Blindenführhunde unterstützen beeinträchtigte Menschen schon seit Jahrhunderten. Erste Dokumentationen zu gezielten Ausbildungsstätten für Blindenführhunden stammen aus dem Deutschland der 20er Jahre (4). Während die Vorteile eines Blindenführhundes für die beeinträchtigten Menschen und die positiven Auswirkungen ihrer Unterstützung auf die Bewältigung des Alltages schon wissenschaftlich ausgiebig betrachtet wurden, gibt es im Hinblick auf das Wohlergehen der Blindenführhunde wenig wissenschaftliche Grundlagen (5–7).

1.1 Wohlergehen und Stress

Generell stellt das Wohlergehen von Tieren und dessen Einschätzung eine große Herausforderung dar. Um der Vielschichtigkeit der Bedürfnisse von Nutz- aber auch Haustieren gerecht zu werden, wurde in den Neunzigern das „Five Freedoms“ Model spezifiziert (8). Dabei gilt als Maß für das Wohlergehen von Tieren vor allem das Fehlen von negativen Einflüssen: Sie sollen frei von Hunger, Durst und Mangelversorgung sein, frei von temperaturbedingten oder generell physischem Unbehagen, frei von Schmerz, Verletzung und Krankheit, frei von Angst- und Stresszuständen sowie frei sein, artgerechte Verhaltensweisen ausleben zu können. Ausgehend von diesem Konzept wurde das Model der „Five Domains“ entwickelt (9), um ein umfassendes Tool zur Bewertung von Tierwohl zu etablieren, welches neben negativen Auswirkungen auch positive Einflüsse berücksichtigt. Dabei sind die Domänen gegliedert in die vier Domänen Ernährung (mit den affektiven Erfahrungen von Hunger und Durst), Physische Umwelt (adäquate oder inadäquate Lebensbedingungen), Gesundheit (Fitnesszustand, Schmerz, medizinische Versorgung) und soziale Interaktion (Exposition gegenüber Stresssituationen, Kontakt zu Artgenossen und Menschen), welche

sich alle in der Domäne fünf, dem Geisteszustand, zu einem Gesamterlebnis und allgemeinen Wohlbefinden integrieren.

Im speziellen Fall der Assistenzhunde, beziehungsweise der Blindenführhunde, welche in dieser Arbeit im Fokus stehen, liegen primäre, potenzielle Faktoren für einen negativen Einfluss auf das Wohlergehen vor allem im Bereich der Domäne vier, die die Interaktionen mit der Umwelt und soziale Kontakte berücksichtigt. Möglicherweise entstehende Furcht, Unruhe oder Frustration im Alltag der Hunde kann zu Stress führen (9).

Chronische Stresszustände können einen starken negativen Einfluss auf das Wohlergehen und die Gesundheit von Säugetieren haben (10). Zwar gibt es auch bei Hunden Eustress, sogenannten positiven Stress (11), durch dessen Kurzweiligkeit sind schädlichen Effekte auf Gesundheit und Wohlergehen jedoch wesentlich geringer als die von chronischem, negativen Stress, welchen man auch als Distress bezeichnet (12). Stress wird dabei als eine biologische Reaktion des Körpers definiert, welche durch außergewöhnliche Umstände, sogenannte Stressoren, ausgelöst wird und die natürliche Homöostase bedroht (13, 14).

Grundlegend sind zwei physiologische Achsen an der Stressantwort des Körpers beteiligt, welche sich gegenseitig beeinflussen: Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) zum einen, die Sympathisch-adrenomedulläre-Achse (SAM-Achse) zum anderen (11). Letztere wird typischerweise mit einer akuten Stressreaktion assoziiert, der sogenannten „Fight-or-Flight“ Reaktion. Aktiviert durch das Zentralnervensystem (ZNS) kommt es zu einer raschen Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark (Adrenalin) und durch das autonome Nervensystem (Noradrenalin). Die Freisetzung dieser Hormone bewirkt eine Erhöhung der Herzfrequenz, beeinflusst den Blutdruck (zentrale Vasodilatation und Vasokonstriktion der peripheren Blutgefäße) und fördert die Glykolyse zur Energiegewinnung (15). Die HPA-Achse ist dagegen mit einer eher langfristigen bzw. chronischen Stressreaktion assoziiert. Wie bei der SAM-Achse spielt auch hier das ZNS die aktivierende Rolle. Im Hypothalamus wird dabei das Corticotropin-releasing Hormon (CRH) freigesetzt. Das CRH stimuliert die Hypophyse (Vorderlappen der Hirnanhangsdrüse), welche wiederum das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) ausschüttet. Durch die Wirkung von ACTH auf die Nebennierenrinde werden dort Glukokortikoide sezerniert, welche die Gluconeogenese, den Fett- sowie Proteinabbau fördern und auch schwächend auf die körpereigene Immunantwort wirken (15). Man unterscheidet bei den Glukokortikoiden zwischen Cortisol und Corticosteron, wobei Cortisol unter anderem bei Primaten, Katzen und Hunden prävalent ist (16). Die HPA Achse wird durch einen negativen Feedback-

Mechanismus reguliert. Das bedeutet, dass hohe Konzentrationen von Glukokortikoiden hemmend auf die sekretorische Aktivität des Hypothalamus und der Hypophyse wirken. Diese negative Rückkopplung ist entscheidend, um die Homöostase wiederherzustellen und den Körper nach einem Stressereignis in seinen Ruhezustand zurückzuführen (15).

1.2 Cortisol als Stressmarker

Um Stressbelastungen von Hunden in bestimmten Situationen oder im Alltag zu bestimmen, werden gerne bestimmte Verhaltensweisen als Indikatoren herangezogen (14, 17). Darunter fallen generelle Unruhe, Vokalisation, Hecheln oder die Tendenz zum Rückzug, aber auch wesentlich subtilere Gesten wie das Belecken der Lippen, Gähnen oder oft positiv assoziierte Schwanzwedeln (18). Da dadurch eine Interpretation fehlerhaft ist und eine Quantifizierung oft schwierig ist, ist die Bewertung des Verhaltens in wissenschaftlichen Betrachtungen von Stress idealerweise nur eine Ergänzung zu einem gezielt bestimmbar Biomarker (19).

Neben anderen Biomarkern wie zum Beispiel Chromogranin A (CgA) oder dessen Epitope Catestatin und Vasostatin, welche Marker für die Aktivierung der SAM-Achse darstellen (11), hat sich Cortisol als geeigneter Marker für Stress bei Hunden in zahlreichen Studien gezeigt (11, 20, 21). Cortisol ist dabei neben der Ermittlung im Blutplasma (22) auch aus Speichel, Kot, Urin und Haaren extrahierbar (21, 23–26). Der Entnahmeort spielt dabei eine wesentliche Rolle in der Interpretation der Ergebnisse. Die Methode, die am unabhängigsten ist von direktem Tierkontakt, ist die Verwendung von Kotproben. Allerdings haben die Werte der Cortisolmetabolite dieser Proben nur eine kumulative Aussagekraft über zurückliegende bzw. langanhaltende Stressphasen (15, 27). Dazu ist Kot einer schnellen bakteriellen Zersetzung ausgesetzt, was eine rasche Probenentnahme nach Absatz notwendig macht (16). Ähnlich verhält es sich mit dem Cortisolgehalt in Haaren, auch hier wird Cortisol über einen längeren Zeitraum eingelagert. Darüber hinaus schwanken die Cortisol Konzentrationen stark entlang des Haares und können von der jeweiligen Haarpigmentierung beeinflusst werden (28).

Eine exakte und unmittelbare Bestimmung von Cortisol bei akuten Stressreaktionen ist im Blutplasma möglich (15). Allerdings ist die Blutentnahme ein stark invasiver Eingriff, welcher zusätzlichen Stress erzeugt (29, 30). Vincent und Michell zeigten jedoch schon 1992, dass die Konzentrationen von Speichelcortisol bei Hunden eng mit denen im Blutplasma korrelieren, sodass die wesentlich stressfreiere Entnahme von Speichelproben eine adäquate Alternative darstellt (22).

Freies Cortisol gelangt dabei über passive Diffusion über die Azinuszellen, welche das sekretorische Endstück der Speicheldrüsen bilden, in den Speichel. Einen Cortisolanstieg im Blutplasma durch die Aktivierung der HPA-Achse zeigt sich mit einer Verzögerung von ca. 20 min nach Stressimpuls (30), die Diffusion in den Speichel geschieht dann in einem Zeitraum von lediglich zwei bis drei Minuten (24). Dadurch ist die Untersuchung von Speichelcortisol vor allem zur Detektion von akutem Stress besonders geeignet und um mögliche Veränderungen im Tagesablauf zu detektieren.

In diesem Zusammenhang gibt es einige Faktoren, die den Cortisolspiegel beeinflussen können: Einige Studien zeigen einen Effekt des zirkadianen Rhythmus, wobei der Cortisolspiegel am Morgen höher ist (26, 31). Darüber hinaus können auch eine starke körperliche Beanspruchung und oder Futteraufnahme den Cortisolspiegel – vor allem im Speichel – beeinflussen (20, 32). Daher ist es wichtig, durch eine standardisierte Probenahme unter definierten Bedingungen nicht gewollte Beeinflussungen der Ergebnisse zu vermeiden, wie auch in dieser Studie angestrebt (siehe Material und Methoden).

1.3 Assistenzhunde – ein Überblick

Assistenzhunde sind speziell ausgebildete Hunde, welche darauf trainiert sind, differenzierte Aufgaben zu übernehmen, um die Einschränkungen von Menschen mit Behinderung zu kompensieren oder sie zumindest zu mindern (33). In Österreich wurde neben den Regelungen durch das Bundesbehindertengesetz (34) zudem am 1.1.2015 ein gesetzlicher Rahmen verabschiedet, der die Kategorisierung von Assistenzhunden klar regelt und Regeln und Rechte definiert (34, 35). Dabei wurden verschiedene Untergruppen von Assistenzhunden definiert:

- **Signalhunde:** Zur Unterstützung von Menschen mit Hörbehinderung sowie Menschen mit chronischen psychischen oder körperlichen Erkrankungen wie zum Beispiel Diabetes, Epilepsie oder eine posttraumatische Belastungsstörung (PTBS)
- **Servicehunde:** Zur Unterstützung von Menschen mit körperlichen Behinderungen und damit verbundenen Mobilitätseinschränkungen (Zum Beispiel Rollstuhlfahrer:innen)
- **Blindenführhunde:** Unterstützung von blinden und seheingeschränkten Menschen zur Förderung deren Mobilität in vertrauter und fremder Umgebung.

Die Eignung von Hunden für die Arbeit als Assistenzhund ist dabei unterteilt in die gesundheitliche Eignung, die Verhaltenseignung und die Arbeitsleistungseignung, welche spezifisch für die jeweilige Assistenzhundeklasse bewertet wird (Details sind den Richtlinien

Assistenzhunde zu entnehmen; (34)). Zur Durchsetzung dieser Voraussetzungen wurde ein Regelwerk zur objektiven Kontrolle geschaffen. So werden die Hunde von einer unabhängigen Stelle in einem Ausschussverfahren geprüft. In Österreich nimmt diese Funktion die Prüf- und Koordinierungsstelle am Messerli Forschungsinstitut der Veterinärmedizinischen Universität in Wien ein. Zur Zeit gibt es noch kein einheitliches Regelwerk für die verschiedenen (europäischen) Länder (4), das europäische Komitee für Standardisierung (CEN) arbeitet jedoch zur Zeit daran, einen europäischen Konsens im Bereich Eignung und Ausbildung von Assistenzhunden zu implementieren (33).

Von den Assistenzhunden im eigentlichen Sinne sind zudem die sogenannten Arbeitshunde (zum Beispiel Rettungshunde, Diensthunde, Hütehunde) sowie Therapiebegleithunde abzugrenzen. Während Arbeitshunde keiner gesetzlichen Regelung unterstehen, werden Therapiebegleithunde ebenfalls im §39a des Bundesbehindertengesetzes definiert (35): Sie sind Teil eines therapeutischen Konzeptes, bei dem der Einsatz des Therapiebegleithundes im Team mit dem oder der Halter:in eine positive Auswirkung auf das Leben von Menschen mit Behinderungen haben soll. Sie werden, ähnlich wie auch Assistenzhunde, für diese Tätigkeit im Vorfeld ausgebildet und begutachtet. Allerdings gewährt die Anerkennung als Therapiebegleithund nicht die gleichen Rechte, wie die als Assistenzhund. Eine Mitnahme im Supermarkt oder die Nutzung des öffentlichen Nahverkehrs ohne Maulkorb ist nicht zulässig (36, 37). Betont wird dabei, dass Therapiebegleithunde nur stundenweise in tiergestützter Therapie zum Einsatz kommen und im Alltag in der Regel nicht im Dienst des Menschen stehen (38).

1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Das Wohlergehen der Tiere in der Mensch-Hund Beziehung im Kontext von Assistenzhundeteams gewinnt immer mehr Bedeutung, vor allem auf Hinblick des Bestrebens einheitliche Richtlinien zu etablieren, die allen Assistenzhundeklassen gerecht werden (17, 39, 40). Um Lösungen und Ansatzpunkte für einen optimierten Tierschutz in der Zukunft zu finden, ist es wichtig den momentanen Status von fertig ausgebildeten Assistenz- und anderen Arbeitshunden zu betrachten.

Fokussierend auf den DACH-Raum (Deutschland, Österreich, Schweiz), gibt es bereits einige Studien, die Speichelcortisolwerte als Maß für Stressbelastungen im Alltag von Assistenzhunden genutzt haben. Darunter wurden Cortisolwerte aus der Gruppe der Signalhunde Diabeteswarnhunde (41) und PTBS-Assistenzhunde (42) sowie Servicehunde

(43) im mit Cortisolwerten von Familienhunden verglichen. Neben Untersuchungen von Speichelcortisolwerten von Personensuchhunden (44) wurden ebenfalls bereits Studien zur Belastungen von Therapiebegleithunden durchgeführt (41, 45).

Ähnliche Betrachtungen im Hinblick auf Blindenführhunde fehlen jedoch zuweilen. Eine kürzlich erschienene Studie aus Mexiko untersucht zwar Speichelcortisolwerte von Blindenführhunden, betrachtet dabei aber gezielt provozierte Stresssituationen, eine Aussage über Cortisolwerte im Alltag innerhalb der Mensch-Hunde-Teams ist davon nicht abzuleiten (46).

Ziel dieser Studie ist es, diese Kenntnislücke zu schließen und sich einen allgemeinen Überblick über die Cortisolwerte als Maß für Stressbelastungen im Alltag von Blindenführhunden zu verschaffen. Die anspruchsvollen Aufgaben von Blindenführhunden, wie das selbständige Beurteilen von Gefahrensituationen und dem entsprechenden Handeln, erfordern eine konstante Wachsamkeit und Konzentration (47). In Anbetracht dessen ist anzunehmen, dass Blindenführhunde im Alltag einen höheren Cortisollevel vorweisen als andere Vergleichsgruppen, insbesondere sogenannte Familienhunde ohne besondere Aufgaben. Zudem stellt sich die Frage, wie sich die Cortisolwerte von anderen Assistenzhundeklassen im Vergleich verhalten. Vor allem im Alltag von Servicehunden (stellvertretend in dieser Studie Diabeteswarnhunde sowie PTBS-Assistenzhunde) ist eine ähnliche Alarmbereitschaft und konstante Aufmerksamkeit erforderlich (41, 42). Als vierte Vergleichsgruppe wird in dieser Studie die Gruppe der Therapiebegleithunde betrachtet, welche zwar nicht als Assistenzhunde im eigentlichen Sinne anerkannt sind und nur stundenweise im Einsatz sind, aber trotzdem eine ähnliche charakterliche Eignung vorweisen müssen (35).

2. Material und Methoden

2.1 Studienzulassung

Die Studie wurde von der Ethik- und Tierschutzkommission der Veterinärmedizinischen Universität Wien im Hinblick auf ihre Übereinstimmung mit der Good Scientific Practice und den einschlägigen nationalen Rechtsvorschriften geprüft und befürwortet (ETK-061/04/2023).

2.2 Probanden

Insgesamt haben an der vorliegenden Studie elf Assistenzhundeteams teilgenommen, welche von der Prüf- und Koordinierungsstelle für Assistenzhunde (Messerli Forschungsinstitut) kontaktiert wurden. Die elf Blindenführhunde der TeilnehmerInnen sind als Assistenzhunde gemäß § 39a BBG (35) beurteilt und anerkannt. Alle Hunde waren zum Zeitpunkt der Teilnahme klinisch gesund, erhielten keine medikamentöse Therapie und sind regelmäßig geimpft sowie entwurmt. Insgesamt handelte es sich dabei um fünf Hündinnen sowie sechs Rüden in einem Alter zwischen drei und sieben Jahren. Zwei der elf Hunde haben die Probenentnahme nicht erfolgreich abgeschlossen und wurden folglich aus der Studie exkludiert (für eine detaillierte Übersicht der getesteten Hunde siehe Anhang Tabelle 5).

2.3 Studiendesign und Probenentnahme

Als Maß für den Stresslevel der Blindenführhunde wurden Cortisolspiegel im Speichel der Tiere bestimmt. Um eine zuverlässige Aussage über die mittleren Cortisolspiegel und deren Schwankungen treffen zu können, erfolgte die Entnahme in festgelegten Zeiträumen (3x tgl.: morgen, mittags, abends) sowie konsekutiv an sieben aufeinander folgenden Tagen. Dadurch ergeben sich insgesamt maximal 189 Einzelproben. Der erste Wochentag der Probenentnahme konnte dabei frei gewählt werden.

Die Messungen wurden im eigenen Haushalt und innerhalb der vertrauten Mensch-Tier-Beziehung durchgeführt.

Die korrekte Entnahme der Speichelprobe stellt allerdings eine besondere Herausforderung bei Blindenführhunden dar, da die Besitzer zumindest sehbeeinträchtigt sind. Bedingung für die Teilnahme an der Studie war daher, dass eine dritte, sehunbeeinträchtigte Person mit im Haushalt lebt, welche ebenfalls eine enge Bindung zum Blindenführhund pflegt und die Probenentnahme durchführen bzw. überwachen kann.

Die erforderlichen Utensilien sowie eine genaue Anleitung mit Checkliste (Schriftlich und per Video) zur Durchführung wurden den Studienteilnehmer:innen zugesandt. Des Weiteren lag der Sendung zusätzliches Material zur Übung sowie eine Einverständniserklärung bei (Alle Unterlagen exemplarisch zu sehen im Anhang (Abb. 7-12).

Der genaue Prozess der Speichelentnahme lief wie folgt ab:

Zunächst war sicherzustellen, dass der Hund vor Probeentnahme mindestens eine Stunde lang keinerlei Futter aufgenommen hat und nicht kürzlich übermäßig körperlich aktiv war, um eine Datenbeeinflussung zu vermeiden. Nun platzierte der oder die Entnehmer:in mit Einweghandschuhen die Baumwollrolle aus der Cortisol-Salivette (Cortisol-Salivette®, SARSTEDT AG&Co, Deutschland; Abb. 1) in die Lefze des Hundes, dort verblieb sie für genau eine Minute. Nach Überführung der Probe in die Salivette, wird diese beschriftet (Name des Hundes, Datum, Uhrzeit) und anschließend eingefroren. Die Entnahme erfolgt konsekutiv an sieben aufeinander folgenden Werktagen. Der Testzeitraum, der jeweiligen Entnahmezeitpunkt sowie der Probenentnahme vorangegangene, besondere Ereignisse wurden in einer dafür vorgesehen Tabelle eingetragen (siehe Anhang, Abb.7). Nach Abschluss der Probenentnahme, wurden diese an die Veterinärmedizinischen Universität Wien zurückgeschickt. Entsprechende Kühlboxen mit Kühlmittel für den adäquaten Versand wurden im Vorhinein zur Verfügung gestellt (siehe Anhang Abb. 8).

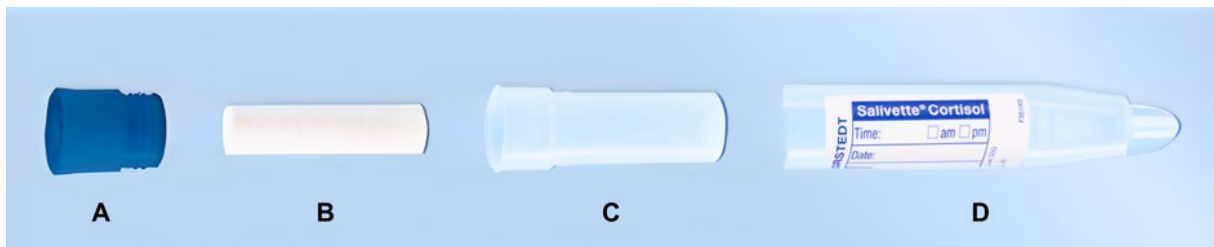


Abbildung 1 Komponenten der verwendeten Cortisol-Salivette (SARSTEDT AG&Co, Deutschland).

A: Stopfen/Deckel. **B:** Baumwollrolle. **C:** Innerer Tubus. **D:** Zentrifugiergefäß

2.4 Cortisol Messung

Die zurückgesandten Proben wurden in der Abteilung Experimentelle Endokrinologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien analysiert. Zur Bestimmung der Proben auf ihren Cortisolkonzentration wurde ein auf Palme & Möstl (48) basierender, kompetitiver Enzymimmunoassay (EIA) durchgeführt (siehe Abb. 2). Dieser wurde bereits in vorangegangenen Studien zur Bestimmung von Cortisol in Hundespeichel erfolgreich verwendet (41, 45, 49, 50)

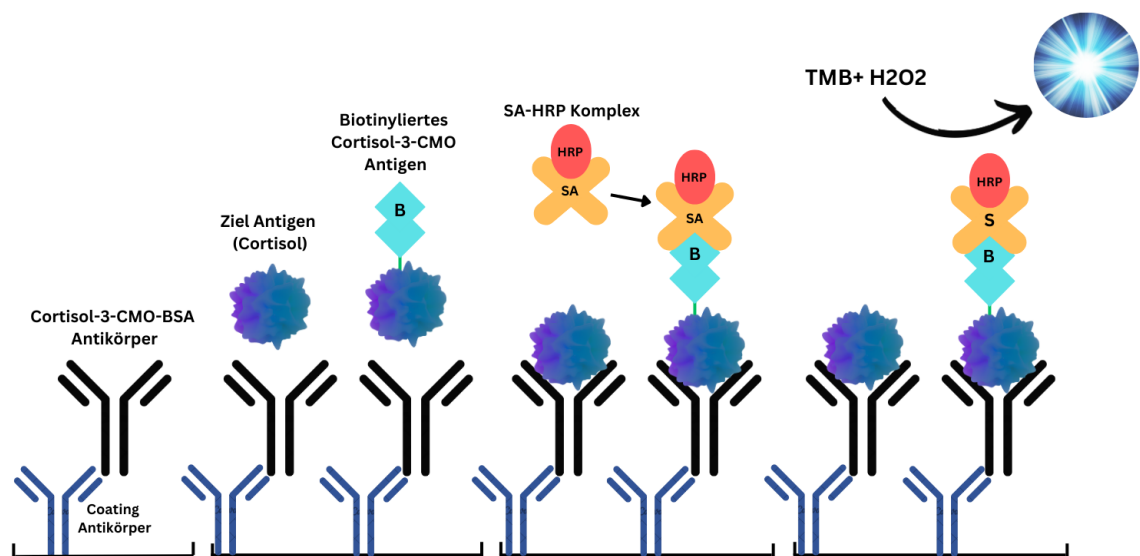


Abbildung 2 Schematischer Ablauf des Cortisol EIA (Enzym Immunoassay). Der durch den Coating Antikörper (Goat Anti-Rabbit IgG) immobilisierte Cortisol Antikörper (Gegen Cortisol-3-O-carboxymethyl oxime-bovine serum albumin – Cortisol-3-CMO-BSA) bindet kompetitiv das Ziel Antigen aus der Probe und das Tracer Antigen Cortisol-3-CMO-B. Das Konjugat aus Horseradish peroxidase (HRP) und Streptavidin (SA) fungiert als Reportermolekül durch die Bindung an Biotin (B) und die Blaufärbung im Tetramethyl Benzadin (TMB) Substrat mit Wasserstoffperoxid H₂O₂ (negative Korrelation zum Cortisolgehalt der Probe).

Zur Vorbereitung der Proben wurden diese nach Erhalt aufgetaut und für 10 Minuten bei 3750 U/min zentrifugiert. Jeweils 50 µl des auf diese Weise verflüssigten Speichels wurden anschließend in einer 1:10 Verdünnung mit Assaypuffer in eine 96 Well Platte (Immunoplate Maxisorp F96; Nunc, Roskilde, Denmark) übertragen, das jeweilige Belegungsschema dieser Platten ist in Abb. 3 zu sehen.

Der Schwellenwert für die korrekte Detektion von Cortisol in der Probe lag bei 0,3 pg/well. Unter Berücksichtigung der initialen Speichelmenge wurde im finalen Schritt auf Nanogramm pro Milliliter (ng/ml) hochgerechnet.

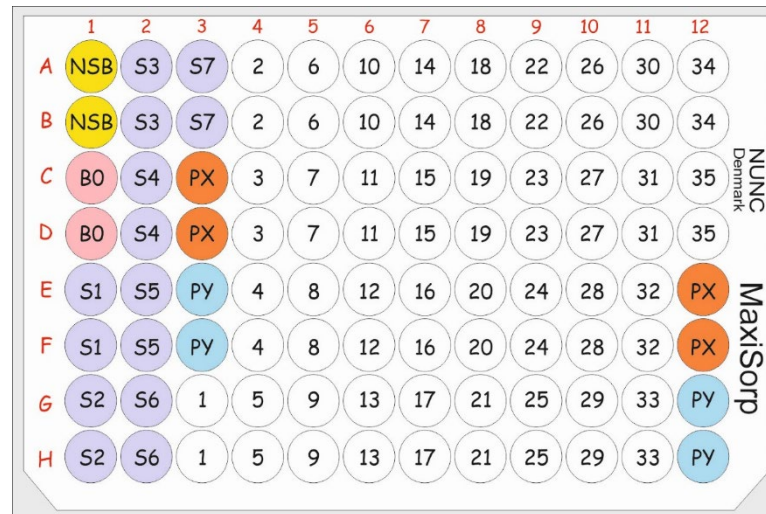


Abbildung 3 Belegungsschema EIA. NSB: Non-Specific Binding – Kontrolle, die verwendet wird, um unspezifische Bindungen zu identifizieren. S1-7: Standardkonzentrationen des Analyten, um eine Standardkurve zu erstellen. B0: Probe mit maximaler Bindung – Kontrolle ohne Probenzugabe mit Antikörper und Enzymlabel (EL), erzeugt maximale optische Dichte (OD). PX/PY: Positivkontrollen – enthalten eine bekannte Menge X/Y des Analyten, um die Funktionalität des Assays sicherzustellen. 1-35: Zu analysierende Proben in Duplikaten.

2.5 Vergleichsgruppen und Datenanalyse

Für die vergleichende Metaanalyse mit den Speichelcortisolwerten anderer Assistenzhunde sowie von Familienhunden ohne besondere Aufgabe (Familienhunde), wurden Daten aus zwei bereits durchgeführten Studien verwendet. Gerwisch et al. (49) lieferten Daten zu den Speichelcortisolwerten von Assistenzhunden von Menschen mit posttraumatischer Belastungsstörung (PTBS; N=9). Die Daten der Diabetikerwarnhunde (N=9), Therapiebegleithunde (N=8) sowie der Familienhunde (N=9) stammen aus der Diplomarbeit von Bruckner (41).

Für die statistische Analyse wurde SPSS 24 für Windows (SPS, Inc, Chicago, USA) genutzt. Es zeigte sich eine linksschiefe Verteilung der Daten, daher wurden die Cortisolwerte Log transformiert. Der logarithmierte Datensatz wurde im Anschluss mittels Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf seine Normalverteilung überprüft. Für die weitere Analyse wurde ein gemischtes Modell („general linear mixed effects model“ -GLMM) genutzt.

Als fixe Effekte wurden dabei Tageszeit und Wochentag definiert. Als statistisch signifikant wurde ein Wert von $p \leq 0,05$ angenommen.

3. Ergebnisse

Nach Ausfall von zwei Probanden blieben zur Auswertung insgesamt 189 Proben von 9 Hunden. 77 der eingereichten Salivetten enthielten zu wenig Speichel für die Analyse mittels ELISA. Dies entspricht einem Ausfall von 40,7 %. Von keinem Hund innerhalb der Kohorte konnte eine vollständige Datenerhebung (21 Proben) gewonnen werden. Die höchste individuelle Erfolgsquote lag dabei bei 90,5 %, die niedrigste bei 19 % (Siehe Tab. 2).

Über alle analysierten Speichelproben lag der durchschnittliche Cortisolgehalt bei $0,87 \pm 0,61$ ng/ml mit einem Minimalwert von 0,05 ng/ml und Maximalwert von 3,24 ng/ml (siehe Tab. 1).

Tabelle 1 Übersicht der von den Probanden (N) analysierten Proben (n) und deren Cortisolgehalte

	N	n	Minimum	Maximum	Mittelwert (M)	Standardabweichung
Cortisol (ng/ml)	9	112	0,05	3,24	0,8724	0,61358
Log Cortisol (ng/ml)	9	112	-1,27	0,51	-0,1807	0,35889

Tabelle 2 Cortisolwerte der untersuchten Blindenführhunde (ng/ml)

Hund	N (Proben)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung
1	19	0,14	2,026	0,76	0,37
2	16	0,09	1,026	0,42	0,25
3	9	0,29	3,24	1,21	0,84
4	4	0,46	2,266	1,38	0,64
5	15	0,72	1,912	1,20	0,40
6	16	0,41	1,814	0,86	0,43
7	7	0,10	0,92	0,38	0,28
8	9	0,05	0,83	0,25	0,24
9	16	0,34	3,086	1,28	0,76

3.1 Stress und Abnahmezeitpunkt als Einflussfaktoren

Wie im Versuchsablauf beschrieben, wurden die Hundebesitzer instruiert, während der Probenentnahme etwaige vorangegangene Ereignisse zu dokumentieren, insbesondere Situationen, die vom Besitzer als potenziell stressfördernd eingestuft werden.

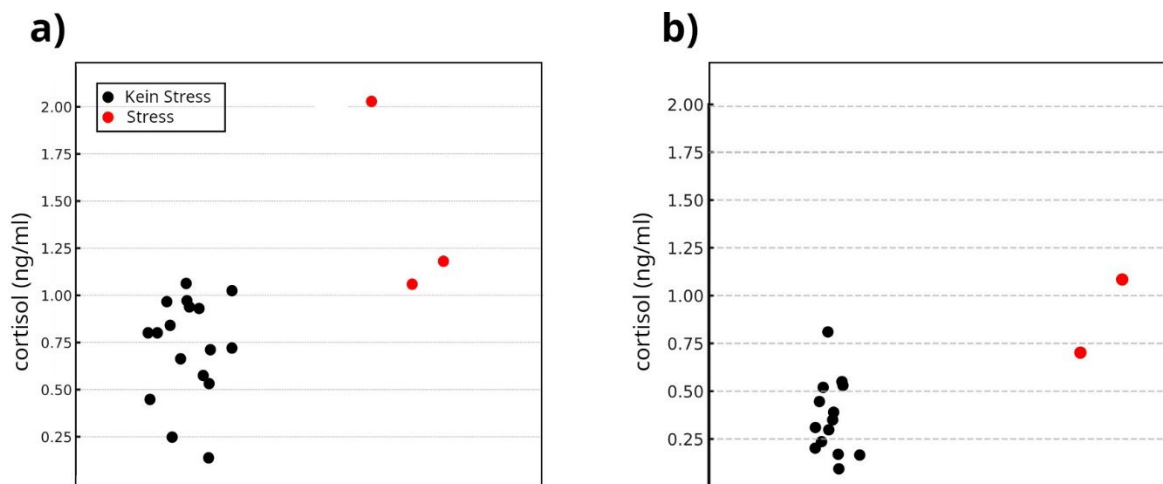


Abbildung 4 Cortisolwerte in gewohnten Situationen (Kein Stress; schwarze Punkte) und in Situationen mit Stressanzeichen (Stress; rote Punkte) am Beispiel von zwei Hunden (**a** und **b**).

In Abb. 4 sind beispielhaft die Cortisolwerte der Einzelmessungen zweier Hunde dargestellt (a) $n = 19$; b) $n = 16$). In Abb. 4a sind drei Cortisolwerte nach bzw. in Stresssituationen aufgenommen worden. Diese liegen bei 1,06, 1,18 und 2,03 ng/ml, wobei der durchschnittliche Cortisolwert dieses Hundes bei $0,76 \pm 0,24$ ng/ml liegt (gemessen in Situationen, die als nicht stressig eingeordnet wurden). Das Speichelcortisol des Hundes in Abb 4b zeigt Werte von 0,68 und 1,03 ng/ml bei vorangegangenen Stress, in Situationen ohne dokumentierte Stressbelastung lag der durchschnittliche Wert hier bei $0,36 \pm 0,19$ ng/ml. Dabei zeigt sich bei beiden Hunden mit dokumentierten Stresssituationen, dass der individuelle Cortisolgehalt zu diesen Zeitpunkten im oberen Bereich der Einzelmesswerte liegt. Für eine quantitative Analyse reicht die Datenlage jedoch nicht aus.

Allerdings zeigten sich ebenfalls hohe Cortisolwerte bei einzelnen Individuen, denen laut der Dokumentationen der Besitzer keine besonderen Ereignisse der Probenentnahme vorangegangen sind. Der höchste Wert der gesamten Kohorte (3,34 ng/ml) wurde dabei in einer Initialprobe festgestellt, das heißt bei der ersten Probenentnahme am ersten Versuchstag. Allerdings konnte sich dahingehend kein signifikanter, genereller Effekt des Versuchstages ableiten ($F = 1,694$; $p = 0,21$) (vgl. Abb. 5b; Log Cortisol). Die durchschnittlichen

Cortisolwerte der Versuchstage eins bis sieben gepoolt über alle Hunde sind in der Tab. 3 aufgeführt.

Auch der Abnahmezeitpunkt (morgens, mittags oder abends) hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Cortisolgehalt ($F = 0,132$; $p = 0,88$; Abb. 5a).

Tab. 4 listet die durchschnittlichen Cortisolwerte für die Tageszeitpunkte auf (gepoolt über alle Hunde). Abb. 5c zeigt die Cortisolwerte aufgeschlüsselt nach Versuchstag und Tageszeitpunkt. Auch hier zeigen sich die beiden Effekte als kombinierte Faktoren als kein signifikanter Einfluss auf den Cortisolgehalt im Speichel der Blindenführhunde ($F = 1,01$; $p = 0,54$). Durch den Entfall einzelner Proben vor oder während der Analyse haben die Stichproben (n) der jeweiligen Tage und Abnahmezeiten einen unterschiedlichen Umfang (siehe Tab.3 und 4).

Tabelle 3 Deskriptive Statistik zum Faktor **Versuchstag**

Tag		n	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung
1	Cortisol (ng/ml)	18	0,14	3,24	1,0403	0,76098
	Log Cortisol (ng/ml)	18	-0,86	0,51	-0,0924	0,33473
2	Cortisol (ng/ml)	15	0,14	1,53	0,6728	0,42164
	Log Cortisol (ng/ml)	15	-0,87	0,18	-0,2585	0,29544
3	Cortisol (ng/ml)	18	0,13	2,27	0,7081	0,54343
	Log Cortisol (ng/ml)	18	-0,89	0,36	-0,2746	0,35875
4	Cortisol (ng/ml)	13	0,20	3,09	1,1234	0,72348
	Log Cortisol (ng/ml)	13	-0,69	0,49	-0,0361	0,30645
5	Cortisol (ng/ml)	16	0,09	2,47	0,8096	0,64616
	Log Cortisol (ng/ml)	16	-1,03	0,39	-0,2469	0,42212
6	Cortisol (ng/ml)	20	0,05	2,12	0,7923	0,54451
	Log Cortisol (ng/ml)	20	-1,27	0,33	-0,2436	0,41906
7	Cortisol (ng/ml)	12	0,25	2,03	1,0622	0,54148
	Log Cortisol (ng/ml)	12	-0,60	0,31	-0,0382	0,26821

Tabelle 4 Deskriptive Statistik zum Faktor **Tageszeit**

Tageszeit		n	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung
Morgens	Cortisol (ng/ml)	38	0,05	3,24	0,9535	0,73849
	Log Cortisol (ng/ml)	38	-1,27	0,51	-0,1884	0,44582
Mittags	Cortisol (ng/ml)	41	0,13	2,12	0,8313	0,49389
	Log Cortisol (ng/ml)	41	-0,87	0,33	-0,1581	0,27600
Abends	Cortisol (ng/ml)	33	0,13	2,47	0,8303	0,59887
	Log Cortisol (ng/ml)	33	-0,89	0,39	-0,1998	0,34734

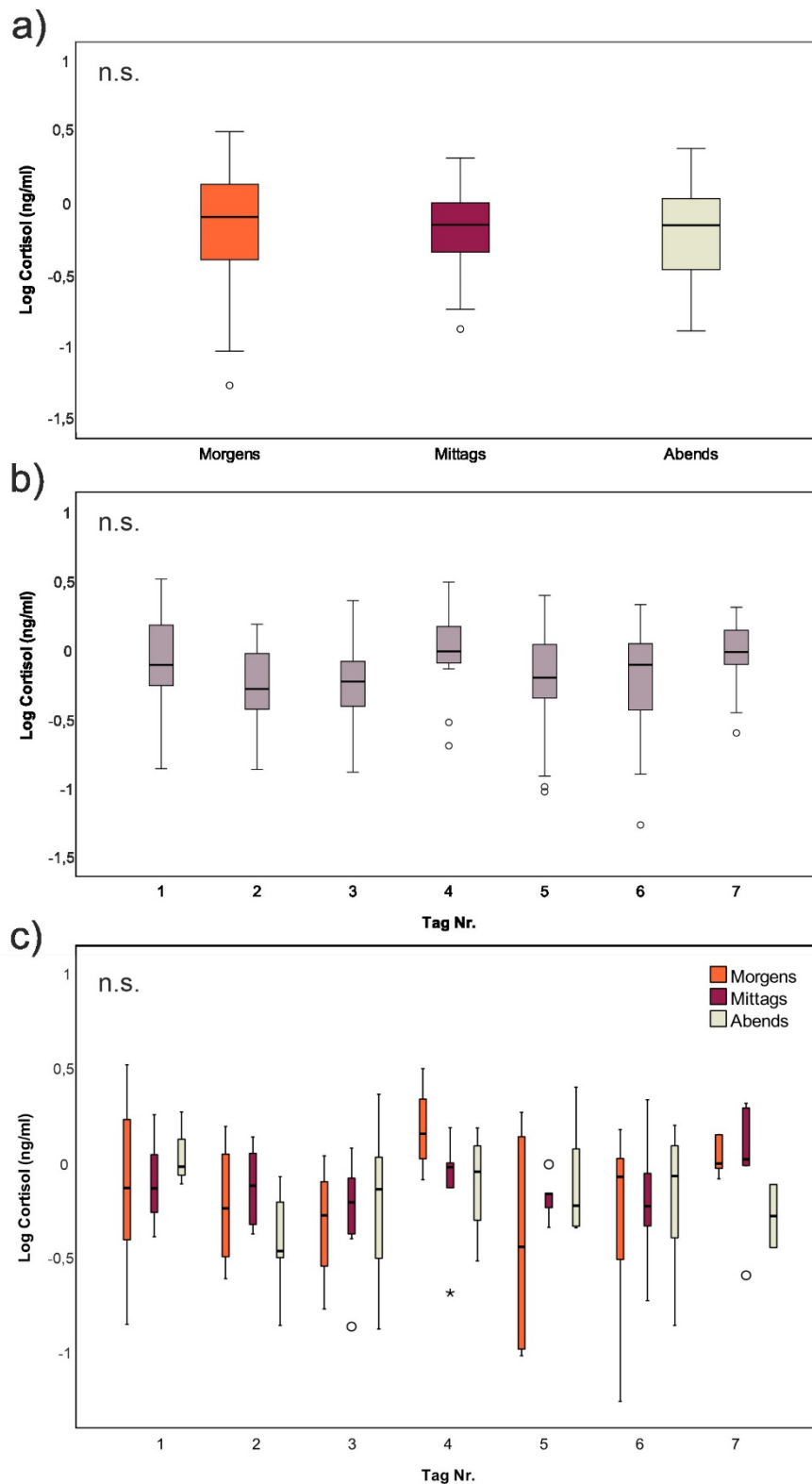


Abbildung 5 Log Cortisol abhängig vom Entnahmezeitpunkt. Boxplots: Die untere, mittlere und obere Horizontale Linie der jeweiligen Box stellen jeweils das 25 %, 50 % (Median) und 75 % Perzentil dar. Unterer und oberer "Whisker" reichen bis zum 90 % Perzentil. Kreise und Sterne zeigen Ausreißer an. n.s. = nicht signifikant. **a)** Vergleich der Cortisolwerte zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten (morgens, mittags, abends). **b)** Vergleich der Cortisolwerte an verschiedenen Versuchstagen (Tag Nr. 1 bis 7) **c)** Aufschlüsselung der Daten nach Abnahmezeitpunkt (morgens, mittags, abends) und Versuchstages (Tag Nr. 1 bis 7)

3.2 Cortisollevel im Vergleich zu anderen Hundegruppen

Ein weiteres Ziel dieser Studie bestand darin, die durchschnittlichen Cortisolwerte der Gruppe der Blindenführhunde im Vergleich zu Familienhunden ohne besondere Aufgabe (Kontrollgruppe) und anderen Assistenzhundegruppen einzuordnen. Die Daten wurden in separaten Studien erhoben (41, 42), daher ist eine statistische Gegenüberstellung nicht möglich.

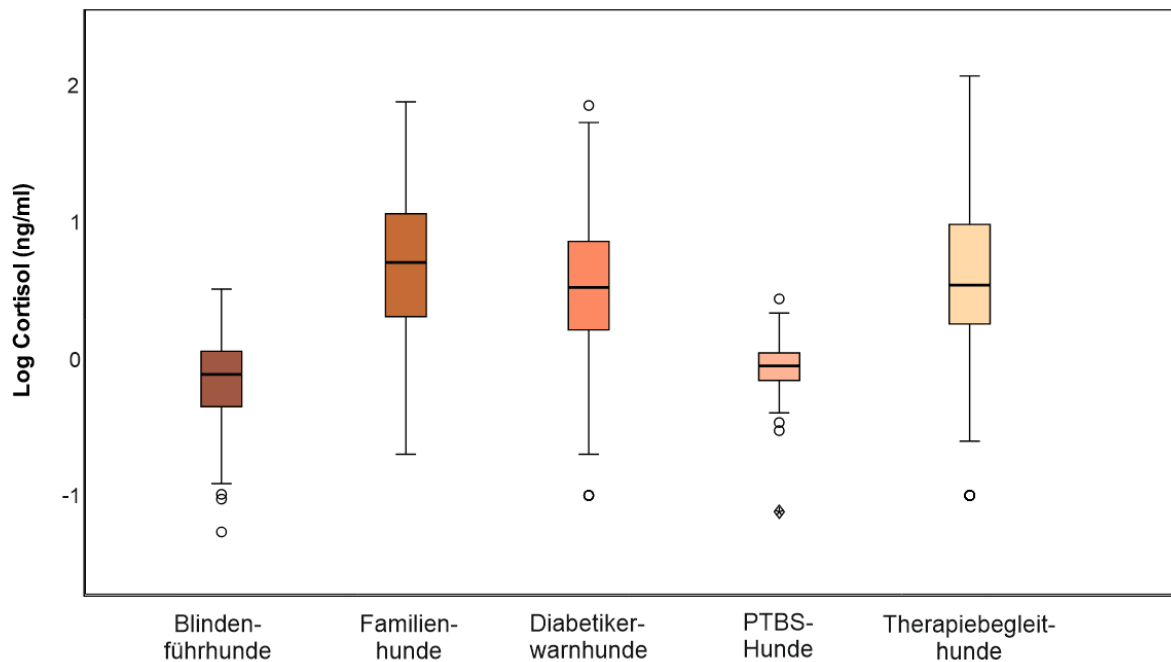


Abbildung 6 Vergleich von Log Cortisol für fünf Hundegruppen. Gepoolte Daten über alle Hunde der jeweiligen Gruppe. Boxplots: Die untere, mittlere und obere Horizontale Linie der jeweiligen Box stellen jeweils das 25 %, 50 % (Median) und 75 % Perzentil dar. Unterer und oberer "Whisker" reichen bis zum 90 % Perzentil. Kreise und Rauten zeigen Ausreißer an.

Betrachtet man die logarithmierten Cortisolwerten der Blindenführhunde ($M = -0,18 \pm 0,36$ ng/ml) im Vergleich zu denen der Familienhunde ($M = 0,70 \pm 0,56$ ng/ml), Diabetikerwarnhunde ($M = 0,51 \pm 0,51$ ng/ml) sowie denen der Therapiebegleithunde ($M = 0,57 \pm 0,62$ ng/ml) (jeweils $p < 0,001$; siehe Abb. 6), so liegen diese in einem niedrigeren Bereich. Zudem zeigen die Werte eine geringere Varianz. Die Speichelcortisolwerte der PTBS-Assistenzhunde sind dagegen auf einem ähnlichen Level wie die der Blindenführhunde ($M = -0,06 \pm 0,20$ ng/ml; $p = 0,37$; siehe Abb. 6).

Unterschiede sind vor allem auch im Vergleich der Maximalwerte unmittelbar zu erkennen. Diese liegen bei Blindenführhunden und PTBS-Assistenzhunden mit 0,51 ng/ml und 0,44 ng/ml im Bereich der Mittelwerte (Log Cortisol) von Familienhunden (Maximum: 1,88 ng/ml), Diabetikerwarnhunden (Maximum: 1,85 ng/ml) und Therapiebegleithunden (Maximum 2,07

ng/ml). In Tabelle 5 sind zusätzlich die nicht logarithmierten, ursprünglichen Cortisolwerte (Mittelwerte, Minima und Maxima) der Vergleichsgruppen aufgeführt.

Tabelle 5 Übersicht der Cortisolwerte der Vergleichsgruppen

Gruppe		n	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung
Familienhunde	Cortisol (ng/ml)	142	0,20	76,10	10,7939	14,70560
	Log Cortisol (ng/ml)	142	-0,70	1,88	0,6981	0,55813
Diabetiker-warnhunde	Cortisol (ng/ml)	136	0,10	71,60	6,1994	9,32892
	Log Cortisol (ng/ml)	136	-1,00	1,85	0,5126	0,51150
PTBS-Hunde	Cortisol (ng/ml)	111	0,08	2,75	0,9635	0,41637
	Log Cortisol (ng/ml)	111	-1,12	0,44	-0,0556	0,19670
Therapie-begleithunde	Cortisol (ng/ml)	153	0,10	117,70	9,2582	16,00430
	Log Cortisol (ng/ml)	153	-1,00	2,07	0,5746	0,62269

4. Diskussion

4.1 Versuchsdesign als Einflussfaktor

Die in dieser Studie beschriebene Methodik entspricht dem Versuchsdesigns von Bruckner und Gerwisch (41, 42), aus deren Studien die Vergleichsgruppen dieser Arbeit stammen. Mögliche Verbesserungsansätze wurden aus diesem Grunde in dieser Studie nicht implementiert.

So kam es wie bereits erwähnt zu einem Probenausfall von 40 %, da sich nach Zentrifugation zu wenig Speichel in den Salivetten befand. Diesen Effekt hat bereits Bruckner (41) in ihrer Arbeit beschrieben, machte dort allerdings keine genauen Angaben zur Ausfallquote. Übereinstimmend verblieb das Baumwollröhrchen nach Anweisung für eine Minute in der Lefze des Hundes. In dem Review von Chmelikova et al. (11) sind verschiedene Studien beschrieben, die ein Verbleib des Aufnahmemediums von bis zu zwei Minuten in der Hundelefze beschreiben. Kobelt et al. (51) konnten zudem zeigen, dass es bis zu einem Zeitraum von vier Minuten zu keinem Stresseffekt durch das Manipulieren am Hundemaul kommt. Eine längere Verweildauer könnte die Speichelmenge demnach erfolgreich erhöhen, ohne die Cortisolwerte zu verfälschen. Zusätzlich hat sich gezeigt, dass das Material der verwendeten Stäbchen ebenfalls eine Rolle spielt. So halten Aufnahmestäbchen aus Polyester wesentlich weniger Speichel zurück als solche aus Baumwolle, die Ausbeute ist somit größer (52).

Zudem spielt in der Durchführung der Probenentnahme die Besitzer Compliance eine große Rolle. Zwar wurden durch detaillierte Beschreibungen der Durchführung und ein klares Regelwerk die Voraussetzungen für eine standardisierte Umsetzung zu schaffen, allerdings bleibt die individuelle Handhabung der Versuchsdurchführung und die Kommunikation bezüglich Abweichungen eine kritische Variable. Gerade im Falle der Blindenführhunde-Teams sind die Besitzer zumindest seheingeschränkt, ein Umstand, der eine exakte Kontrolle des Ablaufs zusätzlich erschwert.

Generell zeigen einige Studien, dass die Bestimmung von Cortisol hochsensibel auf Änderung im Versuchsablauf reagiert (11, 26, 52). Dies ist immer zu bedenken, wenn man Ergebnisse von Speichelcortisolwerten verschiedener Studien in Relation zueinander betrachtet.

Neben Handling Effekten haben auch Umweltfaktoren einen Einfluss auf den Cortisolspiegel. So unterliegt der Cortisolspiegel bei Menschen nachweislich einem zirkadianen Rhythmus. Dabei sind die Cortisolwerte am Morgen am höchsten, man spricht hier auch von der

sogenannten „Cortisol awakening response“ (CAR) (53). Bei Hunden konnten einige Studien diesen Effekt ebenfalls beobachten (50), in anderen Versuchen traten zirkadiane Schwankungen nicht auf (31, 51). Auch in der vorliegenden Studie konnten keine signifikanten Effekte der Tageszeit festgestellt werden (siehe Abb. 5a). Kobelt et al. (51) fanden zudem in Ihrer Studie, dass bei Familienhunden zirkadiane Schwankungen auftraten, bei Arbeitshunden allerdings nicht. Dies könnte ein gemeinsamer Erklärungsansatz sein, der in einer speziell ausgelegten Studie näher beleuchtet werden sollte. Zudem ist anzumerken, dass für den Abnahmezeitpunkt in dieser Studie lediglich ein Zeitraum vorgegeben war (morgens, mittags, abends). Zwar sollte die erste Probe des Tages nach dem Aufstehen erfolgen, für eine gezielte Untersuchung auf eine etwaig auftretende CAR wäre aber eine genauere Festlegung der Entnahmezeitpunkte von Nöten.

Zusätzlich zum Entnahme Zeitpunkt wurde auch auf Effekte des Entnahmetages untersucht. Es sollte ausgeschlossen werden, dass das ungewohnte Handling in den ersten Tagen des Experiments einen direkten Effekt auf die gemessenen Cortisolwerte hat. Es zeigte sich, dass der Versuchstag keinen signifikanten Einfluss auf den Cortisolwert hat (Abb. 5b). Bei einem Verbleib der Cortisol-Salivette im Maul des Hundes für eine Minute ist davon auszugehen, dass das vorangegangene Handling keine drei Minuten überschreitet. Wie Kobelt et al. (51) ebenfalls zeigen konnten, manifestiert in dieser Zeitspanne kein Effekt im gemessenen Cortisolwert durch Entnahme bedingten Stress. Durch diesen Umstand ist daher nicht auszuschließen, dass es dennoch Handling Effekte gab, diese aber erst mit einer längeren Verzögerung im Speichel aufzufinden gewesen wären. Ein längerer Effekt kann aber dadurch eher ausgeschlossen werden, dass die Mittags- bzw. Abendproben keine erhöhten Cortisolwerte aufwiesen (Abb. 5a)

4.2 Hundeklassen im Vergleich

In dieser Studie zeigte sich, dass die Cortisolwerte von Blindenführhunden kumuliert in einem Zeitraum einer typischen Woche tendenziell niedriger sind als jene von Familienhunden, Therapiebegleithunden sowie Diabetikerwarnhunden. Die Werte von Blindenführhunden und PTBS-Assistenzhunden liegen in ähnlichen Bereichen (Abb. 6). Diese Erkenntnis baut auf die Studie von Gerwisch et al. (49) auf, die zeigte, dass die Cortisolwerte von PTBS-Assistenzhunden signifikant unter denen von Familienhunden und Diabetikerwarnhunden lagen.

Beide Assistenzhundeklassen haben gemein, dass sie eine außergewöhnlich starke, persönliche Bindung zu ihren Hundeführer:innen aufbauen und eng mit einer bestimmten Person in Verbindung stehen (4, 42, 46). Als Argument für einen vergleichsweise niedrigen Speichelcortisolwert bei beiden Gruppen könnte man anführen, dass die Gemeinsamkeit von Blindenführhunden und PTBS-Assistenzhunden darin liegt, dass im Vergleich zu den anderen Hundeklassen diese Mensch-Hunde-Teams eher zurückgezogener leben und dadurch Stresssituationen im Alltag aus dem Weg gehen. Allerdings wurde durch die Dokumentation der Besitzer in dieser Studie ein durchaus aktiver und sozialer Lebensstil beschrieben, der sich nicht sehr stark von anderen Hundebesitzern unterscheidet. Zudem ist es im Gegenteil so, dass gerade Blindenführhunde und PTBS-Assistenzhunde im Alltag aufgrund ihrer Aufgaben die höchste Stressexposition zu erwarten haben. Die Arbeit als Blindenführhund geht mit einer permanenten nonverbalen Kommunikation mit ihren Hundeführer:innen einher, was ein hohes Maß an Konzentration erfordert. Sie müssen in der Lage sein, selbständig verschiedene Problemlösungsstrategien zu entwickeln, was mitunter eine große kognitive Herausforderung darstellen kann. Zuweilen müssen sie dabei gegen den Willen der Hundeführer:innen handeln bzw. diese bewusst ignorieren (46). PTBS-Assistenzhunde müssen feinfühlig auf etwaige Stimmungsänderungen ihrer Hundeführer:innen achten und aufkommende negative Emotionen abfangen (42). Es wurde bereits gezeigt, dass Hunde in der Lage sind, sogenanntes „Emotional Contagion“ (zu Deutsch „Emotionale Ansteckung“) gegenüber Menschen zu zeigen, das heißt eine automatische Stimmungsübertragungen vom Menschen auf den Hund (54). Überwältigende negative Stimmungen oder Angstzustände könnten sich potenziell also auf den Hund übertragen und zu Stress und zu einem erhöhten Cortisolspiegel führen.

Ein möglicher Argumentationsbaustein warum die Cortisolwerte von Blindenführhunden und PTBS-Assistenzhunden im Vergleich zu den anderen Gruppen dennoch niedriger sind, ist das sogenannte „General Adaption Syndrom“ (55), welches in der Humanmedizin beschrieben wurde. Es geht davon aus, dass durch chronische Stresszustände Cortisol zunächst chronisch erhöht, dann aber durch Erreichen eines Erschöpfungsstadiums herunterreguliert wird, es kommt zur Dysfunktion. Die genauen physiologischen Zusammenhänge sind dabei nach wie vor Gegenstand der aktuellen Forschung und werden zuweilen kritisch betrachtet (56). Dieses Phänomen sehen allerdings auch Cobb et al. (26) als mögliche Erklärung in ihrer Betrachtung von Speichelcortisolwerten von Hunden in Tierheimen. In ihrem Studienvergleich zeigten diese unerwarteterweise signifikant niedrigere Cortisolwerte als Familienhunde.

Geht man von einer Dysfunktion der HPA-Achse aus, würde nach einem Stresserlebnis kein Anstieg im Cortisolwert zu erkennen sein. In Abb. 4 ist jedoch zu erkennen, dass die zwei Hunde, bei denen Stresssituationen vorkamen, einen anschließenden Anstieg im Cortisolwert aufwiesen. Dies spricht dafür, dass der erniedrigte durchschnittliche Cortisolwert nicht auf eine Adaption durch chronischen Stress zurückzuführen ist. Eine quantitative Betrachtung in zukünftigen Studien würde dahingehend eine eindeutigere Interpretation ermöglichen.

4.3 Individuelle Cortisollevel

Generell zeigten sich die Cortisolwerte der Blindenführhunde von Tier zu Tier sehr unterschiedlich, was zu einer hohen Standardabweichung in der Gruppe führte. Diesen individuellen Effekt mit hohen Schwankungen konnten auch schon diverse andere Studien beobachten, ungeachtet der spezifischen Hundegruppe (11, 26, 41, 43, 51).

Insbesondere die Kontrollgruppe der Familienhunde, der Daten aus der Studie von Brucker stammen, zeichnen sich durch einzelne, sehr hohe Werte aus. Eine zusammenfassende Betrachtung mehrerer Studien von Cobb. et al (26) zeigte wesentlich niedrigere Werte für Familienhunde, allerdings umfassen diese unterschiedliche Versuchsdesigns und Versuchsumgebungen, was eine direkte Vergleichbarkeit erschwert. Eine gezielte, umfangreiche Studie zur Implementierung von Referenzwerten für Speichelcortisolwerte von Familienhunden im Alltag ohne gezielte Stressbetrachtung fehlt zuweilen.

Um den individuellen Basalwerte besser zu berücksichtigen, ist alternativ eine relative Betrachtung von Cortisolwerten denkbar (siehe Abb. 4). Ausgehend von ersten Erkenntnissen in dieser Studie wäre die Fragestellungen dabei, wie der Cortisolwert relativ zum Basalwert nach einem Stressereignis steigt. Unter kontrollierten Bedingungen wäre es in solch einer Betrachtung möglich, Speichelproben nach einer festgelegten Zeit nach Stressstimulus zu entnehmen, um den relativ schnellen Veränderungen von Cortisolwerten im Speichel gerecht zu werden.

4.4 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie und, dass Blindenführhunde tendenziell niedrigere Cortisolwerte aufweisen als Familienhunde, Diabetikerwarnhunde und Therapiebegleithunde, sich aber in einem ähnlichen Wertebereich befinden wie PTBS-Assistenzhunden. Die ursprüngliche Annahme, dass Blindenführhunde einen höheren Stress- und dadurch auch höhere Cortisollevel vorweisen, konnte nicht bestätigt werden.

Für eine valide Metaanalyse mit statistischer Aussagekraft reichen die Datenlage sowie Stichprobengröße jedoch nicht aus. Im Vergleich der unterschiedlichen Studien müssen trotz gleicher Methodik zufällige Faktoren wie Hunderasse, Geschlecht und Alter in einem gemischten Modell berücksichtigt werden.

Es zeigte sich generell, dass die Cortisolwerte einem hohen individuellen Faktor und Schwankungen unterliegen. Eine höhere Stichprobenanzahl - vor allem im Bereich der Kontrollgruppe der Familienhunde - wäre in zukünftigen Betrachtungen wünschenswert. Zudem gilt es den Prozess der Probenentnahme weiter zu standardisieren. In dieser Studie wurde darauf Wert gelegt, dass eine direkte Bezugsperson des Hundes die Probenentnahme durchführt, was aber zu potenziellen Fehlerquellen und Varianzen führt, auch im Umgang mit der Versorgung der Proben nach Probenentnahme. Da bei Speichelproben die Entnahmedauer und das damit verbundene Handling relativ kurz ist, ist der dadurch entstehende Effekt auf den Cortisolwert zu vernachlässigen. Es sollte daher in Betracht gezogen werden, die Probenentnahme ausschließlich vom jeweiligen Experimentator bzw. Experimentatorin durchführen zu lassen.

Alternativ wären ähnliche Studien zu Assistenzhundeklassen mit der Nutzung von Kotproben denkbar. Das Sammeln der Proben ist hier einfacher und ohne Manipulation am Hund möglich und es erlaubt eine kumulative Betrachtung des generellen Stresslevels. Allerdings müssen die Proben wie bereits erwähnt ebenfalls zeitnah versorgt werden und Kotcortisol zeigt sich bei Hunden erst mit einer Verzögerung ca. 24 Stunden, was in der Interpretation berücksichtigt werden muss (15, 16, 27).

Generell ist die Erhebung und Beurteilung von Stress und insbesondere Distress ein Prozess, der multifaktoriell betrachtet werden sollte (11). Neben Cortisol als Marker aus der HPA-Achse sollten immer auch Stressanzeichen im Verhalten als zusätzlicher Parameter betrachtet werden.

Zusammen mit der Erhebung von anderen Stressmarkern der SAM-Achse wie zum Beispiel Vasostatin, würde sich so ein noch ganzheitlicheres Bild für die Bewertung von Stress und die negativen Auswirkungen auf das Wohlergehen der Hunde ergeben.

Abschließend deuten die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht auf einen erhöhten Stresslevel oder ein vermindertes Wohlergehen von aktiven Blindenhunden in Österreich hin. Dies spricht für adäquate bestehende Kriterien in der Vorauswahl und Eignung der Hunde, der Ausbildung und der finalen Bewertung innerhalb des Mensch-Hunde-Teams.

5. Literatur

1. Broom, Donald M., Ken G. Johnson, and Donald M. Broom. Stress and animal welfare. Vol. 993. London: Chapman & hall, 1993.
2. Stafford KJ. The welfare of dogs. Dordrecht: Springer; 2007. (Animal welfarevol. 4).
3. Cobb ML, Otto CM, Fine AH. The animal welfare science of working dogs: current perspectives on recent advances and future directions. *Frontiers in Veterinary Science* 2021; 8:666898. doi: 10.3389/fvets.2021.666898
4. Bremhorst A, Mongillo P, Howell T, Marinelli L. Spotlight on assistance dogs-legislation, welfare and research. *Animals* 2018; 8(8):129. doi: 10.3390/ani8080129
5. Whitmarsh L. The benefits of guide dog ownership. *Visual impairment research* 2005; 7(1):27–42. doi: 10.1080/13882350590956439.
6. Audrestch HM, Whelan CT, Grice D, Asher L, England GCW, Freeman SL. Recognizing the value of assistance dogs in society. *Disability and Health Journal* 2015; 8(4):469–74. doi: 10.1016/j.dhjo.2015.07.001
7. Rodriguez KE, Greer J, Yacilla JK, Beck AM, O'Haire ME. The effects of assistance dogs on psychosocial health and wellbeing: A systematic literature review. *PLOS ONE* 2020; 15(12):e0243302. doi: 10.1371/journal.pone.0243302
8. Webster J. *Animal Welfare: A Cool Eye Towards Eden*. Blackwell Science; Oxford, UK: 1994. Assessment of animal welfare: The Five Freedoms; pp. 10–14..
9. Mellor DJ, Beausoleil NJ, Littlewood KE, McLean AN, McGreevy PD, Jones B et al. The 2020 Five Domains Model: Including Human-Animal interactions in assessments of animal welfare. *Animals* 2020; 10(10):1870. doi: 10.3390/ani10101870
10. Mills D, Karagiannis C, Zulch H. Stress--its effects on health and behavior: a guide for practitioners. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2014; 44(3):525–41. doi:10.1016/j.cvsm.2014.01.005.
11. Chmelfíková E, Bolechová P, Chaloupková H, Svobodová I, Jovičič M, Sedmíková M. Salivary cortisol as a marker of acute stress in dogs: a review. *Domestic Animal Endocrinology* 2020; 72:106428. doi: 10.1016/j.domaniend.2019.106428
12. Dhabhar FS. The power of positive stress - a complementary commentary. *Stress* 2019; 22(5):526–9. doi: 10.1080/10253890.2019.1634049.

13. Fink G. Stress science: Neuroendocrinology. San Diego, Calif.: Academic; 2010.
14. Beerda B, Schilder MB, van Hooff J, Vries HW de. Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 1997; 52(3-4):307–19.
doi:10.1016/S0168-1591(96)01131-8
15. Hennessy MB. Using hypothalamic–pituitary–adrenal measures for assessing and reducing the stress of dogs in shelters: A review. *Applied Animal Behaviour Science* 2013; 149(1-4):1–12. doi: 10.1016/j.applanim.2013.09.004
16. Palme R, Rettenbacher S, Touma C, El-Bahr SM, Möstl E. Stress hormones in mammals and birds: comparative aspects regarding metabolism, excretion, and noninvasive measurement in fecal samples. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005; 1040(1):162–71. doi: 10.1196/annals.1327.021.
17. Kartashova IA, Ganina KK, Karelina EA, Tarasov SA. How to evaluate and manage stress in dogs – A guide for veterinary specialist. *Applied Animal Behaviour Science* 2021; 243:105458. doi: 10.1016/j.applanim.2021.105458
18. Mariti C, Gazzano A, Moore JL, Baragli P, Chelli L, Sighieri C. Perception of dogs' stress by their owners. *Journal of Veterinary Behavior* 2012; 7(4):213–9.
doi:10.1016/j.jveb.2011.09.004
19. Beerda B, Schilder MB, van Hooff JA, Vries HW de, Mol JA. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 1998; 58(3-4):365–81. doi: 10.1016/S0168-1591(97)00145-7
20. Dreschel NA, Granger DA. Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs. *Hormones and Behavior* 2009; 55(1):163–8. doi: 10.1016/j.yhbeh.2008.09.010
21. Palme R. Non-invasive measurement of glucocorticoids: Advances and problems. *Physiology & Behavior* 2019; 199:229–43. doi: 10.1016/j.physbeh.2018.11.021
22. Vincent IC, Michell AR. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. *Research in Veterinary Science* 1992; 53(3):342–5. doi: 10.1016/0034-5288(92)90137-Q
23. Beerda B, Schilder MB, Janssen NS, Mol JA. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and Behavior* 1996; 30(3):272–9. doi: 10.1006/hbeh.1996.0033

24. Bozovic D, Racic M, Ivkovic N. Salivary cortisol levels as a biological marker of stress reaction. *Med Arh* 2013; 67(5):374–7. doi: 10.5455/medarh.2013.67.374-377.
25. Accorsi PA, Carloni E, Valsecchi P, Viggiani R, Gamberoni M, Tamanini C et al. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *General and Comparative Endocrinology* 2008; 155(2):398–402. doi: 10.1016/j.ygcen.2007.07.002
26. Cobb ML, Iskandarani K, Chinchilli VM, Dreschel NA. A systematic review and meta-analysis of salivary cortisol measurement in domestic canines. *Domestic Animal Endocrinology* 2016; 57:31–42. doi: 10.1016/j.domaniend.2016.04.003
27. Palme R., S. Schatz, and E. Möstl. Effect of vaccination on fecal cortisol metabolites in cats and dogs. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 2001, 108(1):23-25
28. Clegg SR, Millson SH. From Saliva to Faeces and Everything in Between: A Guide to Biochemical Analysis Using Animal Samples for Biomarker Detection. CCBP 2021; 16:1–19. doi: 10.3819/ccbr.2021.160002.
29. Herron ME, Shreyer T. The pet-friendly veterinary practice: a guide for practitioners. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2014; 44(3):451–81. doi:10.1016/j.cvsm.2014.01.010.
30. Hennessy MB, T. Williams M, Miller DD, Douglas CW, Voith VL. Influence of male and female petters on plasma cortisol and behaviour: can human interaction reduce the stress of dogs in a public animal shelter? *Applied Animal Behaviour Science* 1998; 61(1):63–77. doi: 10.1016/S0168-1591(98)00179-8
31. Kolevská J, Brunclík V, Svoboda M. Circadian Rhythm of Cortisol Secretion in Dogs of Different Daily Activities. *Acta Vet. Brno* 2003; 72(4):599–605. doi:10.2754/avb200372040599.
32. Colussi A, Stefanon B, Adorini C, Sandri M. Variations of salivary cortisol in dogs exposed to different cognitive and physical activities. *Italian Journal of Animal Science* 2018; 17(4):1030–7. doi: 10.1080/1828051X.2018.1453756.
33. CEN/TC 452. Assistance Dogs -Business Plan [Stand: 01.06.2024]. Verfügbar unter: <https://standards.cencenelec.eu/BPCEN/2181734.pdf>.
34. Richtlinien Assistenzhunde; 01/15 [Stand: 01.06.2024]. Verfügbar unter: <https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:29223eb5-98de-448d-a952-c21f019e6e4b/Richtlinie%20Assistenzhunde.pdf>.

35. § 39a Bundesbehindertengesetz: BBG; 1990. [Stand: 01.06.2024]. Verfügbar unter: <https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=10008713>.
36. Erlass zur Mitnahme von Assistenzhunden in Verkaufsräume von Einzelhandelsbetrieben: BMASGK-75360/0015-IX/B/13/2018; 2018 [Stand: 10.06.2024]. Verfügbar unter: https://www.blindenverband.at/media/file/398_BMASGK-753600015-IXB132018_Assistenzhunde_in_Verkaufsraeumen.pdf.
37. Allgemeine Beförderungsbedingungen für den Kraftfahrlinienverkehr; 2018 [Stand: 10.06.2024]. Verfügbar unter: <https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/Bundesnormen/NOR40204127/NOR40204127.html>
38. Otto CM, Darling T, Murphy L, Ng Z, Pierce B, Singletary M et al. 2021 AAHA Working, Assistance, and Therapy Dog guidelines. J Am Anim Hosp Assoc 2021; 57(6):253–77. doi: 10.5326/JAAHA-MS-7250.
39. Foltin S, Glenk LM. Current Perspectives on the Challenges of Implementing Assistance Dogs in Human Mental Health Care. Veterinary Sciences 2023; 10(1):62. doi:10.3390/vetsci10010062
40. Glenk LM, Foltin S. Therapy Dog Welfare Revisited: A Review of the Literature. Veterinary Sciences 2021; 8(10):226. doi: 10.3390/vetsci8100226
41. Simone Bruckner. Comparative study of cortisol levels in signal dogs for diabetic people, therapy dogs and family dogs without special tasks [Diplomarbeit]: Veterinärmedizinische Universität Wien; 12/2019.
42. Karoline Gerwisch. The Human-Animal-Relationship between individuals with Posttraumatic Stress Disorder and their assistance dogs: influence on the humans' Quality of Life as well as on the dogs' salivary cortisol levels [Masterarbeit]: Veterinärmedizinische Universität Wien; 2022.
43. Sandra Mliner. Evaluierung der Stresslevel von Servicehunden mittels Speichelcortisolwerten im Rahmen ihres Alltags im Vergleich zu Familienhunden [Diplomarbeit]; 02/2024.
44. Barbara Brada. Cortisolkonzentration bei Hunden nach einer Personensuche [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien; 07/2014.

45. Glenk LM, Kothgassner OD, Stetina BU, Palme R, Kepplinger B, Baran H. Salivary cortisol and behavior in therapy dogs during animal-assisted interventions: A pilot study. *Journal of Veterinary Behavior* 2014; 9(3):98–106. doi: 10.1016/j.jveb.2014.02.005
46. La Fuente-Moreno E de, Paredes-Ramos P, Carrasco-García A, Hernandez-Cruz B, Alvarado M, Edwards C. Salivary cortisol in Guide Dogs. *Animals* 2023; 13(12):1981. doi: 10.3390/ani13121981
47. Knol BW, Roozendaal C, van den Bogaard L, Bouw J. The suitability of dogs as guide dogs for the blind: criteria and testing procedures. *Veterinary Quarterly* 1988; 10(3):198–204. doi: 10.1080/01652176.1988.9694171.
48. Palme R, Möstl E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. *International Journal of Mammalian Biology*, 1997, 62:192-197, Suppl. 2
49. Gerwisch K, Weissenbacher K, Proyer M, Huber L. A pilot study into the effects of PTSD-assistance dogs' work on their salivary cortisol levels and their handlers' Quality of life. *J Appl Anim Welf Sci* 2023:1–13. doi: 10.1080/10888705.2023.2259795.
50. Beerda B, Schilder MB, Bernadina W, van Hooff JA, Vries HW de, Mol JA. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior* 1999; 66(2):243–54. doi: 10.1016/s0031-9384(98)00290-x.
51. Kobelt AJ, Hemsworth PH, Barnett JL, Butler KL. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Research in Veterinary Science* 2003; 75(2):157–61. doi: 0.1016/S0034-5288(03)00080-8
52. Hansen AM, Garde AH, Persson R. Measurement of salivary cortisol--effects of replacing polyester with cotton and switching antibody. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 68(8):826–9. doi: 10.1080/00365510802056207.
53. Carlos M. Contreras, Ana G. Gutierrez-Garcia. Cortisol Awakening Response: An Ancient Adaptive Feature. *Journal of Psychiatry and Psychiatric Disorders* 2018; 2(1):29–40. doi: 10.26502/jppd.2572-519X0038
54. Custance D, Mayer J. Empathic-like responding by domestic dogs (*Canis familiaris*) to distress in humans: an exploratory study. *Animal Cognition* 2012; 15(5):851–9. doi:10.1007/s10071-012-0510-1

55. SELYE H. The general-adaptation-syndrome. Annual Review of Medicine 1951; 2(Volume 2, 1951):327–42.
56. Cadegiani FA, Kater CE. Adrenal fatigue does not exist: a systematic review. BMC Endocr Disord 2016; 16(1):48. doi: 10.1186/s12902-016-0128-4

6. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der von den Probanden (N) analysierten Proben (n) und deren Cortisolgehalt	11
Tabelle 2 Cortisolwerte der untersuchten Blindenführhunde (ng/ml)	11
Tabelle 3 Deskriptive Statistik zum Faktor Versuchstag	14
Tabelle 4 Deskriptive Statistik zum Faktor Tageszeit	14
Tabelle 5 Übersicht der Cortisolwerte der Vergleichsgruppen.....	17
Tabelle 6 Detailinformationen über die Probanden der Studie	31
Abbildung 1 Komponenten der verwendeten Cortisol-Salivette	8
Abbildung 2 Schematischer Ablauf des Cortisol EIA (Enzym Immunoassay)..	9
Abbildung 3 Belegungsschema EIA.....	10
Abbildung 4 Cortisolwerte in gewohnten Situationen (Kein Stress; schwarze Punkte) und in Situationen mit Stressanzeichen (Stress; rote Punkte).....	12
Abbildung 5 Log Cortisol abhängig vom Entnahmezeitpunkt.	15
Abbildung 6 Vergleich von Log Cortisol für fünf Hundegruppen.	16
Abbildung 7 Anleitung für Hundehalter:innen.....	32
Abbildung 8 Bildanleitungen	33
Abbildung 9 Checkliste	34
Abbildung 10 Einverständniserklärung	35
Abbildung 11 Fragebogen	35

7. Anhang

Informationen über die Blindenführhunde der Studie

Tabelle 6 Detailinformationen über die Probanden der Studie

N°	Hund	Geschlecht	Rasse	Alter (J)	Gültige Einzelproben (n)	Besondere Stresssituation
1	Zuri	w	Flat coated Retriever	3	16	nein
2	Kito	m	Labrador	5	15	nein
3	Wiki-Riki	m	Labrador	7	19	ja
4	Pia	w	Labrador	3	7	nein
5	Nero	m	Labrador	7	4	nein
6	Marlon	m	Großpudel	3	17	nein
7	Lynette	w	-	-	Ausfall	-
8	Olivia	w	Labrador	4	16	ja
9	Hero	m	Labrador	5	9	nein
10	Flora	w	Labrador	4	9	nein
11	Lennox	m	-	-	Ausfall	-

Anleitung für Hundehalter:innen

Wichtige Informationen und Anleitung zur Messung von Cortisol im Speichel des Hundes im Kontext der Diplomarbeit „Bestimmung von Speichelcortisolwerten von Blindenführhunden zur Ermittlung ihres Stresslevels im Vergleich zu Familienhunden sowie anderen Assistenzhundeklassen“

Fragestellung

Unterscheiden sich die mittleren Cortisolwerte von Blindenführhunden zu denen von mehreren Vergleichsgruppen (Familienhunde, Diabeteswarnhunde, Signalhunde für psychisch erkrankte Personen) im Rahmen einer im Alltag durchgeführten Testung?

Biomarker Cortisol

Donald Broom definiert Stress als einen Zustand, in dem die Anpassungsfähigkeit eines Individuums aufgrund der Reize, die auf dieses einwirken, überfordert ist. Dies gefährdet die Homöostase, also das innere Gleichgewicht wichtiger Körperfunktionen (Broom und Johnson 1993). Da der Körper jedoch stets bestrebt ist diese zu erhalten, kommt es zu einer Stressreaktion. Diese lässt sich sowohl im Verhalten als auch als physiologische Parameter messen. Die physiologische Reaktion kann als Veränderung verschiedener Biomarker festgestellt werden, die auch im Speichel gemessen werden können (Soo-Quee Koh und Choon-Huat Koh 2007). Die Analyse durch den Speichel des Hundes bietet den Vorteil, dass die Probenahme nicht invasiv ist und dem Hund somit keinerlei Schmerzen zugefügt werden (Dreschel und Granger 2009). Analog zu einer Vielzahl anderer Studien (vgl. u. a. Glenk et al. 2014, Svobodova et al. 2014, Beerda et al. 1998) soll auch im Rahmen dieser Studie das Cortisol im Speichel des Hundes gemessen werden. Der Cortisolwert wird als physiologischer Parameter für die Analyse der Stressbelastung des Hundes herangezogen. Erfährt der Hund Stress, so erhöht sich unter anderem der Level der Glukokortikoide in seinem Körper. Glukokortikoide sind eine bestimmte Gruppe von Hormonen, die in der Nebennierenrinde produziert werden und zu denen unter anderem das Cortisol gehört. Damit die Nebennierenrinde dazu angeregt wird Cortisol zu produzieren, bedarf es einer Signalkaskade, die auch

als Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse oder HPA-Achse bezeichnet wird. Als Reaktion auf einen Stressreiz wird also zunächst der Hypothalamus, der im Zwischenhirn des Hundes liegt, aktiviert. Dieser schüttet ein Hormon aus, das einen weiteren Bereich im Gehirn aktiviert - die Hypophyse. Diese schüttet erneut ein Hormon aus, welches durch den Körper wandert und die Nebennierenrinde zur Produktion von Cortisol anregt. Durch einen passiven Vorgang diffundiert das Cortisol auch in den Speichel. Hierdurch kann die Stressreaktion des Hundes und folglich die Aktivierung der HPA-Achse durch das im Speichel vorhandene Cortisol gemessen werden. Das im Speichel enthaltene Hormon Cortisol wurde bereits in einer Vielzahl von Studien herangezogen, um eine Stressreaktion des Hundes zu messen (vgl. u. a. Glenk et al. 2014, Svobodova et al. 2014, Beerda et al. 1998).

Referenzen

Beerda, B., Schilder, M.B.H., van Hooff, J.A.R.A.M., de Vries, H.W., Mol, J.A. (1998) Behavioural, salivary cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 58, 365-381.

Broom, D.M., Johnson, K.G. (2008) *Stress and animal welfare*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Dreschel, N.A., Granger, D.A. (2009) *Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs*. *Hormones and Behavior*, 55, 163-168.

Glenk, L.M., Kothgassner, O.D., Stetina, B.U., Palme, R., Kepplinger, B., Baron, H. (2014) Salivary cortisol and behavior in therapy dogs during animal-assisted interventions: A pilot study. *Journal of Veterinary Behavior*, 9, 98-106.

Koh, D.S.-Q., Koh, G.C.-H. (2007) The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occupational and Environmental Medicine*, 64(3), 202-210 doi: 10.1136/oem.2006.026567.

Svobodova, I., Chaloupkova, H., Kancel, R., Bartos, L., Hradecka, L., Jevavy, L., (2014) Cortisol and secretory immunoglobulin A response to stress in german shepherd dogs. *PlosONE*, 9 (3), e90820.

Wichtige Hinweise zur Speichelprobenahme

Um aus den Speichelproben eindeutige Messungen zu erzielen und somit den Verlust dieser wertvollen Daten zu verhindern ist es entscheidend, dass für die Probenahme einige Punkte beachtet werden:

- Der Hund soll mindestens eine Stunde vor Entnahme der Speichelprobe nicht gefüttert worden sein, da Fleisch nachgewiesenermaßen die Werte beeinflussen würde. Die Gabe von Belohnungen bis etwa 15 Min vor der Probenahme ist möglich. Es sollten hierfür jedoch Leckerchen gewählt werden, die entweder feucht oder zumindest halbfleucht sind. Verunreinigungen der Mess-Salivette mittels Futterreste, Blut (Zahnfleischbluten) oder Ähnlichem machen die Probe unbrauchbar.
- Der Hund sollte sich kurz vor der Probenahme nicht sportlich betätigt haben.
- Entnehmen Sie Speichelproben bitte immer in entspannten Situationen.
- Die Salivette soll ruhig im Hundemaul liegen. Ein übermäßiges Reiben an den Lippen und am Zahnfleisch sollte vermieden werden, damit es zu keinen Verunreinigungen kommt.

Kooperationspartner:

Die Speichelprobe

Zeitpunkte der Speichelprobenahme

Die Speichelproben werden drei Mal täglich an sieben aufeinanderfolgenden Tagen genommen. In diesen Zeitraum sollten keine Feiertage fallen. **An welchem Wochentag begonnen wird ist unwichtig.** Die Uhrzeiten der Probenahme variieren stark vom Tagesablauf der Hundehalter:innen, müssen aber unbedingt dokumentiert werden. Die erste Probenahme des Tages passiert wenn möglich gleich nach dem Aufstehen, die zweite zur Mittagszeit und die dritte am Abend.

Ablauf der Speichelprobenahme

Für die Speichelprobenahme wird das Folgende benötigt:

- Eine Salivette mit Baumwollröhrchen
- Ein Einmalhandschuh
- Daten Tabelle
- Stift (Wasserfest)
- Leckerchen

- Über die Hand, mit der Sie das Baumwollröhrchen festhalten werden, ziehen Sie bitte zunächst den Einmalhandschuh.
- Nun wird das Baumwollröhrchen in das Maul des Hundes geführt und dort für 1-2 Min. festgehalten, da eine ausreichende Menge an Speichel für die nachfolgenden Messungen benötigt wird.
- Nach dieser Zeit wird das Baumwollröhrchen aus dem Maul des Hundes herausgenommen und wieder in die Salivette überführt. Der Hund wird mit dem Leckerchen belohnt.

Nach der Probenahme muss die Salivette sofort mit Wochentag und Uhrzeit beschriftet und eingefroren werden, um eine korrekte Messung zu gewährleisten.

Bitte tragen Sie die Daten zur Probenahme anschließend in die ausgehändigte Tabelle ein. Außerdem können Sie zusätzlich zur Uhrzeit auch besondere Vorkommnisse im Zeitraum zwischen der letzten Probenahme und der aktuellen in die Spalten der Tabelle eintragen (Siehe Beispieltabelle).

Tabelle 1 Beispieltabelle

	Montag 23.10.23	Dienstag 24.10.23	Mittwoch 25.10.23	Donnerstag 19.10.23	Freitag 20.10.23	Samstag 21.10.23	Sonntag 22.10.23
Morgens (6-9 Uhr)	8:15	8:30 Zu spät aufgestanden	8:00	7:30 Unruhige Nacht	8:00	8:30	8:45
Mittags (12-15 Uhr)	14:45 Davor langer Spaziergang	13:30	14:00 Davor lange allein	12:30	13:45 Hat davor im Garten gespielt	14:15 Ausflug in die Innenstadt	15:00
Abends (20-23 Uhr)	22:30	22:00 Besuch war davor da	22:45	21:45	22:30 Davor einige Zeit allein	21:30	21:00 Davor waren wir auf einer Geburtsfeier

Zeitraum der Probenahme: 19.10.23 – 25.10.23

Name des Hundes: Elsa

Abbildung 7 Anleitung für Hundehalter:innen

Teile der Salivette



Verschluss

Baumwollröhrchen

Innenröhrchen

Außenröhrchen

Packanleitung für Styroporboxen zum Transport der Speichelproben



Beschriftung der Salivette



- Wochentag
- Uhrzeit

Abbildung 8 Bildanleitungen

Checkliste für Hundehalter:innen

Probennahme

- Leckerli bereithalten
- Einweghandschuhe anziehen
- Baumwollröllchen in die Backe legen
- 60 Sekunden warten
- Baumwollröllchen herausnehmen und in das Röhrchen stecken
- Salivette verschließen
- Dem Hund ein Leckerli geben
- Salivette mit Wochentag und Uhrzeit beschriften (Wasserfester Stift)
 - Beispiel : Wochentag Freitag; Uhrzeit 8:15 Uhr , andere Angaben auf der Salivette ignorieren.
- Datum, Uhrzeit und besondere Vorkommnisse im Protokoll eintragen
- Röhrchen einfrieren

Verpacken und Rückversand

WICHTIG! Bitte Proben erst 7 Tage im Tiefkühler sammeln und alle zusammen kurz vor Versand verpacken und direkt zur Post bringen

- Gefrierbeutel mit Vornamen, Familienname und Hundename beschriften
- Beschriftete, tiefgefrorene Röhrchen in den Gefrierbeutel geben und in den Styropor Behälter legen
- Kühl Akkus dazulegen (Bitte vorher für mindestens 48 h in den Tiefkühler legen)
- Styropor Behälter und Umverpackung (Karton) fest verschließen (Klebeband)
- Mitgesendeten Adressaufkleber über Ihre Adresse kleben und mit beigelegten Briefmarken frankieren

Für jegliche Art von Fragen bin ich unter 1545273@students.vetmeduni.ac.at oder telefonisch unter **0049 170 96 777 09** erreichbar!

Vielen Dank für Ihre Teilnahme!

Britta Mang

Abbildung 9 Checkliste

Einverständnis- und Verpflichtungserklärung der Hundehalter Ich, Name des Hundehalters Wohnort: Tel.Nr. E-Mailadresse: erkläre hiermit, dass ich damit einverstanden bin, dass mein Hund Name: Chipnummer: Geschlecht: Geburtsdatum: Rasse: im Zeitraum von bis an folgendem Projekt „Bestimmung von Speichelcortisolwerten von Blindenführhunden zur Ermittlung ihres Stresslevels im Vergleich zu Familienhunden sowie anderen Assistenzhundeklassen“ im Bereich der Vergleichenden Kognitionsforschung am Messeri Forschungsinstitut, Veterinärmedizinische Universität, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, teilnimmt.	Im Rahmen des genannten Projekts werden Untersuchungen ohne invasive Methoden durchgeführt; diese beinhalten insbesondere die folgenden Maßnahmen: Es werden Speichelproben von Blindenführhunden genommen, um aus diesen deren Cortisolwerte zu ermitteln. Cortisol ist ein physiologischer Parameter, der zur Ermittlung von Stress herangezogen wird. Ziel des Projektes ist es herauszufinden, ob Blindenführhunde einer höheren Stressbelastung ausgesetzt sind als andere Assistenzhunde bzw. Familienhunde. Die Speichelproben werden drei Mal täglich an sieben aufeinanderfolgenden Tagen von einer dem Hund vertrauten, nicht sehbeeinträchtigten Person entnommen. Diese bekommt eine Einführung in der Technik der Probennahme und der Probenbeschriftung. Ich erkläre mich bereit, den Anleitungen des Testleiters zu folgen, wobei es mir jedoch freisteht, die Untersuchung jederzeit abzuberechen. Ich bestätige, dass der oben bezeichnete Hund nach meinem Wissen frei von ansteckenden Krankheiten ist und über einen wirksamen, zumindest die CORE-Komponenten umfassenden Impfschutz verfügt. Sollten bei dem oben bezeichneten Hund im Projektzeitraum Anzeichen einer Erkrankung auftreten, so verpflichte ich mich dazu, ihn unverzüglich einem Tierarzt vorzustellen und den Testleiter über eine allfällige Erkrankung sowie über neue Medikamente, die dem Hund verabreicht werden, zu informieren, da eine Änderung des Gesundheitsstatus die Ergebnisse der Studie beeinflussen kann. Für den oben bezeichneten Hund besteht im Projektzeitraum eine aufrechte Haftpflichtversicherung mit der gesetzlich vorgesehenen Deckungssumme. Ich erkläre mich mit dieser Vereinbarung vollinhaltlich einverstanden: Unterschrift des Halters: Ort, Datum:
--	--

Abbildung 10 Einverständniserklärung

Fragebogen Hundehalter Name Hund Rasse oder Mischling Geburtsdatum Im Haushalt lebende Hunde (Anzahl und Alter) Insgesamt im Haushalt lebende Personen (Anzahl und Alter) Zeitraum der Probenahme Datum des Rückversandes der Proben Sonstige Anmerkungen (Persönlichkeit des Hundes, besondere Umstände): Für jegliche Art von Fragen bin ich unter 1545273@students.vetmeduni.ac.at oder telefonisch unter 0049 170 96 777 09 erreichbar! Vielen Dank für Ihre Teilnahme! Britta Mang

Abbildung 11 Fragebogen

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle zunächst bei Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Ludwig Huber bedanken für die Übernahme der Betreuung meiner Diplomarbeit und die Unterstützung bei der Finalisierung. Des Weiteren bedanke ich mich bei Mag. Karl Weissenbacher für die Vergabe und Konzeptualisierung des Themas der Studie und die Unterstützung während der Planungsphase sowie Versuchsdurchführung.

Ein weiterer Dank gilt Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Rupert Palme für seine Rolle als Gutachter und für die Unterstützung seiner Arbeitsgruppe bei der Analyse der Proben. Hier gilt ein besonderer Dank Frau Dr.rer.nat. Sabine Macho-Maschler.

Bedanken möchte ich mich auch herzlichst bei den teilnehmenden Blindenführhunde-Teams, ohne die diese Studie nicht realisierbar gewesen wäre.

Zum Schluss gilt mein Dank meiner Familie und meinen Freunden, auf deren Unterstützung ich immer zählen kann.