

P. Seele
G. Bärenwald
C. C. Zouboulis

Die Bedeutung mykologischer Diagnostik

The Significance of Fungal Diagnostic Procedures

Zusammenfassung

Pilzinfektionen der Haut und des Nagelorgans haben in den letzten Jahren zu bedeutenden Infektionskrankheiten avanciert. 1989 bis 1990 verursachten allein in den USA die über 65-jährigen Patienten Kosten von 43 Millionen Dollar durch 1,3 Millionen Arztbesuche wegen Mykosen und der nachfolgenden antimykotischen Therapie. Auch aus diesem Grund ist es dringend notwendig, gezielt den jeweiligen Erreger (Dermatophyten, Hefen, Schimmelpilze) nachzuweisen und für die Therapie individuell ein geeignetes Antimykotikum auszuwählen. In der Hautklinik und dem Immunologischen Zentrum des Städtischen Klinikums Dessau hat inzwischen die exakte mykologische Diagnostik Tradition.

Abstract

Fungal infections of skin and nails have advanced to meaningful infectious diseases within the last few years. From 1989 to 1990 costs of 43 million dollars because of 1.3 million doctor visits due to mycoses and the subsequent antifungal therapy were only caused by the over 65-year-old patients in the USA. Also for this reason it is necessary to identify the respective pathogenic microorganisms (dermatophytes, yeasts, moulds) and to select a suitable antifungal agent for the individual therapy. Exact mycological diagnostic procedures have tradition in the Departments of Dermatology and Immunology, Dessau Medical Center.

Einleitung

Die deutsche Mykologie kann insgesamt auf eine fast 170-jährige Geschichte zurückblicken, nachdem 1837 erstmals von Schönlein in den Krusten des Favus Pilzfäden entdeckt und beschrieben wurden. Bis heute sind 100 pathogene Pilzarten bekannt, deren Anzahl jedoch ständig steigt. Unter den insgesamt 100 000 bis 500 000 verschiedenen bekannten Pilzarten nehmen die pathogenen Pilze jedoch einen verschwindend geringen Anteil ein [1].

In den letzten Jahrzehnten avancierten Pilzinfektionen der Haut und des Nagelorgans zu bedeutenden Infektionskrankheiten [2]. Dies spiegelt sich auch in der täglichen Arbeit in Klinik und Praxis wieder. Was lange Jahre, auch von Ärzten, vernachlässigt und allenfalls als kosmetisch beeinträchtigend angesehen wurde, bekommt plötzlich durch ein gestiegenes Gesundheitsbewusstsein eine immer größere Bedeutung.

So sehen wir zusehends Patienten, die beunruhigt durch z. B. eine Onychomykose unsere Hilfe suchen. Allein ein Drittel aller Dermatomykosen entfallen auf diese myzotische Nagelinfektion

Institutsangaben

Hautklinik und Immunologisches Zentrum, Städtisches Klinikum Dessau
(Chefarzt: Prof. Dr. C. C. Zouboulis)

Widmung

Herrn Prof. Dr. Hans-Dieter Göring zum 66. Geburtstag gewidmet.

Korrespondenzadresse

Dr. med. Peggy Seele · Hautklinik und Immunologisches Zentrum · Städtisches Klinikum Dessau ·
Auenweg 38 · 06847 Dessau · E-mail: peggy.seele@klinikum-dessau.de

Bibliografie

Akt Dermatol 2006; 32: 309–312 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
DOI 10.1055/s-2006-944575 · ISSN 0340-2541

[3]. Man kann diese speziellen Pilzinfektionen durchaus als „Volkskrankheit“ ansehen [4]. Das Nachrichtenmagazin „Der Spiegel“ ging im Jahr 2000 sogar so weit, dass er die Deutschen als „verpilztes Volk“ bezeichnete [5].

Gegenwärtige Bedeutung der Mykosen

Welche Bedeutung kommt nun den Mykosen und ihrer Diagnostik im täglichen Alltag in Klinik und Praxis zu?

Pilze sind nicht nur in der Lage, Mykosen an Haut, Schleimhaut und Hautanhangsgebilden zu verursachen, sie können auch 1. Mykoallergosen, 2. Mykotoxikosen und 3. Mykide auslösen [1,6].

1. Die Mykoallergosen entstehen vorwiegend durch Schimmelpilzsporen und verlaufen klinisch meist als Asthma, seltener auch als Rhinokonjunktivitis. 1999 wurde aus den USA der Fall eines 57-jährigen Mannes publiziert, welcher über zunehmende asthmatische Beschwerden klagte, nachdem er eine Onychomykose der Zehnägeln entwickelt hatte. Es konnte aus den auffälligen Zehnägeln dieses Patienten *Trichophyton rubrum* isoliert werden. Der Patient reagierte dann auch in der Scratchtestung stark positiv auf *Trichophyton*. Schon unter der internen antimykotischen Therapie mit Itraconazol besserten sich die asthmatischen Beschwerden deutlich. Nach Therapieende konnte der Patient auf sämtliche Asthmadikamente verzichten und blieb ohne pulmonale Beschwerden [7]. Hier kann nahtlos die Brücke zur Problematik der „Umweltmykologie“ geschlagen werden. So wie in diesem Fall ein Asthma bronchiale durch eine Onychomykose ausgelöst wurde, gibt es sicher Pilze und deren Sporen in, vorzugsweise feuchten, Gebäuden, welche für Asthma bronchiale, eine Rhinokonjunktivitis allergica oder andere reale und subjektive Beschwerden der Bewohner verantwortlich zu machen sind. Hier gibt es Pläne für eine enge Zusammenarbeit zwischen dem Umweltbundesamt in Dessau und unserer Klinik in naher Zukunft.
2. Neben den eben beschriebenen allergischen Erkrankungen, welche durch Pilze ausgelöst werden können, gibt es auch Pilze, insbesondere Schimmelpilze, die Toxine produzieren. Diese Toxine können unter Umständen zu schweren Systemerkrankungen mit ausgeprägten Befindlichkeitsstörungen und in seltenen Fällen auch zur Entwicklung von Karzinomen führen. Ein Beispiel hierfür wäre der Schimmelpilz *Aspergillus flavus*, welcher das karzinogene Aflatoxin B1 produziert und potenzieller Verursacher einer solchen Mykotoxikose ist.
3. Schließlich sind die Mykide als allergische Reaktionen des Hautorgans auf die Antigene der Pilze, welche sich an anderen Körperstellen als Mykose manifestiert haben, zu betrachten. Die Effloreszenzen der Mykide sind typischerweise nicht am Ort der Pilzinfektion, sondern entfernt am gesamten Integument zu sehen.

Ein weiteres Problem kann, sicher selten, auch aus der Produktion von Antibiotika durch einige Pilze resultieren. Speziell durch Dermatophyten, insbesondere *Trichophyton interdigitale* und *Epidermophyton floccosum*, werden Antibiotika vom Fusidin-Typ und Benzylpenicillin produziert. Dadurch könnten sich einerseits Penicillin-Allergien bei den Betroffenen neu entwickeln

oder wieder manifestieren und andererseits könnten Bakterien, wie z. B. *Staphylococcus aureus*, Resistenzen entwickeln.

Neben diesen soeben beschriebenen direkten Folgen einer Pilzinfektion kann natürlich die Mykose per se auch über den quälenden Juckreiz, das veränderte Hautbild und mögliche Folgeerkrankungen für den Organismus beeinträchtigend wirken.

So verursacht eine Onychomykose beispielsweise nicht nur eine Beeinträchtigung des Wohlbefindens und der Lebensqualität durch die Schmerzen und die kosmetische Beeinträchtigung, sondern es werden ausgehend von Onychomykosen und einer *Tinea pedum* zusehends häufiger Erysipele und Paronychien beschrieben sowie das Auftreten von generalisierten Hautveränderungen im Sinne eines *Trichophyton-rubrum*-Syndroms. Diese können lange Zeit als Psoriasis oder Ekzeme oder auch andere Dermatosen fehldiagnostiziert werden und führen somit zu diagnostischen und therapeutischen Irritationen und langwierigen Krankheitsverläufen [1,4,9].

Im Extremfall kann es auch zum Auftreten von Septikämien durch z. B. *Candida*-Infektionen der Schleimhaut, des Haut- und Nagelorgans kommen. Dies tritt besonders bei immunsupprimierten Patienten auf.

Geht man schließlich davon aus, dass zusehends mehr Patienten wegen Mykosen ihre Ärzte aufsuchen und daraus Therapiekosten, Arztkosten und ggf. auch Arbeitsunfähigkeiten resultieren, bekommen diese auch eine enorme wirtschaftliche Bedeutung. 1989 bis 1990 verursachten allein in Amerika die über 65-jährigen Patienten Kosten von 43 Millionen Dollar durch 1,3 Millionen Arztbesuche wegen Mykosen und der nachfolgenden antimykotischen Therapie [8].

Gezielte antimykotische Therapie

Durch besondere Resistenzentwicklungen in den letzten Jahren, gerade auch bei Pilzen, ist es dringend notwendig, nicht nur die klinische Verdachtsdiagnose „Mykose“ zu stellen und ungezielt, sozusagen „breit und blind“, zu therapieren, sondern gezielt auch den jeweiligen Erreger nachzuweisen und für die Therapie individuell ein geeignetes Antimykotikum auszuwählen.

So ist beispielsweise bekannt, dass die Hefe *Candida guilliermondii* ein großes therapeutisches Problem darstellt und z. B. durch Fluconazol und Itraconazol nicht therapierbar ist. Hier wäre allein der lokale Einsatz von Ciclopiroxolamin sinnvoll.

Ein weiteres Beispiel für die eingeschränkte Wirksamkeit von Itraconazol ist der Dermatophyt *Trichophyton interdigitale*. Diese Spezies verfügt zusätzlich bei Fluconazol sogar über eine vollständige natürliche Resistenz [4].

Die mykologische Diagnostik im Städtischen Klinikum Dessau

Aufgrund der hier geschilderten gesundheitlichen und wirtschaftlichen Bedeutung der Mykosen kommt einer frühzeitigen

erfolgreichen Therapie, welche wiederum eine exzellente mykologische Diagnostik voraussetzt, eine herausragende Bedeutung zu. Wir möchten nun schildern, wie wir dies an unserer Klinik praktisch verwirklichen.

Dermatophyten

Bewährt hat sich die Unterscheidung der Erreger von Dermatomykosen in Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilze. Dabei stellen Dermatophyten mit 55,4% und Hefen mit 43,5% den größten Anteil des Erregerspektrums, Schimmelpilze nur 1,1% [10]. Bei Verdacht auf Dermatophyten wird zunächst ein mikroskopisches Nativpräparat angefertigt, welches schnell Hinweise auf vorhandene Pilzelemente liefert, aber keine Differenzierung der Spezies erlaubt. Nach Desinfektion werden Hautschuppen, Nagelspäne u. ä. Material im Bereich zwischen „gesund“ und „befallen“ entnommen, mit Kalilauge versetzt und mikroskopiert. Der Zusatz verschiedener Farbstoffe erleichtert das Auffinden von Pilzstrukturen. Für die Anzüchtung der Dermatophyten aus dem verbleibenden Material ist Geduld erforderlich, denn das Wachstum kann erst nach vierwöchiger Kultur erfolgen. Sorgfalt ist bei der Auswahl des Kulturmediums geboten. Antibiotikazusatz und der von Cycloheximid verhindern das Wachstum von Bakterien und Schimmelpilzen als Kontaminanten, aber Cycloheximid auch das Hefewachstum und das von Schimmelpilzen als echte Erreger. Idealerweise werden Medien mit und ohne Zusatz eingesetzt. Präparat und Kultur können durchaus zueinander gegensätzlich positiv oder negativ sein [11]. Die Speziesidentifizierung erfolgt überwiegend über morphologische Kriterien, d. h. makroskopische und v. a. mikroskopische Begutachtung, für die Zupf- und Abrisspräparate erstellt werden. Das Aussehen u. a. von Hyphen, Marko- und Mikrokonidien wird ausgewertet. Einige physiologische Tests unterstützen die Speziesfindung [12]. Der mit Abstand häufigste Dermatophyt in Deutschland ist der Trichophyton (*T.*) *rubrum* [10], gefolgt von *T. interdigitale*, früher *T. mentagrophytes* genannt [13] und *Microsporon canis* (Abb. 1). Wichtig ist die Speziesidentifizierung auch zur Erkennung von apathogenen Trichophytonarten, wie *T. terrestre* und *T. ajelloi*.

Hefen

Ganz anderes Aussehen haben Hefen, die in ihrer Koloniebeschaffenheit und Wachstumsgeschwindigkeit eher Bakterien ähneln. Hefen können Erreger von Haut-, Schleimhaut- und Systemmykosen sein. Aufgrund des Wachstums innerhalb von 24 bis 72 Stunden spielt das Nativpräparat keine entscheidende Rolle. Nur zur Identifizierung von *Mallassezia furfur* ist es unentbehrlich, da diese Hefe schwer anzüchtbar ist. Zur Kultur werden Selektivnährböden mit Antibiotikazusatz eingesetzt, die aufgrund enzymatischer Reaktionen und deren Sichtbarmachen mit chromogenen Substraten verschiedene Hefen, die normalerweise fast alle weiß bis gelblich sind, farblich unterscheidbar machen. Allerdings sind zur Identifizierung weitere morphologische und physiologische Kriterien heranzuziehen. Zur mikroskopischen Beurteilung werden Subkulturen auf Reisagar angelegt und nach 1 bis 2 Tagen hinsichtlich z. B. Pseudomycel- und Chlamydosporenbildung mikroskopisch ausgewertet. Bei entsprechendem Verdacht gibt es Schnelltests für den Nachweis von

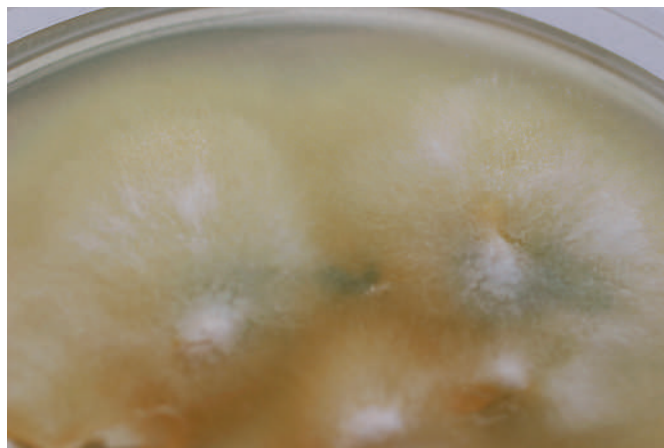


Abb. 1 *Microsporon canis*.



Abb. 2 *Scopulariopsis brevicaulis*

Candida (*C.*) *krusei* bzw. *C. glabrata*. Mittels biochemischer Reaktionen, z. B. der Assimilation von Zuckern, die für häufig auftretende Hefespezies einen charakteristischen Code ergeben, erfolgt weitere Speziesdifferenzierung. Diese ist unbedingt erforderlich, da es Hefen gibt, die gegen bestimmte Antimykotika resistent sind und apathogene Arten, wie z. B. *Saccharomyces*. Die häufigsten Hefen sind bei Dermatomykosen *C. albicans*, *C. parapsylosis*, *C. guillermondii*, bei Schleimhautmykosen *C. albicans*, *C. glabrata* und *C. krusei* [10].

Speziallaboratorien ist die genaue Identifizierung der Hefenspezies mittels NAT (Nukleinsäureimplifikationstechniken) vorbehalten. Besonders bei V. a. Systemmykosen empfiehlt sich ein Resistenztest mittels Agar-Diffusion, E-Test oder Mikrodilution. Letztere wird von uns genutzt. Nicht vergleichbar sind die Ergebnisse mit denen von Resistenztests für Bakterien, da die Tests für Pilze noch in der Entwicklungsphase begriffen sind.

Schimmelpilze

Vergleichsweise selten sind Schimmelpilze als Erreger von Dermatomykosen [14] (Abb. 2). Häufig treten sie als Artefakt auf, weshalb ein einmaliger Befund immer bestätigt werden muss. Im Aussehen sind sie manchmal schwierig von Dermatophyten zu unterscheiden. Das Nativpräparat wird genau so erstellt, wie

oben für die Dermatophyten beschrieben. Für die Kultur muss natürlich ein Medium ohne Cycloheximid verwendet werden. Schimmelpilze wachsen im Gegensatz zu Dermatophyten innerhalb weniger Tage. Die Identifizierung erfolgt makroskopisch u. a. im Hinblick auf die oft vielfältige Färbung der Kulturen, die von weiß über gelb, grün, braun bis schwarz variieren kann. Die genaue Speziesidentifizierung erfolgt über mikromorphologische Merkmale und ist noch diffiziler als bei den Dermatophyten. Gut unterscheidbar sind *Penicillium* und *Aspergillus* durch die unterschiedliche Form der Konidienträger in Pinsel- bzw. Gießkannenform. Die Zuordnung der *Aspergillus*spezies, die beispielsweise bei Systemmykosen auftreten, ist bedeutend schwieriger und erfordert jahrelange Erfahrung. *Candida*-Antigen und -Antikörper, *Aspergillus*-Antigen und -Antikörper können bei V. a. Systemmykosen im Serum des Patienten nachgewiesen werden. Der wichtigste Schimmelpilz in der Dermatologie ist der rehbraune *Scopulariopsis brevicaulis* mit charakteristisch rauen Kolonien in Kettenform, der als Erreger von Onychomykosen auftritt.

Die altbekannte Feststellung, dass gleiche Pilze unterschiedlich aussehen können und unterschiedliche Pilze gleich aussehen können, verdeutlicht die ganze Komplexität der Pilzdiagnostik. Die Hautklinik und das Immunologische Zentrum des Städtischen Klinikums Dessau lässt stets die hohe Qualität der mykologischen Diagnostik in ihren Laboren durch die regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen und zertifizierten Qualitätsprüfungen bestätigen.

Literatur

- ¹ Seele P. Erregerspektrum von Onychomykosen in den Jahren 1990 bis 1999 am Patientengut der Hautklinik und Hautpoliklinik der Charité. Dissertation, 2003
- ² Nolting S, Seebacher C, Ulbricht H. Onychomykosen. Dermatosen im Bild. Aventis Pharma Deutschland, 2002
- ³ Ginter G, Rieger E, Heigl K, Probst E. Steigende Häufigkeit der Onychomykose – Ändert sich das Erregerspektrum? *Mycoses* 1996; 39 (Suppl. 1): 118 – 122
- ⁴ Tietz H-J, Mendling W. Haut- und Vaginalmykosen. Blackwell Wissenschaftsverlag, 2001
- ⁵ Tietz H-J. Fußpilz in jeder 5. Socke. Aktuelle Medizin-Interview. *MMW – Fortschr Med* 2000; 142: 16
- ⁶ Klinkhammer F. Der Schimmelpilz – ein unliebsamer Mitbewohner. *Dtsch Arztebl* 2000; 97: B2531
- ⁷ Elewski BE, Schwartz HJ. Asthma induced by allergy to *Trichophyton rubrum*. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 1999; 12: 250 – 253
- ⁸ Drake LA, Scher RK, Smith EB, Faich GA, Smith SL, Hong JJ, Stiller MJ. Effect of onychomycosis on quality of life. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 702 – 704
- ⁹ Korting H-C, Schaller M. Neue Entwicklungen in der medizinischen Mykologie. *Hautarzt* 2001; 52: 91 – 97
- ¹⁰ Korting H-C, Sterry W. Diagnostische Verfahren in der Dermatologie. Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1997
- ¹¹ Mügge C, Haustein U-F, Nenoff P. Causative agents of onychomycoses – a retrospective study. *J Dtsch Dermatol Ges* 2006; 4: 218 – 228
- ¹² Brasch J. Bewährte und neue Verfahren zur Differenzierung von Dermatophyten. *Hautarzt* 2004; 55: 136 – 142
- ¹³ Nenoff P. *Trichophyton mentagrophytes* – ein zoophiler Dermatophyt im Aufwind. *Mykologieforum* 2005; 4: 30 – 31
- ¹⁴ Nenoff P. Dermatomykosen durch Schimmelpilze, 16. Tagung der AG „Mykologische Laboratoriumsdiagnostik“, Leipzig 5. 11. 2004

Buchbesprechung

Dermatologische Rezepturen.

Schlüssel zur individualisierten topischen Therapie

C. Garbe, H. Reimann

2. vollst. neu bearb. Aufl., Stuttgart: Thieme/Govi, 2005, 268 S., Kart. 39,95 €, ISBN 3-13-107292-X

Knapp 300 Seiten umfasst das vorliegende Buch der Autoren Claus Garbe und Holger Reimann. Auf dem neusten Stand des Wissens wird die dermatologische Lokalthherapie anwenderfreundlich dargestellt.

Die Zahl der vorgestellten Rezepturen ist von 108 in der ersten Auflage auf 137 gestiegen. Auch das neue Rezepturformularium wurde in dieser Zeit um mehr als 50 neue topische Rezepturen erweitert. Ziel der Autoren ist die individualisierte qualitativ hochwertige Lokalthherapie des Patienten, wie sie nur in der Dermatologie aufgrund des reichen Erfahrungsschatzes vorgenommen werden kann. Sie ist unverzichtbar für die erfolgreiche und effiziente Behandlung unserer Patienten.

Dabei scheuen die Autoren auch umstrittene Themen nicht wie zum Beispiel die Anwendung von Farbstoffen in der Dermatologie. So führen sie aus, dass für die Verschreibung der Castellani-Lösung kein Raum mehr bestehe, da neben Borsäure mit Bor, Resorcin und Fuchsin mehrere problematische Bestandteile enthalten sind. Obsolete, bedenkliche und problematische Stoffe der Rezepturen werden ausführlich vorgestellt. Auch kommen in der Selbstzahlerpraxis nützliche Rezepturen wie die depigmentierende dreiprozentige Hydrochinon-Salbe nicht zu kurz. Alle Verordnungen werden sowohl bezüglich der Konzentration wie auch der Menge preislich dargestellt.

Abgeschlossen wird das Buch mit Tabellen der wirkstofffreien Dermatika, für die gemäß Vereinbarung mit den Krankenkassen bei Rezepturen nur tatsächliche Menge berechnet wird. Diese Neuaufgabe ist für unser Fach wertvoll und uneingeschränkt zu empfehlen. Der Praxisbezug ist gewährleistet.

M. Herbst, Heidelberg