



**D  
MYKOLOGIE FORUM  
G** **Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft e.V.**

- **Rundbrief**
- **Mykologische Laboratoriumsdiagnostik**
- **Pilze als wertvolles Reservoir für neue Arzneistoffe**
- **Mykologische Lebenswege**

**Mykologie Forum**  
Mitteilungen der  
Deutschsprachigen  
Mykologischen  
Gesellschaft e.V.

**Ausgabe 1/2001**

# Einladung

**Professor Dr. med. Isaak Effendy**

## **MYK 2001 in Marburg – Was bewegt die Mykologie?**

Die 35. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft wirft ihre Schatten voraus. Vom 13.-15. September 2001 werden sich die Mykologen in Marburg treffen. Auf die Frage nach den Schwerpunkten der diesjährigen Tagung, sagte Tagungsleiter Professor Dr. med. Isaak Effendy, dass er auch die klinikrelevanten Themen favorisieren möchte. Denn was hier im Wesentlichen bewegt, sind die Probleme der Diagnostik und Therapie der Mykosen der Haut und der Inneren Organe. Im Rahmen der Qualitätssicherung werden deshalb spezielle Kurse zur mykologischen Diagnostik angeboten.

Trotz Verfügbarkeit der modernen Antimykotika gibt es aber immer wieder Problemmykosen. Hier besteht insbesondere die Herausforderung für therapeutische Innovationen.



**Professor Dr. med. Isaak Effendy**

Abgesehen von den krankheitsbedingten – sind die therapiebedingten Mykosen die Kehrseite der Medaille moderner und notwendigerweise invasiver Therapieregime. Hier sind diagnostische und frühtherapeutische Maßnahmen dringende Aufgaben. Aufgrund des interdisziplinären Charakters der Mykologie ist praktisch die gesamte Medizin gefordert und eingeladen, um die relevanten Neuigkeiten, welche die Grundlagenforschung in der Mykologie herausgearbeitet hat, für die Patienten umzusetzen.



**Titelseite**      **Querschnitt durch eine junge Gerstenwurzel**

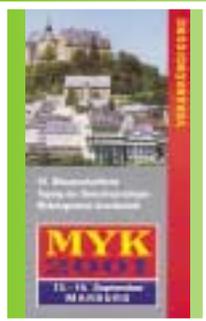


Angeschnitten sind die Wurzelrindenzellen (weiß-hyalin). Der Pilz „Drechslera“ sp. wächst in den Interzellularräumen der Wurzelrinde und ist blau angefärbt.

**Seite 10**      **Tagungskalender 2001**

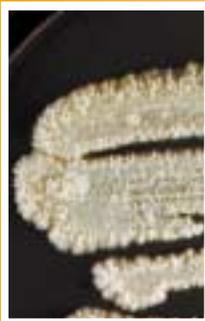


**Seite 3**      **Einladung**



**MYK' 2001 in Marburg**  
**13.–15.9.2001**  
Prof. Dr. med. Isaak Effendy

**Seite 11**      **Tagungs-Bericht**



14. Tagung der Arbeitsgruppe „Mykologische Laboratoriumsdiagnostik“ innerhalb der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft (DMykG) am 17. November 2000 in Leipzig

Dr. Monika Krüger  
PD Dr. med. Pietro Nenoff, Leipzig



**Seite 22**      **Tagungs-Bericht**



**Pilze als wertvolles Reservoir für neue Arzneistoffe**

Dr. Klaus A. Schmidt, Köln

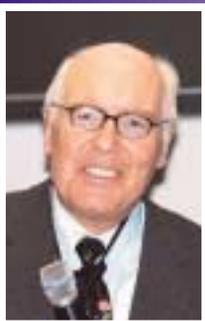
**Seite 6**      **Rundbrief**



**Mitteilungen des Vorstandes**

von Prof. Dr. med.  
Claus Seebacher, Dresden

**Seite 25**      **Interview**



**Ein mykologischer Lebensweg in Westdeutschland**

Interview mit Herrn  
Professor Dr. med. S. Nolting, Münster

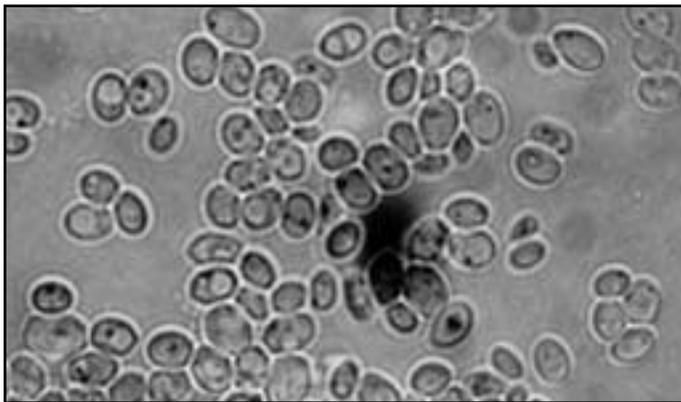
**Seite 28**

**Interview**



**Ein mykologischer Lebensweg in Ostdeutschland**

Interview mit Herrn  
Professor Dr. med. Claus Seebacher,  
Dresden



**Seite 29**

**Report**

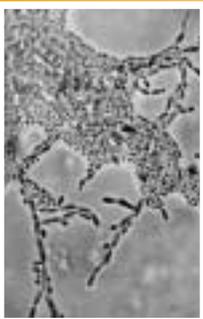


**Probleminfektionen in der Klinik**

Systemische Mykosen bei Intensivpatienten  
frühzeitig therapieren

**Seite 34**

**Kurz notiert**



**Kombinationstherapie mit 5-Flucytosin (Ancotil®)**

unverzichtbare Substanz in der  
antimykotischen Therapie

**IMPRESSUM**

**MYKOLOGIE FORUM**

Mitteilungen der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V.

**Herausgeber:**

Vorstand der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V.  
(DMyKG e.V.) H. C. Korting, Vorsitzender; H. Hof, stellv. Vorsitzender;  
W. Fegeler, Kassenwart; C. Seebacher, Schriftführer.

**Wissenschaftlicher Beirat:**

Dietrich Abeck, München; Hannelore Bernhardt, Greifswald;  
Margarete Borg-von Zepelin, Göttingen; Jochen Brasch, Kiel;  
Norbert H. Brockmeyer, Bochum; Isaak Effendy, Marburg;  
Gabriele Ginter, Wien; J. Hacker, Würzburg; Dag Harmsen, Würzburg;  
Gerhard Haase, Aachen; Gudrun Just-Nübling, Frankfurt;  
Ursula Kaben, Rostock; Manfred Knoke, Greifswald;  
Marianne Kretschmar, Mannheim; Peter Kujath, Lübeck;  
Peter Mayser, Gießen; Werner Mendling, Berlin;  
Joachim Morschhäuser, Würzburg; Fritz Mühlshlegel, Würzburg;  
Frank-Michael Müller, Würzburg; Johannes Müller, Emmendingen;  
Pietro Nenoff, Leipzig; Jörg Ritter, Münster; Martin Schaller, München;  
Günter Schwesinger, Greifswald; Hans-Jürgen Tietz, Berlin.

**Redaktion:**

Gabriele Henning-Wrobel  
Tel. 02943 486880 - e-mail: ghwpress@aol.com

**Verlag:**

PVV Science Publications  
Siemensstr. 12 · 40885 Ratingen

**Herstellung/Druck:**

Preuss GmbH

ISSN-Nr. 1439-5673

**Anzeigen:**

SENT Science & Entertainment  
Im Niederfeld 20 · 59597 Erwitte  
Telefon 0 29 43 / 48 68 81  
Telefax 0 29 43 / 48 68 82

Das MYKOLOGIE FORUM erscheint 4 x jährlich im April, Juni, September und Dezember

Auflage 5.000

Einzelheftpreis: DM 5,-, Sfr. 6,50, öS. 35

Jahresbezugspreis: DM 15,-, Sfr. 20,-, öS 120

Für die Mitglieder der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V.  
ist der Bezug kostenlos.

## Mitteilungen des Vorstandes

- Am 16.01.2001 hat in Berlin eine Sitzung des Unterausschusses 4 des Ausschusses E 10 unter dem Dach des Ausschusses Medizin (NAMed) stattgefunden. Die Leitung der Tagung lag bei dem bisherigen Vorsitzenden, Herrn Dr. A. Schmalreck, sowie Herrn Scholz von der DIN. Anwesend waren ganz überwiegend Repräsentanten der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft. Der Vorstand war durch den Vorsitzenden der DMykG vertreten. Gegenstand der Beratung war insbesondere ein von Herrn Dr. Schmalreck neu erarbeiteter Entwurf im Sinne einer Tischvorlage für die Norm DIN 58940-84 „Medizinische Mikrobiologie – Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika – Teil 84: Mikrodilution – Spezielle Anforderungen an die Testung von Pilzen gegen Antimykotika“. Im Rahmen einer mehrstündigen Debatte wurde ein modifizierter Textentwurf erarbeitet, der auf den weiteren Bearbeitungsweg gebracht werden konnte. Die Unterkommission hat den Wunsch zum Ausdruck gebracht, dass die Hauptkommission den bereits früher erarbeiteten Text zum Mikrodilutionstest rasch über DIN zur Veröffentlichung bringen möge, mit einer Veröffentlichung ist womöglich noch vor Ende des 2. Quartals 2001 zu rechnen. Bei der durchgeführten Wahl eines neuen Sprechers und nunmehr auch eines Stellvertreters wurden einstimmig mit einer Enthaltung Herr Dr. Schmalreck sowie Herr PD Dr. A. Schmidt gewählt. Der Umfang der bisherigen Arbeit seitens der Unterkommission wurde von dem Vertreter von DIN mit sehr klaren Worten herausgestellt. Dennoch gibt es wohl Überlegungen, die Arbeit des Unterausschusses vom Hauptausschuss übernehmen zu lassen. Der Unterausschuss hat sich im Rahmen einer Entschließung im Sinne einer Empfehlung an den Hauptausschuss für sein Weiterbestehen ausgesprochen, anderenfalls wird vorgeschlagen, drei Vertreter des Unterausschusses als regelmäßige Vertreter des Haupt-

ausschusses zu bestimmen, bis jetzt ist der Unterausschuss im Hauptausschuss durch den seitherigen und neuen Vorsitzenden, Dr. Schmalreck, vertreten.

- In den letzten Monaten sind die redaktionellen Arbeiten an dem Mikrobiologischen Qualitätsstandard Pilzinfektionen zum Abschluss gebracht worden. Das von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie in Zusammenarbeit mit der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft erarbeitete Papier wurde federführend von Herrn PD Dr. Haase, Aachen, sowie Frau PD Dr. Borg von Zepelin, Göttingen, betreut. Angesichts der neuen Biostoff-Verordnung erschien es den Vertretern der DGHM angezeigt, hierauf im Text einzugehen. Angesprochen ist hier die Frage der Bedeutung der Biostoff-Verordnung für den Arbeitsschutz im ärztlichen Laboratorium. Im Gespräch zwischen Herrn PD Dr. Haase und dem Vorsitzenden der DMykG konnte eine einvernehmlich getragene Formulierung des Textes in dieser Hinsicht gefunden werden. Die Formulierung ist insbesondere von Bedeutung im Kontext der Frage der Notwendigkeit des Einsatzes einer reinen Werkbank der Klasse 2. Der Mikrobiologische Qualitätsstandard Pilzinfektionen ist im März 2001 im Urban- & Fischer-Verlag München erschienen. Alle Mitglieder der DMykG werden gebeten, das Papier bei ihrer zukünftigen Arbeit in gebührender Weise zu berücksichtigen.
- Die vom Stellvertretenden Vorsitzenden der DMykG im „Mykologie Forum“ aufgeworfene Frage der möglichen Relevanz des breiten Einsatzes von Azolen im Pflanzenschutz für die Resistenzentwicklung bei humanpathogenen Pilzen, war am 21.11.2000 Gegenstand eines mehrstündigen Expertengesprächs in Frankfurt am Main auf Einladung des Industrieverbandes Agrar. Die Moderation lag in Händen des früheren Vorsitzenden der DMykG, Prof. Dr. J. Müller, Emmendingen. Vor dem Hintergrund einer Reihe von Vorträgen wurde eine breite Diskussion geführt. Die Ergebnisse wurden zwischenzeitlich der breiteren Öffentlichkeit durch einen Bericht in der Sektion „Natur und Wissenschaft“ der Frankfurter Allgemeinen Zeitung zugänglich gemacht. Die Transaktion des Expertengesprächs fand ihren Niederschlag in einer Druck-

schrift mit dem Titel: „Gefährden Azol-Fungizide die Wirksamkeit von Antimykotika in der Medizin?“, die kostenlos vom Industrieverband Agrar e.V., Karlstraße 21, 60329 Frankfurt/Main abgefordert werden kann. Aus der Sicht der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft hat sich in dem Gespräch die Notwendigkeit experimenteller Untersuchungen im gegebenen Zusammenhang bestätigt. Bezüglich einer konkreten Umsetzung finden derzeit Gespräche mit verschiedenen Seiten statt.

- Herrn Prof. Dr. H.-J. Tietz ist mit Wirkung vom Januar 2001 die oberärztliche Leitung des Bereiches Dermato-Mykologie an der Dermatologischen Klinik des Universitätsklinikums Charité der Humboldt-Universität Berlin übertragen worden. Der Vorstand der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft erblickt hierin eine wichtige Entwicklung, wird aus der Schaffung eines entsprechenden oberärztlichen Bereichs doch deutlich, welcher Stellenwert der Dermato-Mykologie an der so traditionsreichen Hautklinik der Charité auch heute zugemessen wird. Zugleich stellt es eine Hervorhebung der Leistung von Herrn Prof. Tietz dar, der ja in der Vergangenheit in vielerlei Hinsicht der Gesellschaft wesentlich zugearbeitet hat, erwähnt seien insbesondere die Mitgestaltung der Myk'2000 in Berlin und die federführende Tätigkeit bei den Ringversuchen in der Dermato-Mykologie.
- Der Beirat Infektions-Epidemiologie des Robert-Koch-Institutes Berlin hat auf seiner letzten Sitzung festgelegt, dass nunmehr eine Ausschreibung für ein Referenz-Zentrum für systemische Mykosen erfolgen soll. Die Schaffung zumindest eines Referenz-Zentrums für Pilzinfektionen war seit langer Zeit ein zentrales Anliegen des Vorstands der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft. Der Vertreterin der Gesellschaft in dem Gremium, Frau Prof. Dr. H. Bernhardt, Greifswald, sei vor diesem Hintergrund ausdrücklich für ihren persönlichen Einsatz in dieser Sache gedankt. Mit der Ausschreibung ist demnächst im Bundesanzeiger zu rechnen.
- Ein Experten-Komitee unter der Leitung des Vorsitzenden der DMykG hat im Jahr 2000 „Guidelines on Mycoses of the Skin and Bordering Mucosal Surfaces“ erarbeitet. Dieses Papier ist kürzlich von der neugegründeten Kommission für Qualitätsmanagement des European Dermatology Forum akzeptiert worden und an die Union Européenne des Médecins Spécialistes (UEMS) als Clearing House weitergeleitet worden. Nach der endgültigen Verabschiedung wird es sich voraussichtlich um die ersten medizinischen Leitlinien im europäischen Rahmen überhaupt handeln.
- Der Vorsitzende der DMykG hat am Montag, dem 22. Januar 2001 Gelegenheit gehabt, in einem ausführlichen Interview im Rahmen der neu gestalteten Sendereihe „Notizbuch“ von Bayern 2 zum Problem der Fußmykosen Stellung zu nehmen.
- Soeben ist, herausgegeben von Herrn Prof. Dr. Peter Fritsch, Innsbruck, das „White Book Dermatology and Venereology in Europe“ des European Dermatology Forum erschienen. Der Beitrag mit der Spezifikation 08 mit dem Titel: „Mycoses of the Skin and Mucosal Surfaces“, verfasst von PD Dr. M. Schaller und Prof. Dr. H.C. Korting, München, gibt einen aktuellen Überblick über die Situation bei Pilzkrankungen der Haut und hautnahen Schleimhäute, wobei auch der Aspekt der Strukturqualität angesprochen wird.
- In der Schriftenreihe „Optimierte Arzneimitteltherapie“, herausgegeben von Frau Prof. Dr. M. Schäfer-Korting, ist das Buch „Dermatomykosen. Grundlagen und Therapie“ von C. Seebacher, erschienen. 171 S., 17 Abb., 12 in Farbe, 12 Tabellen, Brosch. DM 39,90 öS 292.-, sFr 37.-, ISBN 3-540-65100-4
- Ein Expertengremium, zusammengesetzt aus Dr. A.H. Groll, Prof. Dr. J. Ritter und Dr. F.-M. Müller, hat „Richtlinien zur Prävention der Pneumocystis carinii-Pneumonie bei Kindern und Jugendlichen mit neoplastischen Erkrankungen“ erarbeitet, für den Arbeitskreis „Infektionen bei Neutropenie“ der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI), für die Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) und für die Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft (DMykG). Es handelt sich dabei um ein erstes Papier zur Qualitätssicherung bei System-Mykosen unter therapeutischen respektive prophylaktischen Gesichtspunkten.

## Ausschreibung von Preisen

### ● Ausschreibung des Dr. Manfred Plempel-Stipendiums

Die Stiftungssumme beträgt 30.000,00 DM und soll einem/r jungen Mykologen/in die Finanzierung eines Forschungs- oder Fortbildungsaufenthaltes in medizinischer Mykologie mit Schwerpunkt auf dem Gebiet der diagnostischen Grundlagenforschung oder diagnostischen Fortbildung für die Dauer eines Jahres an einer angesehenen Institution, insbesondere auch im Ausland, ermöglichen.

Der/die Bewerber/in soll zum Zeitpunkt der Bewerbung nicht älter als 40 Jahre sein. Zur Bewerbung um das Stipendium sind folgende Unterlagen einzureichen:

1. Detaillierte Beschreibung des Forschungsvorhabens und der Zielstellung
2. Lebenslauf
3. Bisheriger wissenschaftlicher Ausbildungsgang
4. Zustimmung der Institution, an der das Forschungsvorhaben bzw. die Fortbildung durchgeführt werden soll
5. Zwei Zeugnisse von Hochschullehrern über die Förderungswürdigkeit des Bewerbers
6. Publikationsliste

Über die Vergabe des Stipendiums entscheidet ein Kuratorium. Bewerbungen sind bis zum 01. Juli 2001 an den Vorsitzenden der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft, **Prof. Dr. H. C. Korting, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der LMU, Frauenlobstraße 9-11, 80337 München** zu richten.

### ● Nachwuchs-Förderpreis für Klinische Mykologie

Auch 2001 wird der Nachwuchs-Förderpreis für Klinische Mykologie, dankenswerter Weise von der Firma Novartis gestiftet, ausgeschrieben. Der Preis ist mit 5.000 DM dotiert. Der Vorstand der DMykG ruft alle interessierten Kolleginnen und Kollegen auf, die nicht älter als 35 Jahre sind, sich mit interessanten Arbeiten, die in den letzten 12 Monaten in einer wissenschaftlichen Zeitschrift erschienen, oder aber zur Publika-

tion angenommen worden sind, um diesen Preis zu bewerben. Die Arbeiten sind bis zum 31. Juli 2001 an **Herrn Prof. Dr. H.-J. Tietz, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Campus Charité Mitte, Universitätsklinikum Charité, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, Schumannstraße 20-21, 10117 Berlin**, zu senden.

## Aus der AWMF

Die Delegiertenkonferenz der AWMF wählte am 11. November 2000 Prof. Dr. med. Albrecht Encke, Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik Frankfurt/Main, mit großer Mehrheit zum neuen Präsidenten der AWMF. Prof. Encke tritt die Nachfolge von Prof. Dr. med. Hans Reinauer an, der nach drei Amtsperioden nicht mehr für das Präsidentenamt kandidierte, dem Präsidium der AWMF als "Past Präsident" jedoch noch weiter angehört.

Als stellvertretender Präsident neu gewählt wurde Prof. Dr. med. Wolfgang Gaebel, Direktor der Psychiatrischen Universitätsklinik und der Rheinischen Landesklinik für Psychiatrie in Düsseldorf. Prof. Gaebel ist Nachfolger von Prof. Dr. med. Wilhelm Hartel (Chirurgie). Dem Präsidium gehören weiterhin an: Prof. Dr. med. Peter von Wichert, Marburg (stellvertretender Präsident), Prof. Dr. med. Wolfgang Bock, Düsseldorf (Schatzmeister) sowie Prof. Dr. med. Jürgen von Troschke, Freiburg (Schriftführer).

## Hotelpreise für das Jahr 2001

Auch für das Jahr 2001 hat die AWMF mit einer ganzen Reihe von Hotels Sonderpreise für alle Einzelmitglieder der AWMF-Mitgliedsgesellschaft vereinbart. Die Sonderraten gelten für Einzelübernachtungen, Gruppenbuchungen im Zusammenhang mit Tagungen und Kongressen (im allgemeinen mehr als 10 -15 Zimmer) sollten direkt mit dem jeweiligen Hotel ausgehandelt werden, die Zimmerpreise können dann noch niedriger liegen als die AWMF-Sonderrate. Die komplette Liste der Sonderpreise aller Hotels ist entweder über die Internet-Homepage von **AWMF online** (dort zuerst die Rubrik „Service“ und dann „Hotel-Preise“ wählen!) oder direkt verfügbar unter der www-Adresse: <http://awmf.org/hotels.htm>

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

aus Anlass des 40jährigen Jubiläums der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft erinnern wir in Fortsetzung unserer Zusammenstellung im Mykologie Forum 4/2000 an die Ehrenmitglieder unserer Gesellschaft.

### **Ehrenvorsitzende:**

Prof. Dr. Dr. h.c. H. Götz, Essen  
Prof. Dr. A. M. Memmesheimer, Essen

### **Ehrenmitglieder:**

Prof. Dr. W. Adam, Tübingen  
Prof. Dr. N. Avron, Mexico City, Mexico  
Frau Prof. Dr. Renate Blaschke-Hellmessen, Dresden  
Prof. Sir A. Castellani, Estoril, Portugal  
Prof. Dr. H. Grimmer, Wiesbaden  
Prof. Dr. H.-J. Heite, Freiburg  
Prof. Dr. W. Jadassohn, Genf, Schweiz  
Dr. h.c. K. Herrmann, Reinbek  
Prof. Dr. W. Loeffler, Basel, Schweiz  
Frau Prof. Dr. Hanne-Lene Müller, Oberwil, Schweiz  
Prof. Dr. Dr. h. c. H. Rieth, Hamburg  
Prof. Dr. H. J. Scholer, Basel, Schweiz  
Prof. Dr. H.P.R. Seeliger, Würzburg  
Frau Prof. Dr. Alena Tomsikova, Pilsen,  
Tschechische Republik

Prof. Dr. R. Vanbreuseghem, Brüssel, Belgien  
Primarius Dr. Th. Wegmann, St. Gallen, Schweiz  
Frau Doz. Dr. Hannelore Ziegler-Böhme, Berlin  
Frau Dr. Erika Friedrich, Eggstedt  
Prof. Dr. H. D. Jung, Templin  
Prof. Dr. N. Scheklakow, Moskau  
Frau Dr. Christina Schönborn, Leipzig  
Prof. Dr. W. Sowinski, Poznan, Polen  
Frau Prof. Dr. Ibolya Török, Budapest, Ungarn  
Frau MUDr. Marta Valentova, Bratislava,  
Slowakische Republik  
Dr. habil. H. Ziegler, Berlin  
Prof. MUDr. J. Buchvald, Bratislava,  
Slowakische Republik  
MUDr. J. Kejda, Praha, Tschechische Republik  
Prof. Dr. J. Müller, Emmendingen  
Prof. Dr. W. Meinhof, Dormitz  
Prof. Dr. Dr. F. Staib, Berlin  
Frau Prof. Dr. Luise Krempf-Lamprecht, München  
Frau Prof. Dr. Ursula Kaben, Rostock  
Prof. Dr. G. Polemann, Krefeld  
Frau Prof. Dr. Hannelore Bernhardt, Greifswald  
Prof. Dr. O. Male, Wien  
Akademischer Direktor Dr. D. Hantschke,  
Essen-Kettwig

*Prof. Dr. med. C. Seebacher  
Schriftführer*

## Tagungskalender 2001

### **7th ECCM**

**16. - 19.6.2001**

Kongresshotel RODOS PALACE  
Rhodos, Griechenland  
Auskunft/Anmeldung:  
Dan Knassim Ltd.  
P.O. Box 1931  
Ramat Gan 62118 (Israel)  
Tel. +972 3 613 3340 Ext. 207  
Fax +972 3 613 3341  
e-mail: team1@congress.co.il

### **35. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft**

**13.9. - 15.9.2001 in Marburg**  
Leitung: Prof. Dr. med. Isaak Effendy  
Auskunft: Tel. 0 64 21 - 2 86 24 88,  
Fax 0 64 21 - 2 86 29 35  
Sekretariat: Frau Wagner  
e-mail: wagner2@post.med.uni-marburg.de

### **53. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie**

**30.9. - 4.10.2001 in Aachen**  
Eurogress, Monheimsallee  
Leitung: Prof. Dr. Rudolf Lütticken,  
Prof. Dr. Wolfgang Dott  
Auskunft:  
Tel. 02 41 - 80 8 97 91, Fax 02 41 - 8 09 95 13  
e-mail: wiss-info@dghm-2001.de  
Sekretariat: Frau Bollmann,  
Tel. 02 41 - 8 08 95 10, Fax 02 41 - 8 88 84 83

# Tagungs-Bericht

## 14. Tagung der Arbeitsgruppe "Mykologische Laboratoriumsdiagnostik" innerhalb der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft (DMyKG) am 17. November 2000 in Leipzig

### Pietro Nenoff & Monika Krüger

Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum Leipzig AöR, \*Institut für Bakteriologie und Mykologie der Universitätstierklinik Leipzig

Am 17. November 2000 fand in Leipzig die 14. Tagung der Arbeitsgruppe "Mykologische Laboratoriumsdiagnostik" der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft (DMyKG) statt. Damit war Leipzig nach 1999 erneut Tagungsort, und mit ca. 75 Teilnehmern aus dem gesamten Bundesgebiet war die Tagung sowie der anschließende Kurs zur Sprosspilzdifferenzierung ausgebucht.

### Candida dubliniensis – Klinische Relevanz und Wege zur Identifizierung

#### Kathrin Tintelnot, Robert-Koch-Institut Berlin

Der Sprosspilz *Candida* (*C.*) *dubliniensis* wurde erstmals 1995 als eine neue Art innerhalb der Gattung *Candida* beschrieben (Sullivan et al. 1995). Wesentliche mikromorphologische Charakteristika sind reichlich vorkommende Chlamydosporen. So ist es nicht verwunderlich, dass nur wenige Mykologen und Mikrobiologen diese Hefe im Labor identifizieren und die entsprechenden Isolate i. d. R. als der Spezies *C. albicans* zugehörig betrachtet werden.

Nicht zwingend, jedoch überwiegend wird *C. dubliniensis* von AIDS-Patienten mit oropharyngealer oder öso-

phagealer Candidose bzw. Besiedlung isoliert. Eine diskutierte höhere Adhärenz von *C. dubliniensis* im Vergleich zu *C. albicans* und eine in vitro induzierbare Fluconazol-Resistenz machen es lohnenswert, *C. dubliniensis* in klinischem Untersuchungsmaterial zu identifizieren.

Aufgrund der phänotypischen Ähnlichkeit zu *C. albicans* und fehlender Merkmale, die als Selektionskriterien in Mischkulturen geeignet wären, ist der Nachweis von *C. dubliniensis* bislang erschwert. So ist *C. dubliniensis* neben *C. albicans* die einzige Hefe, die sowohl Keimschläuche im Serum, als auch Chlamydosporen auf Reis-Agar ausbildet. D.h., diese beiden phänotypischen Merkmale lassen eine Identifizierung der neuen Art nicht zu.

Ein einfaches Merkmal zur Verdachtsdiagnose "*C. dubliniensis*" bei Chlamydosporen bildenden Hefen ist das temperaturabhängige Wachstum. So wächst *C. dubliniensis* nicht oder nur schwach bei 42 °C im Vergleich zu den meisten *C. albicans*-Isolaten.

Auch die biochemische Differenzierung ermöglicht keine sichere Identifizierung. Typisch für *C. dubliniensis* ist die fehlende Aktivität der intrazellulären  $\beta$ -D-Glucosidase, doch es gibt auch *C. albicans*-Stämme mit gleichem Verhalten. Als untauglich hat sich eine Unterscheidung nach der Ausprägung der Grünpigmentierung der Kolonien auf dem Chrom-Agar erwiesen (Tintelnot et al. 2000).

Staub und Morschhäuser haben beobachtet, dass alle 14 untersuchten subkultivierten *C. dubliniensis*-Isolate im Gegensatz zu *C. albicans*-Isolaten auf Guizotia abyssinica-Kreatinin-Agar (= Nigersaat-Agar, sog. Staub-Agar) nach 1 bis 3 Tagen Bebrütung bei 30 °C Chlamydosporen bilden und die Kolonien aufgrund des myzelialen Wachstums außerdem rauh sind im Vergleich zu den glatten *C. albicans*-Kolonien (Staub & Morschhäuser, 1999). Sollte sich diese Beobachtung auch bei einem größeren Kollektiv von Stämmen bestätigen, so wäre dieser Nährboden ein wesentlicher Schritt zur einfachen Identifizierung von *C. dubliniensis*.

Bislang ist eine eindeutige Identifizierung von *C. dubliniensis* nur mit molekularbiologischen und biophysikalischen Methoden (FT-IR Spektroskopie) möglich.

#### Literatur

Staub P & Morschhäuser J. Chlamyospore formation on Staub agar as a species specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses* 1999; 42: 521-524.

Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE & Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. Nov. Phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995 ; 141: 1507-1521.

Tintelnot K, Haase G, Seibold M, Bergmann F, Staemmler M, Franz T & Naumann D. Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1599-1608.

### Hefen in Futtermitteln

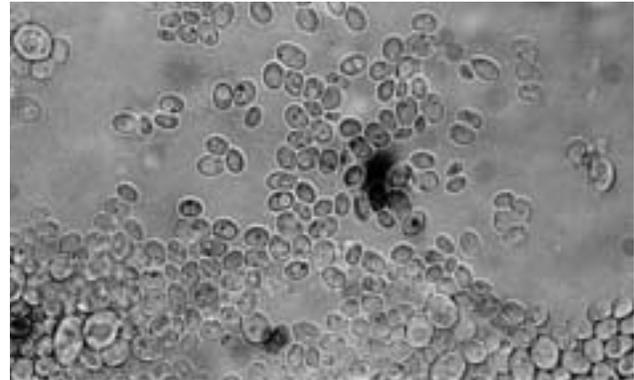
#### Evelin Ullrich & Monika Krüger

Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Bei Tieren wurden Hefen bisher im Zusammenhang mit sporadischen Aborten, Mastitiden oder als Nebenfund aus Exkrementen und dem Genitaltrakt erwähnt (van Uden et al. 1958, Bisping 1961, 1964, Mehnert et al. 1964, Kirkbride et al. 1972). Wada et al. (1994) berichteten über eine *C. glabrata* - Infektion des Vormagens eines Kalbes. Elad (1998) untersuchte Kotproben bzw. Magen-Darm-Inhalte von 500 Kälbern mit Diarrhoe bis zum Alter von 30 d und stellte fest, dass bei 86%, der an Diarrhoe erkrankten Kälber ab der 2. Lebenswoche *C. glabrata* im Kot nachzuweisen war.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam schon Gedek (1969). Sie wies bei Kälbern, die mit Milchaustauschern ernährt worden waren, vermehrt *C. glabrata* im Kot nach. Diese Hefe hat in der Veterinärmedizin, als auch in der Humanmedizin, stetig an Bedeutung gewonnen. Futtermittel (Biertreber & Silagen) sind häufig mit *C. glabrata* kontaminiert (Gedek, 1968). Auch in unseren Untersuchungen von 1997-1998 war eindeutig nachzuweisen, dass Biertreber die Quelle der *C. glabrata*-Infektion in einem Kälberbestand mit hoher Morbidität (Diarrhoe) und Mortalität war. Sie belegen auch, dass *C. glabrata* über Kolostralmilch in den Magen-Darmtrakt der Kälber gelangte und hier vor allem im Alter von 8-14 Lebenstagen zu schweren Erkrankungen führte. Die massive Ausscheidung der Hefen führte zur Verbreitung der Erreger im gesamten Tierbestand, einschließlich der Umwelt und trug wieder zu Neuinfektionen bei. Mittels Infrarotspektroskopie konnten 2 Subspezies in den Isolaten nachgewiesen

und ein Fortbestehen der Infektion im Bestand über die kontaminierte Umgebung der Kälber bewiesen werden.



*Candida glabrata* - bildet kein Pseudomycel. Die meist sehr kleinen und runden oder ovalen Sprosszellen liegen als kleine Haufen zusammen.

Dem gegenüber messen Kirkbride et al. (1972) *C. glabrata*, die aus dem Vormagen und dem Labmagen eines im 6. Trächtigkeitsmonat abortierten Kälberfetus isoliert wurden, keine pathogene Bedeutung bei. Sie sehen in ihr nur einen obligaten Saprophyten mit geringer Pathogenität. Obwohl über die Virulenzfaktoren von pseudohyphenbildenden Arten der Gattung *Candida* sehr viel bekannt ist, liegen nur wenig Untersuchungsergebnisse zu *C. glabrata* vor. Da der Nachweis von Hefepilzen in den Faeces von Mensch und Tier in ca. 66% von Gesunden (Cohen et al. 1969) gelingt, stellt die Einschätzung der Quantität und der Pathogenität sowie die Bewertung der Wirtsantwort ein Problem dar (Terbrack 2000).

Hinweise aus der Praxis und eigene Untersuchungen zeigen eine Zunahme der Nachweishäufigkeit von Hefespezies im Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen. Es stellt sich die Frage nach den Quellen dieser Erreger. So wurden 220 Futtermittelproben im Zeitraum vom 1.1.99 bis 30.8.00 auf den Gehalt an fakultativ-pathogenen Hefen untersucht.

Die Untersuchung erbrachte, dass Hefen häufig in Futtermitteln nachzuweisen sind. Fast alle Arten können als fakultativ-pathogen eingestuft werden. Von 14 Maissilagen waren 10 mit 107 KBE Hefen/g Material positiv, während die Untersuchung von Körnermais bei nur einer von 4 Proben Hefen ergab.

Koch et al. haben schon 1973 auf den Zusammenhang der geringen Haltbarkeit der Silage durch starke Selbsterwärmung (besonders Mais) hingewiesen und Untersuchungen über die Mikroflora der Maispflanzen im

Laufe der Vegetationsperiode bis zum Silieren durchgeführt, um Aussagen über die Ausgangsflora (produktspezifischer Keimbefall) treffen zu können. Sie fanden, dass ab Juli bzw. August (witterungsabhängig) beträchtliche Mengen Hefen auf den Maispflanzen zu finden waren.

Die Zahl der Hefen nimmt mit der Pflanzenentwicklung zu und erreicht Werte von 106–107 KBE/g Material, einen Bereich, der bei Heu und Stroh laut EFMO (1999) als erhöht angesehen wird. Interessant ist, dass der Keimgehalt an Blatt und Stengel höher ist als an den Kolben.

Bei Gärfutter (z. B. Silagen) sind die Nährstoffverluste durch Veratmung des Zuckervorrates, sowie durch Hydrolyse und Desaminierung von Eiweißen z. T. recht groß.

Erhebliche Nährstoffverluste können auch bei Nachgärungsvorgängen entstehen, die vor allem durch Hefen bedingt sind. Der Hefegehalt von Silage kann sich nach dreitägiger aerober Lagerung um zwei Zehnerpotenzen erhöhen, was beim Probentransport berücksichtigt werden sollte. Terbrack (2000) weist darauf hin, dass die Hefekonzentration in gelagerten Kotproben instabil ist und empfiehlt Lagerung der Proben bei +4°C.

Untersuchungen von Koch et al. (1973) ergaben, dass 10–20% der über die Vegetationsperiode isolierten Hefen kahmhautbildend waren. Auch hier wurden kahmhautbildende Hefen (*C. krusei*) neben *C. parapsilosis* häufig aus Maissilagen isoliert, wobei *C. krusei* nicht aus dem Körnermais nachzuweisen war. Hayford & Jakobsen (1999) fanden bei spontan fermentiertem Maisteig vor allem *Saccharomyces cerevisiae* und *C. krusei* und schlossen daraus, dass diese Hefen zur produktspezifischen Flora gehörten. Verschiedene Stämme von *C. krusei* sind, wie mit PCR gezeigt, bei der Fermentation von Maisteig beteiligt, es bestehen Unterschiede zwischen Stämmen aus klinischen Isolat und Nahrungsmitteln.

Bei den Getreidearten fällt auf, dass relativ wenig Hefen isoliert werden konnten. Die Negativbefunde lagen i. d. R. über 60%, wobei im Weizen am wenigsten nachzuweisen war.

Bei der Differenzierung der Hefearten zeigte sich, dass sowohl *C. albicans*, als auch *C. krusei*, *C. glabrata* und *C. tropicalis* häufiger vertreten sind.

Die Beurteilung der anderen Futtermittel ergab, dass Biertreber und Totale-Misch-Ration für Rinder am meisten mit Hefen belastet sind, wobei *C. krusei* dominierte. Die Dominanz von *C. krusei* war ebenfalls in Kraftfutterproben ohne genaue Zertifizierung zu beobachten.

Die Pelletierung des Kraftfutters, bei der eine Erhitzung der Einzelkomponenten erfolgt, führt nicht zur vollständigen Eliminierung der Hefen, obwohl sich eine Reduzierung des Keimgehaltes (alle Proben £103 KBE/g Material) andeutete.

Bei Ferkelfutter war ein niedriger Hefegehalt zu verzeichnen, wobei die nachgewiesenen Hefearten - *C. albicans* und *C. tropicalis* - über ein hohes Virulenzpotential verfügen.

Möglichkeiten der Infektion für Ferkel sind aber auch über das Sauenfutter gegeben, das bei unseren Untersuchungen höher belastet war als das Ferkelfutter.

Auch bei Futtermitteln wie Naßschnitzel und Futteruppe sowie den nicht näher beschriebenen Kraftfutterproben konnte *C. krusei* häufig isoliert werden. Damit war *C. krusei* die im Futter am häufigsten nachgewiesene Hefeart. In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, ob Unterschiede zwischen den Stämmen, die aus Futter und solchen, die aus klinischen Isolat stammen, bestehen und es Gemeinsamkeiten zwischen Hefestämmen aus Futtermitteln (Tier) und Nahrungsmitteln (Mensch) gibt.

### **Schlussfolgerungen:**

1. Futtermittel sind sehr häufig mit fakultativ pathogenen Hefen kontaminiert.
2. Rohfuttermittel waren am stärksten mit Hefen belastet.
3. Silagen, besonders Maissilagen weisen hohe bis höchste Hefekonzentrationen auf.
4. Aus Silagen unter Zusatz von konzentrierten Futtermitteln, wie Kohlehydraten, Fetten und Proteinen, hergestellte Futtermischungen (Totale-Misch-Ration) garantieren zwar für den Wiederkäuer eine gleichmäßig stabile Futterversorgung, bergen aber die Gefahr in sich, dass sich Hefen in Abhängigkeit von Umgebungstemperatur und Sauerstoff exzessiv vermehren und die Tiergesundheit negativ beeinflussen.

5. Kraftfuttermittel für Schweine und Rinder (Cerealien, Soja und Futtermischungen) sowie Kraftfutterpellets waren in unseren Untersuchungen zu 33% mit Hefen belastet.
6. Aus Futtermischungen und feuchtem Tierfutter (Biertreber) waren Hefen in 55% nachzuweisen.
7. *C. krusei* wurde in den Futtermitteln als häufigste Hefeart nachgewiesen.
8. Die Diagnostik von Hefen sollte nicht nur quantitative Verhältnisse charakterisieren. Für die Beurteilung der pathogenetischen Bedeutung von Hefen für landwirtschaftliche Nutztiere ist die Speziesdiagnostik eine unverzichtbare Voraussetzung.
9. Standardisierte Entnahme- und Transportbedingungen sowie ein Laborprotokoll zur Diagnostik sind die Voraussetzungen für vergleichbare Untersuchungen.

#### Literatur

1. Bisping W. Untersuchungen über die Ätiologie von Sprosspilzinfektionen bei Haustieren. *Zbl Vet Med* 1961; 10: 325–61.
2. Cohen R, Roth FJ, Delgado E, Ahearn DG & Kalser MH. Fungal flora of the normal human small and large intestine. *N Engl J Med* 1969; 280: 638–641.
3. EFMO (1999) Annual Meeting of the European Feed Microbiology Organization Leipzig 28. – 30.9.1999
4. Elad D, Brenner J, Markovics B, Yakobson B, Shlomovitz S & Basan J. Yeasts in the gastrointestinal tract of preweaned calves and possible involvement of *Candida glabrata* in neonatal calf diarrhea. *Mycopathologia* 1998; 141 : 7–14.
5. Gedek B. Hefen als Krankheitserreger bei Tieren. Gustav Fischer Verlag Jena, 1968.
6. Gedek B. The infestation of the digestive tract of the calf with yeast. *Zbl Bakteriologie* 1969; 211: 94–101.
7. Hayford AE & Jakobsen M. Characterization of *Candida krusei* from spontaneously fermented maize dough by profiles of assimilation, chromosome profile, polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *J Appl Microbiol* 1999; 87: 29–40.
8. Kirkbride CA, Bicknell EJ, Knudtson WU & Reed DE. Bovine abortion associated with *Torulopsis glabrata*. *J Am Vet Med Ass* 1972; 161: 390–91.
9. Koch, G., Morwarid, A. & Kirchgessner, M. (1973). Zum Einfluß der Mikroorganismen der Maispflanzen auf die Stabilität der Silagen. *Das Wirtschaftseigene Futter* 19 : 15 - 29
10. Mehnert B, Ernst K & Gedek B. Hefen als Mastitiserreger beim Rind. *Zbl Vet Med Reihe A*, 1964; 11: 96–121.
11. Terbrack IE. Vergleichende Untersuchungen zu Vorkommen und Biochemie von Hunden, Katzen und Menschen. Diss. Institut für Bakteriologie & Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig 2000.
12. Uden N van, Sousa CL, & Farinha M. On the intestinal yeast flora of horses, sheep, goats and swine. *J. gen. Microbiol* 1958; 19, 435 – 45.
13. Wada Y, Nakaoka Y, Matsui T & Ikeda T. Candidiasis caused by *Candida glabrata* in the forestomachs of a calf. *J Comp Path* 1994; 111: 315–19.

### Molekularbiologische Typisierung von *Candida albicans* - praktische Tips für das Genlabor

#### Anke Edelman, Institut für Biochemie des Universitätsklinikums Leipzig

Bei der Charakterisierung von Erregern im Zusammenhang mit Pilzinfektionen erfolgt die Identifizierung der Spezies in der traditionellen Mikrobiologie anhand von taxonomischen Markern. Molekulare Typisierungsverfahren sind ein geeignetes Hilfsmittel in der molekularen Mykologie, um auch einzelne Stämme voneinander zu unterscheiden und z.B. deren epidemiologische Verwandtschaften aufzuzeigen, nosokomiale Infektionen oder einen Wechsel von den Patienten besiedelnden Stämmen unter der Therapie mit Antimykotika nachzuweisen. Besonders für den fakultativ pathogenen und medizinisch sehr interessanten Erreger *C. albicans* findet man in der Literatur eine Reihe von Methoden und Ergebnisse molekularer Typisierungsverfahren. Dabei kommen Verfahren wie Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE), Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP), DNA-Fingerprinting-Verfahren und Hybridisierungen mit repetitiven DNA-Elementen zur Anwendung.

Bei der Hybridisierungsmethode unter Verwendung der mäßig repetitiven, *C. albicans*-spezifischen Ca3-Sequenz als DNA-Sonde handelt es sich um ein sehr sensitives, reproduzierbares und schnelles Verfahren. Jenes beinhaltet die Analyse der *C. albicans*-DNA mittels Southern Blot in Verbindung mit einer Computergestützten Auswertung der erhaltenen Bandenmuster. Die Verwandtschaftsbeziehungen der untersuchten Isolate können in einem Dendrogramm dargestellt werden.

Southern Blot Analyse als ein Verfahren, bei dem DNA-Fragmente durch Gelelektrophorese nach ihrer Größe getrennt und anschließend aus der Gelmatrix des Trenngels auf eine geeignete Trägermembran aus

Nitrocellulose oder Nylonmembran übertragen und dort immobilisiert werden. Beim Transfer bleibt das im Gel erhaltene Trennmuster der DNA-Fragmente erhalten. Um ein bestimmtes DNA-Fragment auf der Membran sichtbar zu machen, bedient man sich der Hybridisierung einer Sonde, d. h. der sequenzspezifischen Bindung einer markierten Nukleinsäure.

Die Methode des Ca<sup>3</sup>-DNA-Fingerprinting hat den im Folgenden kurz skizzierten Ablauf:

1. Isolation genomischer DNA aus der Hefe.
2. Herstellung von Hefe-Protoplasten.
3. Restriktionsverdau, d. h. Spaltung der hochmolekularen genomischen DNA wird mit einer Restriktionsendonuklease in definierte Fragmente. Für das Ca<sup>3</sup>-Fingerprinting wird die DNA mit EcoRI geschnitten.
4. Im Anschluß an den Restriktionsverdau erfolgt die Auftrennung der DNA-Fragmente in einer DNA-Agarosegel-Elektrophorese.
5. Transfer der DNA auf eine Nylonmembran mittels Vakuum unter Verwendung des VacuGene XL im Vacuum Blotting System.
6. Herstellen einer DNA-Sonde - DNA-Markierung mit Digoxigenin. Eine geeignete Methode zur nicht-radioaktiven Markierung von DNA ist das random primed labeling, wobei mit Digoxigenin markiertes Desoxyuridintriphosphat (DIG-dUTP) nach dem Zufallsprinzip in die neusynthetisierte DNA eingebaut wird.
7. Hybridisierung und Detektion. Die optimale Prä- und Hybridisierung erfolgt unter Drehen im Hybridisierungssofen. Die dafür notwendige Temperatur hängt von den Eigenschaften der eingesetzten Sonde ab. Bei Verwendung der homologen Ca<sup>3</sup>-Sonde für *C. albicans* DNA sind 68°C optimal (eine heterologe Sonde erfordert eine niedrigere Temperatur). Immunologischer Nachweis und Farbdetektion mit Anti-DIG-AP-Konjugat.

#### Literatur

1. Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning - A Laboratory Manual*, 2. ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press
2. Bertram, S. & Gassen, H.G. (1991) *Gentechnische Methoden*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

### Fourier-Transform Infrarot Spektroskopie (FT-IR) zur Identifizierung von Pilzen im mikrobiologischen Labor

**Arno Schmalreck – MBS (Mikrobiologischer BeratungService München)**

Obwohl der Infrarotbereich des elektromagnetischen Spektrums bereits 1800 durch William Herschel entdeckt wurde, ist die „Vibrationsspektroskopie“ (Infrarot- und Ramanspektroskopie) ein relativ junges Forschungswerkzeug, dessen Autonomie 1945 mit der Publikation von „Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules“ durch Gerhard Herzberg begann. 1949 wurde die erste Publikation zur Anwendung der IR-Spektroskopie in biologischen Systemen veröffentlicht (*Science* 110: 137-138). Aufgrund der Grenzen, die damals eingesetzten dispersiven IR-Geräte hatten, verschwand die IR-Spektroskopie im biologisch-medizinischen Bereich wieder von der Bildfläche. Als bedeutender Meilenstein für den verbreiteten Einsatz der Vibrationsspektroskopie war die Einführung neuer IR-Datenverarbeitungstechniken, in der Hauptsache die Bandenverkleinerung durch die in die Software eingebundene Fourier-Transformation, sowie neuere EDV-Techniken und die Entwicklung leistungsfähiger (Klein)Rechner in den 80-er Jahren. Erst Ende der 80-Jahre wurden, mit den nunmehr erheblich leistungsfähigeren FT-IR Geräten, neue Anwendungen in Biologie und Medizin erschlossen. D. Naumann (RKI, Berlin) beschrieb neue Wege für die Charakterisierung und Identifizierung von pathogenen Bakterien, basierend auf den Vibrationsspektren der Zellwände (D. Naumann et al., 1991, *The characterization of microorganisms by FT-IR spectroscopy*. In: W.H. Nelson (Hrsg.), *Modern Techniques for Rapid Microbiological Analysis*, pp43-96. VCH, New York). Servas et al. (*Bio-Tec* 3: 71-74; 1991) konnte zeigen, dass die Methode der FT-IR Spektroskopie auch für die Identifizierung und Differenzierung von Hefen prinzipiell sehr gut geeignet ist. Im Laufe der Jahre wurden spezielle Protokolle für die FT-IR von Sprosspilzen (Kümmerle et al., 1998, *Appl. Env. Microbiol.* 64: 2207-2214; Schmalreck et al., 1998, *mycoses* 41: 71-77; Schmalreck und Hotzel, 2000, *mycoses* 43 (Suppl. 1): 61-68) und Dermatophyten (Bastert et al., 1999, *mycoses* 42:525-528) vorgestellt. Dass unter standardisierten Bedingungen bereits nach kurzer Einwirkzeit von Antibiotika auf Mikroorganismen (ca. 2-3 Generationszeiten) mittels FT-IR eine aus-

sagefähige Differenzierung nach Wirktyp und Wirkmechanismus der untersuchten Hemmstoffe möglich ist, konnte von H. Labischinski gezeigt werden.

### Grundlagen

Die Vibrationsspektroskopie liefert in nicht-zerstörender Weise Informationen über die molekulare Zusammensetzung, die molekularen Strukturen sowie von molekularen Interaktionen in Zellen. Keine Marker, Farbstoffe oder andere kontrastverstärkende Mittel werden für die Aufnahme der IR-Spektren benötigt. FT-IR und IR-Raman Spektroskopie sind komplementäre Techniken. Verschiedene Auswahlkriterien gelten für die IR-Absorption und Raman-Streuung eines Moleküls. Zusammen ergeben die beiden Techniken einen kompletten und im höchsten Maße spezifischen „Fingerabdruck“ von (intakten) Zellen.

Der infrarote Strahlungsbereich reicht von 1 µm bis 1 mm. In der Regel wird die Wellenzahl ( $\nu$ ) als reziproker Wert der Wellenlänge als physikalische Messeinheit in der FT-IR Spektroskopie angewandt.

Der Infrarotbereich wird in einen Nah- ( $\nu = 12.300 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), Mittel- ( $\nu = 4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$ ) und Fernbereich ( $\nu = 200 - 10 \text{ cm}^{-1}$ ) eingeteilt. Für alle Untersuchungen wurde nur der mittlere IR-Bereich verwendet. Die FT-IR Spektroskopie beinhaltet die Beobachtung von Molekülvibrationen die nach Anregung durch einen Infrarotstrahl entstehen. Die Moleküle sind in der Lage die Energie bestimmter Lichtquanten zu absorbieren, worauf sie in eine Schüttel- oder Rotationsbewegung übergehen. Die FT-IR Spektroskopie verwendet nur Vibrationen die eine Änderung des Dipolmoments eines Moleküls hervorrufen.

FT-IR Spektren von intakten Zellen ergeben somit höchst spezifische, fingerabdruckartige Signaturen die verwendet werden um verschiedene Genera, Spezies, Subspezies oder Isolate auf Stammebene zu differenzieren und zu klassifizieren. Die Aufgabe Spezies- oder Stammspezifische Merkmale aus dem komplexen IR-Spektrum zu extrahieren, ist nur durch Anwendung von Korrelations- oder multivariaten, statistischen Verfahren, in Verbindung mit Clusteranalysen oder Neuronalen Netzen, möglich. Hierbei werden im Prinzip Referenzspektrum-Bibliotheken von gut charakterisierten Stämmen angelegt. Das FT-IR Spektrum eines nicht-bekanntes Stammes wird unter gleichen Bedingungen wie die Referenzspektren aufgenommen und

dann mit den Spektren der Referenzbibliothek verglichen. In der Literatur gibt es inzwischen ausgezeichnete Beschreibungen von Zellkomponenten/-Struktur-Spektrum Korrelationen für die meisten biologischen Makromoleküle und bedeutenden biologischen Bildungsgruppen (Nukleinsäuren, Proteine, Kohlenhydrate, Fettsäuren, Lipide, Pigmente). Eine detaillierte Übersicht existiert von Naumann ( FT-IR and FT-Raman Spectroscopy in Biomedical Research. In: Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials, S.323-377.H-U. Gremlich und B. Yan (Hrsg.), Marcel Dekker Inc., N.Y.-Basel).



**Candida albicans** - war im gesamten Jahr 1989 mit 61,75% die am häufigsten isolierte Candida-Art.

### Anwendung der FT-IR Spektroskopie zur Identifizierung von Pilzen

Die nachfolgend aufgeführten Spezies konnten in eigenen Untersuchungen eindeutig charakterisiert und voneinander abgegrenzt werden:

- *Candida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Candida tropicalis*
- *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis*)
- *Candida parapsilosis*,
- *C. guilliermondii*, *C.*
- *C. CC lusitaniae*, *C.*
- *C. kefyr*,
- *C. famata*,
- *C. inconspicua*,
- *C. norvegensis*
- *C. lipolytica*,
- *C. pelliculosa*
- *C. zeylanoides*
- *Hansenula anomala*
- *Exophiala* spp.
- *Rhodotorula mucilaginosa*

- Trichosporon beigelii
- Pichia spp.
- Saccharomyces cerevisiae
- Zygosaccharomyces spp.
- Prototheca spp.
- Cryptococcus neoformans
- Malassezia spp.
- Trichophyton spp.
- Microsporum canis

Neben der Identifizierung und Differenzierung von Bakterien konnte auch die FT-IR Charakterisierung von Sprosspilzen und Dermatophyten für das mikrobiologische Routinelabor etabliert werden. Erste Versuche mit Schimmelpilzen zeigten ebenfalls ausgezeichnete Ergebnisse. Hier ist jedoch die Probenstandardisierung für die Spektroskopie wesentlich aufwendiger als für Bakterien und Hefen, kann jedoch analog dem für Dermatophyten praktizierten Verfahren angewandt werden.

Die FT-IR Spektroskopie erwies sich als ausgezeichnetes und vielseitiges Identifizierungs- und Differenzierungswerkzeug für die Routine, die den konventionellen Verfahren deutlich überlegen ist und sowohl für Bakterien und Pilze einsetzbar ist.

- Die FT-IR Spektroskopie ist schnell (ca. 2 min für eine Messung, 2 h für 15 Proben, ohne Vorkultur)
- Vollautomatisches Spektrenaufnahme von 15 Proben
- Niedrige Kosten

### Differenzierung der wichtigsten fakultativ-pathogenen und apathogenen Sprosspilze

**Evelin Ullrich & Pietro Nenoff**

Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig & Hautklinik des Universitätsklinikums Leipzig AöR

Im Jahr 1998 wurden an der Universitätshautklinik Leipzig insgesamt 1739 Pilze (Dermatophyten, Sprosspilze und Schimmelpilze) isoliert. Der Anteil der Sprosspilzisolat lag bei 68,1 % (1222), d. h., die Sprosspilze (= Hefen) spielen zahlenmäßig eine größere Rolle als z. B. Dermatophyten, deren Anteil nur 10,3 % (184)

betrug. Auch wenn Sprosspilze nicht unbedingt krankheitsauslösend sind, sondern teilweise als Kontamination oder sekundäre Besiedler vorkommen, ist ihre Differenzierung wesentlicher Bestandteil der mykologischen Diagnostik im Pilzlabor einer Hautklinik, ebenso wie in einer dermatologischen Praxis.

### Verteilung der Sprosspilze 1998 (n=1222)

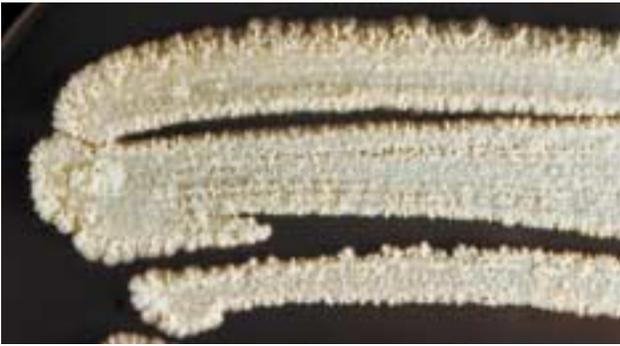
Candida-Arten	77,5%
Malassezia furfur	7,2%
Rhodotorula species	7,0%
Trichosporon cutaneum	2,6%
Cryptococcus species	1,9%
Debaryomyces species	1,8%
Aureobasidium pullulans	1,1%
Saccharomyces cerevisiae	0,6%
Geotrichum candidum	0,4%
Trichosporon (Geotrichum) capitatum synonyme Bezeichnung: Blastoschizomyces capitatus	0,1%

Der Anteil der Candida-Arten an den 1998 an der Universitätshautklinik Leipzig isolierten 1222 Sprosspilzen betrug 77,5%, mit folgender Verteilung:

Candida albicans	61,8%
Candida parapsilosis	13,3%
Candida guilliermondii	7,5%
Candida glabrata	7,2%
Candida tropicalis	3,6%
Candida krusei	3,5%
Candida species	1,7%
Candida kefyr	0,9%
Candida lipolytica	0,5%
Candida famata	0,2%



**Onychomykose durch Candida parapsilosis**



**Candida parapsilosis** – erkennbar sind makroskopisch rauhe, faltige Kolonien. Es gibt darüber hinaus auch Stämme mit glatter Oberfläche.

Alle aufgezählten Hefepilzarten und -Gattungen waren Gegenstand des Differenzierungskurses auf der Arbeitstagung. Daneben wurden einige weitere, seltener vorkommende Arten mikroskopisch identifiziert:

- *Candida lusitanae* ist Erreger systemischer Mykosen in der inneren Medizin (Hämatologie/Onkologie) bei immunsupprimierten Patienten. Daneben kann man sie auch als sekundären Besiedler oder Kontamination aus Hautmaterialien anzüchten. Von Bedeutung ist, dass sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* (?) eine Resistenz gegenüber Amphotericin B bestehen kann, so dass eine Empfindlichkeitstestung in jedem Fall angezeigt ist.
- *Candida lambica* (*Pichia fermentans*)
- *Candida norvegensis*
- *Candida pelliculosa*
- *Candida valida* (*Pichia membranaefaciens*)
- *Candida rugosa*
- *Candida* (*Torulopsis*) *pintolopesii* var. *slooffii* spielt in der Veterinärmedizin eine Rolle und wurde von verschiedenen Tierarten isoliert. Darunter sind neben Maus noch Schwein, Pferd, Ratte, Meerschweinchen, Hamster, Mäwen und Pavian.
- *Trichosporon inkin* = selten isolierte *Trichosporon*-Art. Hier handelte es sich um einen Stamm aus Hautschuppen einer Läsion eines 16-jährigen Jungen mit Verdacht auf Mykose der Leistenregion (Rötung, Schuppung, Erosionen). Klinisch als Ursache der weißen Piedra der Haare im Genital- oder Achselhöhlenbereich beschrieben, außerdem selten als Erreger von systemischen, disseminierten Mykosen bei immunsupprimierten Patienten. Zerebriforme, stark gefaltete, raue Oberfläche der Kolonien, ähnlich der Struktur der anderen *Trichosporon*-Arten. Sprosszellen und laterale Konidien fehlen. Arthrokonidien oder -sporen als entscheidendes Charakteristikum für *Trichosporon* sind vorhanden und erscheinen lang und zylindrisch. Sarcinen sind gelegentlich vorhanden auf zuckerreichen Medien. Daneben fallen vor allem Hyphen mit sog. Appressorien (engl. *appressoria*) auf, d. h. die Hyphen sind geweihartig gefaltet und gebogen, ein Eindruck, der bei anderen *Trichosporon*-Spezies fehlt.
- Pilze der Gattung *Debaryomyces* vermehren sich sexuell. Die imperfekte Form entspricht *Candida famata*. Sie sind humanmedizinisch von geringer Bedeutung. Gelegentlich isoliert man die Hefe von Nahrungsmitteln.
- *Cryptococcus neoformans* (*Filobasidiella neoformans*)
- *Rhodotorula rubra* oder *glutinis*
- *Rhodotorula mucilaginosa*
- *Sporobolomyces salmonicolor*: Das Isolat stammt aus der Routinediagnostik des Medizinisch-mikrobiologischen Labors von Dr. Jürgen Herrmann, Mölbis bei Leipzig. Der Sprosspilz ist eher nicht pathogen für Mensch und Tier. Isolierung von Haut oder Fell ist deshalb in der Regel als sekundäre Besiedlung pathologisch veränderten Gewebes oder im Sinne einer Kontamination zu verstehen. Typisch sind rötlich bis lachsrote Kolonien mit fester Konsistenz und unregelmäßigem Oberflächenprofil. An der Peripherie der Kolonien entsteht gelegentlich ein submers wachsendes Luftmyzel. Aufgrund der eindrucksvollen Fähigkeit der Hefe, Schleudersporen auszusenden, sind nach wenigen Tagen Kultivierung auf Sabouraud-Glukose-Agar viele kleine Kolonien in der Umgebung des Impfstriches zu sehen, manchmal sogar als spiegelbildlich zur Kulturform im Petrischalendeckel entstandenes Bild! Die Sprosszellen sind langgestreckt, an zwei Polen verjüngt, bisweilen in der Mitte eingeschnürt. Pseudomyzel wird gebildet. Von der Myzelspitze werden nieren- oder sichelförmige Ballistosporen (Schleudersporen) abgeschleudert!
- *Kloeckera apiculata* ist in der Regel nur als Kontamination anzusehen. Gelegentlich wird er aus Vogelkot isoliert. *Kloeckera apiculata* wächst nicht

bei 37°C. Auf Reis-Agar sind die ovalen, an beiden Polen spitz zulaufenden Sprosszellen typisch. Sprossung an beiden Polen ist möglich. Daraus resultiert die charakteristische, nicht zu verkennende Form der Zellen, die fast an eine Spindel erinnert.

- Aureobasidium pullulans ist ein flach und schnell wachsender Hefepilz mit beige, cremefarbenen Kolonien (manchmal rosa tingiert), kann jedoch auch braun-schwarzes Pigment auf der Oberseite ausbilden. Es handelt sich immer um saprophytäres Wachstum, z. B. auf feuchtem Holz, selten Isolation von Haut, Nägeln, dann immer als Kontamination anzusehen. Mikroskopisch sind birnenförmige Konidien direkt an den feinen Hyphen zu sehen. Älteres Myzel formt zahlreiche dickwandige, dunkel pigmentierte, fast rechteckige Zellen, die als „Keimschläuche“ imponieren und mehrere Konidien gleichzeitig entlassen.
- Malassezia pachydermatis
- Sporothrix schenckii ist eigentlich kein Sprosspilz im klassischen Sinne, sondern ein dimorpher Pilz. Es handelt sich um einen Erreger von Verletzungsmykosen (sporotrichoid, d. h. lymphogen fortgeleitet) vor allem an den unteren Extremitäten (z. B. beim Barfußlaufen). Histologisch imponiert eine granulomatöse Entzündung mit zigarrenförmigen Sprosszellen und sogenannten asteroid bodies. Sporothrix schenckii ist durch zähe, weiß-gelbliche, evtl. später schwärzliche Kolonien mit wenig Luftmyzel, aber mehr submers wachsendem Myzel gekennzeichnet. Entweder sind längliche Hefezellen oder Einzelkonidien, auf kleinen Stielchen oder an verklebten, gebündelten Konidiophoren zu finden. Oder es kommt zur Ausbildung von sog. Margeriten-Formen, d. h. blütenartig angeordnete Konidien auf Hyphenstielen (Konidiophoren).

#### Literatur

1. Campbell CK, Johnson EM, Philpot CM & Warnock DW. Identification of pathogenic fungi. 1996, Public Health Laboratory Service London.
2. De Hoog GS & Guarro J. Atlas of clinical fungi. 1995, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn and Delft, The Netherlands & Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain.
3. Gedek B. Hefen als Krankheitserreger bei Tieren. In: Bieling R, Kathe J, Köhler W, Mayr A (Hrsg.) Infektionskrankheiten und ihre Erreger. Eine Sammlung von Monographien. Band 7, 1968, Gustav Fischer Verlag Jena
4. Kurtzman CP & Fell JW. The yeasts. A taxonomic study. 4th Edition, 1998, Elsevier, Amsterdam Lausanne New York Oxford Shannon Singapore Tokyo
5. Nenoff P, Mügge C & Hausteil U-F. Differenzierung der wichtigsten fakultativ-pathogenen und apathogenen Sprosspilze. Teil I: Candida. Derm Praktische Dermatologie, 2000; 6: im Druck
6. Nenoff P, Mügge C & Hausteil U-F. Differenzierung der wichtigsten fakultativ-pathogenen und apathogenen Sprosspilze. Teil II: Trichosporon, Saccharomyces, Debaryomyces, Cryptococcus, Rhodotorula, Geotrichum, Klöckera, Aureobasidium, Malassezia und Sporothrix. Derm Praktische Dermatologie 2000; 6: im Druck.
7. Peltoche-Llacsahuanga H, Jenster A, Lütticken R & Haase G. Novel microtiter plate format for testing germ tube formation and proposal of a cost-effective scheme for yeast identification in a clinical laboratory. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 35: 197-204.
8. Peltoche-Llacsahuanga H, Schnitzler N, Lütticken R & Haase G. Rapid identification of Candida glabrata by using a dipstick to detect trehalase-generated glucose. J Clin Microbiol 1999; 37: 202-205.
9. Seebacher C & Blaschke-Hellmessen R. Mykosen. 1. Auflage, 1990, Jena, Gustav Fischer-Verlag.
10. Seeliger HRP & Heymer T. Diagnostik pathogener Pilze des Menschen und seiner Umwelt. Lehrbuch und Atlas. 1981, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York
11. St. Germain BS & Summerbell R. Identifying filamentous fungi. A clinical Handbook. 1996, Star Publishing Company, Belmont, California, USA
12. Tietz HJ & Ulbricht H. Humanpathogene Pilze der Haut und Schleimhaut. Entnahme, Anzucht und Differenzierung. 1. Auflage, 1999, Hannover, Schlütersche Verlag und Druckerei GmbH.
13. Wilmer A, Hipler U-C, Neumann E & Wollina U. Wertigkeit des "CHROMagar Candida" zur Differenzierung wichtiger humanpathogener Candidaspezies. Zeitschrift für Dermatologie 1997; 83: 19-24.

#### Korrespondenzadresse:

Priv.-Doz. Dr. med. Pietro Nenoff, Mykologisches Labor,  
 Hautklinik, Universitätsklinikum Leipzig AöR,  
 Stephanstraße 11, D-04103 Leipzig,  
 Tel.: 03 41 / 9 71 87 51; Fax: 03 41 / 9 71 87 59  
 E-Mail: nenp@server3.medizin.uni-leipzig.de

#### Erratum:

Im Mykologie-Forum Nr. 4/2000 sind uns zwei Fehler unterlaufen, die wir zu entschuldigen bitten.

Seite 11 – Adresse:

<http://fungusweb.utmb.edu/mycology>  
 (nicht ut-mb)

Seite 12 –

**Die Tagungen der DMyK e.V.**

**1. 15. Januar 1961 – Essen – H. Götz**  
 (nicht 5. 1. 1961)

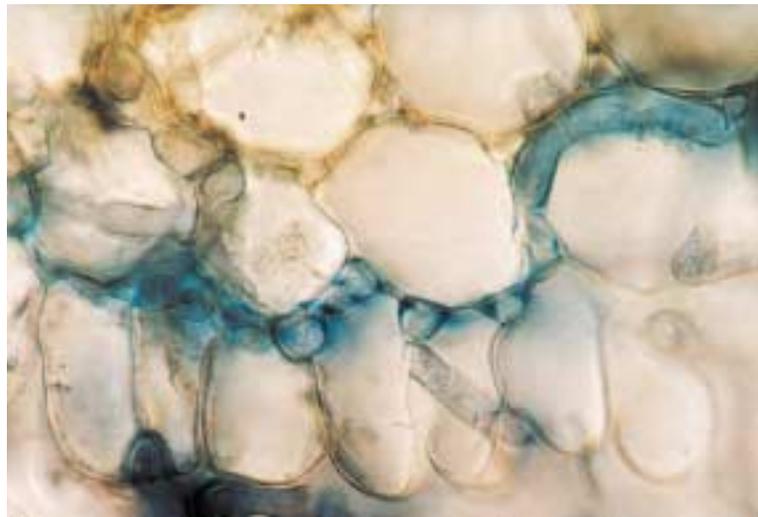
## Pilze als wertvolles Reservoir für neue Arzneistoffe

Während sonst eher die durch Pilze verursachten Probleme im Vordergrund stehen, ging es beim Symposium „Arzneistoffe aus Pilzen“ unter Vorsitz von Prof. T. Anke und Prof. H.C. Korting auf der 34. Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft in Berlin um die Nutzenanwendung von Pilzen.

Den gigantischen Substanzbibliotheken und der modernen kombinatorischen Chemie zum Trotz sind natürliche Organismen und die ihnen mitgegebenen Stoffwechselfähigkeiten weiterhin eine wertvolle Quelle für neue Medikamente. In Pilzen nach pharmakologisch interessanten Wirkstoffen zu suchen, lohnt sich nicht nur wegen der vermutlich 1,5 Mio. Arten, von denen bislang nicht einmal 150.000 beschrieben sind, sondern auch, weil Pilze eine enorme Biodiversität besitzen. Pilze sind mit unzähligen Habitaten und Organismen vergesellschaftet, was die Vielgestaltigkeit der von ihnen erzeugten Strukturen erklärt. Tatsächlich verdankt die Medizin den Pilzen einige der bedeutendsten Wirkstoffklassen. Wie andere Sekundärstoffbildner verfügen Pilze über die üblichen Stoffwechselwege und können u.a. Glykoside, Aromaten, Alkaloide, Peptide, Polypeptide und Sesquiterpene synthetisieren. Die Bevorzugung einzelner Stoffwechselwege unterscheidet die Endprodukte des Pilz-Stoffwechsels von denen bakterieller Sekundärmetabolitproduzenten, wie z.B. der Gattung Streptomyces. So bilden Basidomyzeten bevorzugt Terpene, Ascomyzeten dagegen bevorzugt Polypeptide, wie Prof. T. Anke vom Fachbereich Biologie der Universität Kaiserslautern sagte.

Zu den pharmazeutisch wichtigsten Pilzmetaboliten zählen u.a.:

- die Ergotalkaloide aus *Claviceps purpurea*
- die  $\beta$ -Laktam-Antibiotika
- das Terpen Fusidinsäure
- Griseofulvin, das sogar bei der Gründungsver-sammlung der DMyG im Mittelpunkt stand.
- die beiden Immunsuppressiva Mycophenolsäure (aus *Penicillium*) und Ciclosporin A (aus *Tolypocladium inflatum*)
- die aus *Aspergillus terreus* stammenden HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Compactin und Mevinolin.



Querschnitt durch eine junge Gerstenwurzel.

Angeschnitten sind die Wurzelrindenzellen (weiß-hyalin). Der Pilz „*Drechslera*“ sp. wächst in den Interzellular-Räumen der Wurzelrinde und ist angefärbt.

## Endophytische Pilze in Pflanzen besonders ergiebig

Universitäre Forschungsgruppen, denen ein Screening im Industriemaßstab nicht möglich ist, müssen in Nischen suchen. So sind Prof. Hans-Jürgen Aust vom Institut für Mikrobiologie der TU Braunschweig und Mitarbeiter beim screening verschiedener Pilz-Standorte auf eine neue Gruppe gestoßen, die endophytischen Pilze. Diese Pilze, die in Pflanzen leben, ohne sie zu schädigen, sind interessant, weil sie häufiger aktive Metabolite bilden als Bodenpilze. Endophyten zählen zu den Ascomyzeten und produzieren u.a. Steroide, Terpenoide, Chinone, Phenole, Benzopyranone. Sie können in Flüssigkultur oder auf Penicillinplatten kultiviert werden. Das Foto zeigt den Querschnitt durch Gerstenwurzel-Rindenzellen. Der hier blau angefärbte Pilz *Drechslera* sp. wächst im Interzellularraum der Wurzelrinde (Aufnahme: U. Dammann, Braunschweig).

## Erfolgreiche Suche verlangt viel Geduld und etwas Glück

Die weltweit eingesammelten Pilze durchlaufen einen mehrstufigen Auswahlprozess. Im taxonomischen screening sibt Aust alle Pilze aus, deren Metaboliten schon bekannt sind. Nur unbekannt Stämme werden weiter verfolgt. Die Kulturfiltrate der ausgewählten Pilze werden dann einem biologischen screening mit Bakterien, Pilzen, Pflanzen und Algen unterworfen. Das anschließende chemische screening dient der Strukturaufklärung der Metaboliten. Danach erfolgt die Prüfung gegen bestimmte targets. Wirkt eine Substanz am target, versuchen die Chemiker die Struktur zu optimieren. Für den Weg bis zum fertigen Präparat braucht man nicht nur langen Atem sondern auch eine Portion Glück, so Aust.

## Aus Pilzen und gegen Pilze

Die Gruppe um Anke hat inzwischen eine Basis von 8800 Pilzstämmen aus den verschiedensten Klassen, bevorzugt Basidiomyceten, die hauptsächlich in Myzelkulturen herangezogen werden, um vom Wetter unabhängig zu sein. Die Kandidaten werden auf Effekte auf die Proteinbiosynthese, Chitin- und Glukan-Synthese geprüft. Hinzu gekommen sind neuerdings Reporter-gen-Assays, z.B. der IL-6-abhängigen Signaltransduktion. Beispiel einer erfolgreichen Suche nach Antimykotika sind Strobilurine aus Strobilurus, deren Wirkung auf einer Hemmung der Atmung beruht. Das Fungizid wird heute - chemisch abgewandelt - vollsynthetisch hergestellt, ist aber nur im Pflanzenschutz einsetzbar, da Säuger ein Enzym bilden, das den Wirkstoff deaktiviert.

## Proteinbio- und Glukansynthesehemmer aus Pilzen

Antifungische Metabolite, die laut Anke in Zukunft ein Marktprodukt werden könnten, sind z.B. Diterpene aus der Klasse der Sordarine. Sordarine unterbrechen selektiv den Elongationszyklus der Proteinbiosynthese und sind deshalb sehr fungizid. So hat Xylarin aus dem terrestrischen Pilz Xylaria eine breite und hohe Aktivität gegen Hefen, einschließlich Candida glabrata. Ein weiteres selektives Angriffsziel ist das für die Zellwand wichtige Glukan. Auf der Suche nach Hemmstoffen der Glukan-Synthese ist man bei Glykolipiden fündig geworden. Im Unterschied zu Candinen sind die Echino- und Pneumocandine auch in-vivo gegen Can-

didia und Aspergillus wirksam. Mit einer MHK im nanomolaren Bereich könnten daraus aussichtsreiche Oral-Antimykotika werden.

## Galiellalactone hemmen die APR-Proteinsynthese

Ferner sucht man nach Hemmstoffen der Akute-Phase-Reaktion. Hält diese länger an, so kommt es zu unerwünschten Folgeerscheinungen, wie z.B. Kachexie, Anämie und Schock, für die in der Leber gebildete APR-Proteine verantwortlich sind. Da Interleukin-6 hieran beteiligt ist, basiert das Testsystem auf IL-6. Beim screening von 3000 Extrakten ist man bei Galiella rufa, ein auf Holz wachsender Ascomyzet, fündig geworden bei. Galiellalactone hemmen in nanomolarer Konzentration spezifisch die APR-Protein-Bildung und sind schon in klinischer Prüfung.

## Breitband-UV-Filter aus Hefepilz Malassezia

Azelainsäure ist einer der wenigen aus Hefen stammenden Arzneistoffe und dient heute als Akne-Antibiotikum gegen Corynebacterium acnes. Anders als zunächst angenommen, ist dieser Metabolit von Malassezia furfur nicht die Ursache für die depigmentierten Hautareale bei Patienten mit Pityriasis versicolor, in denen interessanterweise keine erhöhte UV-Empfindlichkeit besteht. PD Dr. Peter Mayser vom Zentrum für Dermatologie und Andrologie der Universität Giessen



PD Dr. Peter Mayser vom Zentrum für Dermatologie und Andrologie der Universität Giessen

# Tagungs- Bericht

und Mitarbeitern ist aufgefallen, dass *M. furfur* in Anwesenheit von Tryptophan als einziger Stickstoffquelle bräunliche Pigmente und Fluorochrome bildet und zugleich weniger UV-empfindlich wird. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von W. Steglich (München) konnten einige der Substanzen chemisch und funktionell charakterisiert werden. Neben verschiedenen Rezeptorantagonisten und Spiroverbindungen mit antibiotischer Wirkung wurde darin ein Indolderivat gefunden, das eine hohe Absorption im UVA-, UVB- und UVC-Bereich aufweist. Die SG64 getaufte, lipophile Verbindung eignet sich als Breitband-UV-Filter, da sie gut in die Haut penetriert und wasserfest ist. Ihr Einsatz beim Menschen war bereits von einer japanischen Gruppe patentiert. Nach Ansicht von Mayser könnte die UV-absorbierende Wirkung dieses Sekundärmetaboliten von *M. furfur* die Depigmentierungsphänomene bei Pityriasis versicolor erklären.

## Hansenula polymorpha-gestützte Produktion von Hepatitis B-Vakzine

Auf ganz andere Weise wird die den Pilzen innewohnende Kreativität bei der gentechnischen Produktion genutzt, wie Prof. G. Gelissen von der Rhein Biotech GmbH in Düsseldorf berichtete. Ein mikrobielles Produktionssystem muss ökonomisch sein und die Zielsubstanz für pharmazeutische Zwecke möglichst „authentisch“ und pathogenfrei produzieren.

*Hansenula polymorpha* eignet sich hierfür besonders gut, weil sie robust ist, rasch große Zellmassen bildet und auf Methanol als Kohlenstoff-Quelle wachsen kann. Diese Hefe besitzt Steuerelemente, u.a. in Gestalt der Methanol-Stoffwechsel-Promotoren FMD

und MOX, die aktiviert werden, sobald Methanol „verfüttert“ wird, und zur vermehrten Bildung von Enzymen des Methanol-Stoffwechsels führen. Wenn ein Organismus heterologe Proteine produzieren soll, ist ein solcher Promotor ideal, weil man daran einfach die kodierende Gensequenz der Wahl ankoppeln und so die Produktivität über die Kohlenstoff-Quelle steigern kann. Auch der Gen-Dosis-Effekt trägt zur Ergiebigkeit bei, weil es gelungen ist, bis zu 120 Genkopien in diese Hefe hineinzubringen. Laut Gelissen sind die ins Genom integrierten Fremdgen-Kopien sogar stabil.

Beispiel eines erfolgreichen Produkts dieses Expressionssystem ist die Hepatitis B-Vakzine, die auf dem s-Antigen basiert, dem kleinsten der drei Proteine in der Lipoprotein-Hülle von HBV. Hierzu wurde das Gen des s-Antigens zwischen MOX/FMD-Promotor und Terminator fusioniert und das Konstrukt via Plasmid in die Hefe eingeschleust. In diesem Sonderfall produziert die Hefe nicht nur das Protein, sondern inseriert es in eigene Membranbestandteile, so dass ein analoger 22 nm-Partikel resultiert, wie er im Serum HBV-Infizierter vorliegt.

Andere erfolgreiche Produkte des *Hansenula*-Expressionssystem sind das Blutegelenzym Hirudin und das Phytinsäure-spaltende Enzym Phytase.

*Klaus A. Schmidt, Köln*

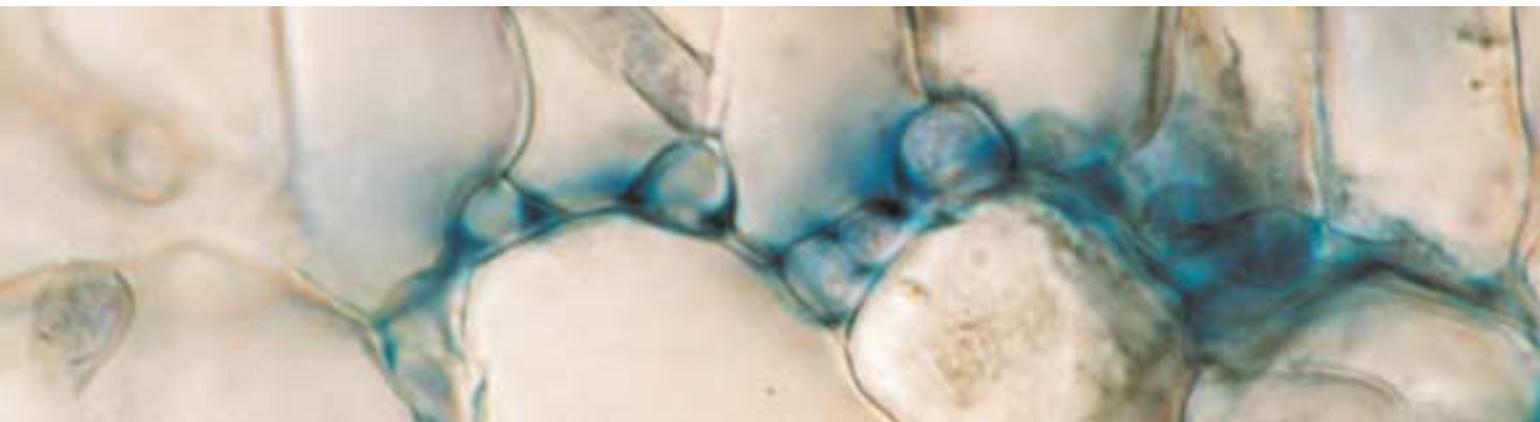
Abkürzungen:

APR = Akute-Phase-Reaktion

HMG CoA = 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-Coenzym A

IL-6 = Interleukin-6

MHK = minimale Hemmkonzentration



## **Interview mit Herrn Professor Dr. med. S. Nolting, Münster**

### **Immer noch große Begeisterung für die Mykologie**

Nicht weit von Osnabrück, wo Professor Dr. med. Siegfried Nolting am 20.10.1935 geboren wurde, fand er seine beruflichen Wurzeln. Die Universitäts-Hautklinik in Münster war über mehr als 36 Jahre Ort seines beruflichen Schaffens. Und dies ist bis jetzt beachtlich. An Ruhestand denkt er überhaupt noch nicht - ganz im Gegenteil, die Begeisterung für die Arbeit lassen immer wieder neue Ideen und Perspektiven auftauchen. Das MYKOLOGIE FORUM war neugierig und fragte den 65jährigen nach Vergangenem und Zukünftigem.



**Professor Dr. med. Siegfried Nolting**

#### **Frage:**

Die Mykologie zieht sich wie ein roter Faden durch Ihren beruflichen bzw. wissenschaftlichen Lebensweg. Gab es ein Ereignis, wodurch Ihr Interesse für die Mykologie geweckt wurde?

#### **Prof. Nolting:**

Ja, es hat dieses Ereignis gegeben, und zwar mit Beginn meiner Promotionsarbeit im Jahr 1958, in der es um tierexperimentelle Sporotrichose ging. Diese zugegebenermaßen zeitintensive Arbeit wurde sehr erfolgreich. Dadurch kam ich in dieses faszinierende Gebiet, von dem ich damals allerdings noch sehr wenig verstand. Aber alles, was ebenso kompliziert wie wenig bekannt war, reizte mich ganz besonders.

#### **Frage:**

Welches waren die wichtigsten Meilensteine Ihres persönlichen mykologischen Wirkens?

#### **Prof. Nolting:**

Ich gehörte schon sehr früh und zwar seit 1964 der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft an. 1987 hatte ich dann das Vergnügen, die Jahrestagung der DMykG in Münster auszurichten. 1990 wurde ich zum Vizepräsidenten der Gesellschaft gewählt und von 1993 bis 1996 war ich der Präsident der DMykG.

#### **Frage:**

Wie sehen Sie den Stellenwert der Mykologie in Ihrem beruflichen und gesellschaftlichen Umfeld „gestern und heute“?

#### **Prof. Nolting:**

Der Stellenwert der Mykologie kann gar nicht hoch genug eingeschätzt werden. Es gibt hier m.E. nach wie vor sehr viele Probleme. Die Mykologie war viel eher bekannt als die bakteriellen Erkrankungen und es entstand der Eindruck, dass die Möglichkeit der Behandlung von Hautpilzerkrankungen die Lösung aller Probleme sei. Hier ist jedoch eine große Wandlung eingetreten, weil viele Patienten nicht zuletzt erst aufgrund der Fortschritte auf allen Gebieten in der Medizin Mykosen bekommen. Hierdurch hat die Mykologie erheblich an Aufmerksamkeit und Bedeutung gewonnen. Patienten mit Leukämien können heute gut behandelt und auch geheilt werden. Sie tragen jedoch ein hohes Risiko, an Mykosen zusätzlich zu erkranken und daran zu versterben. Auch AIDS und die Fortschritte in der Immuntherapie haben dazu beitragen, dass die Mykosen heute an Bedeutung gewonnen haben. Davon abgesehen sind Toxine in Nahrungsmitteln noch sehr wenig bekannt und kaum erforscht.

#### **Frage:**

Welches waren die Pfeiler Ihrer wissenschaftlich/mykologischen Arbeit?

#### **Prof. Nolting:**

Ich habe immer versucht, die Mykologie so zu betreiben, dass sie für den in der Praxis tätigen Arzt verständlich und anwendbar ist. Er sollte sich keinesfalls ausgeschlossen fühlen und den Eindruck gewinnen, dass Mykologie nur in experimentellen Untersuchungen stattfindet, die möglicherweise beim Menschen Anwendung finden. Ich habe vielmehr versucht, die Bereiche unmittelbar zu verbinden. Deswegen ist durch meinen Anstoß unter der Federführung der

Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, des Berufsverbandes der Deutschen Dermatologen und der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft, entwickelt worden, was heute in Qualitätssicherungsseminaren angeboten wird. Damit hat die Mykologie nicht nur in die Klinik Einzug gehalten, sondern wird auch in der Praxis berücksichtigt und damit ist ein hohes Qualitätsniveau erreicht worden.

**Frage:**

Mit der deutschen Wiedervereinigung wurden auch die mykologischen Gesellschaften zusammengeführt. Wie haben Sie diese Entwicklung erlebt?

**Prof. Nolting:**

Zu der Zeit war ich Vizepräsident der DMyKG und von daher in die Prozesse einbezogen. Es gab aber auch schon eine hochangesehene Mykologische Gesellschaft in der früheren DDR, mit der jedoch aus politischen Gründen weitaus weniger Kontakt bestand als zu den Gesellschaften anderer Ostblockstaaten. Wir waren froh, dass nach der Wende eine so rasche und unproblematische Zusammenführung der beiden Gesellschaften vollzogen wurde.

**Frage:**

Sicherlich wird es kein Ruhestand sein, in den Sie jetzt treten. Kann man hoffen, dass Sie der Mykologie und der DMyKG verbunden bleiben?

**Prof. Nolting:**

Das hoffe ich doch sehr. Im Moment bin ich Vorsitzender der Kuratoriums zur Verleihung der Schönlein-Plakette und des Nachwuchsförderungspreises für klinische Mykologie. Auf der nächsten Tagung in Marburg werde ich einen Vortrag halten und sicherlich die Mykologie nicht so leicht aus den Augen verlieren. Mein Ziel ist, weiterhin die Verknüpfung von wissenschaftlicher Forschung und Praxis zu fördern. Darin sehe ich eine wichtige Aufgabe.

**Frage:**

Gibt es etwas worauf Sie sich jetzt besonders freuen?

**Prof. Nolting:**

Da ich mich glücklicherweise guter Gesundheit erfreue, habe ich immer viel - und vielleicht sogar zu viel gearbeitet. Ich wollte etwas kürzer treten. Meine Praxistätigkeit, der ich dreimal wöchentlich nachgehe, die Vorträge und auch die Reisen, machen mir nach wie vor aber soviel Freude, dass ich dies alles gar nicht reduzieren möchte.

**Frage:**

Was wünschen Sie Ihren Nachfolgern und der Mykologie?

**Prof. Nolting:**

Der Mykologie wünsche ich weitere Fortschritte in der Forschung und darüber hinaus erachte ich es als sehr wichtig, die Umsetzung von klinischen Bildern, Diagnostik und möglichst erfolgreicher konsequenter Therapie beizubehalten. Ich hoffe, dass mein Nachfolger in diesem Sinne weiterarbeiten wird und wünsche ihm viel Erfolg.

**Frage:**

Wo liegen Ihrer Meinung nach die wissenschaftlichen Herausforderungen in der Mykologie. Welche Perspektiven gibt es beispielweise hinsichtlich der Therapie, die ja bis heute ein relativ begrenztes Arsenal bietet?

**Prof. Nolting:**

Dies möchte ich so nicht unterstreichen. Die lokal wirksamen Antimykotika bringen das, was man von ihnen erwartet und zwar ohne nennenswerte Nebenwirkungen. Mit der Verbindung der richtigen Diagnose bzw. des "daran denken" und einer Therapie auf lokaler Basis, ist therapeutisch sehr viel zu erreichen. Was wir uns natürlich wünschen sind Verbesserungen in der systemischen Therapie in Bezug auf die wachsende Inzidenz invasiver Mykosen bei schwerkranken Patienten bzw. in der Intensivmedizin. Die Fortschritte der vergangenen Jahre sind jedoch auch hier als beachtlich zu bezeichnen und nicht zuletzt dadurch haben Gefahren von systemischen Mykosen einen hohen Aufmerksamkeitsgrad und entsprechenden Stellenwert erreicht.

**Frage:**

Und wie steht es mit der Therapie von Onychomykosen, die als schwierig zu behandeln gelten?

**Prof. Nolting:**

Auch hier mangelt es m.E. nicht an therapeutischen Alternativen. Das Problem besteht im wesentlichen darin, dass die Therapie große Geduld erfordert, weil z.B. der häufig betroffene Großzehnnagel eben sehr langsam wächst. Es gehört zweifellos viel dazu, einen Patienten über mindestens ein Jahr zu einer konsequenten vorzugsweise kombinierten systemischen und topischen - Therapie zu motivieren, wenn die Erkrankung nicht lebensbedrohlich ist. Bei einem hochmotivierten 86jährigen Patienten ist es aber sehr gut gelungen und zwar innerhalb von 9 Monaten.

**Herzlichen Dank für das Gespräch!**

## Interview mit Herrn Professor Dr. med. Claus Seebacher, Dresden

### Berufliches Zuhause in der mykologischen Familie

Das Interview führten wir - zufällig - genau an dem Tag, an dem Professor Dr. med. Claus Seebacher, sein 25-jähriges Jubiläum als Chefarzt der Hautklinik des Krankenhauses Dresden Friedrichstadt beging. Geboren am 10. Oktober 1935 in Mannheim, führte ihn der berufliche Weg vom Medizinstudium in Greifswald, Leipzig und Dresden in den Jahren 1954 bis 1959 über eine Pflichtassistentenstelle an der Medizinischen Akademie Dresden, einem Jahr an der Chirurgischen Klinik in Freital und nachfolgender Facharztausbildung an der Hautklinik der Medizinischen Akademie Dresden nach Dresden-Friedrichstadt, wo er seit 1976 tätig ist. Trotz Grenzen und Hemmnissen bot ihm die mykologische Familie immer einen beruflichen aber auch emotionalen Rahmen, der bis heute besteht und auch den kommenden Ruhestand, der sich als solcher jedoch kaum abzeichnet, begleiten wird. Das MYKOLOGIE FORUM wollte es genauer wissen und fragte, wie es war und was nun kommt.



Professor Dr. med. Claus Seebacher, Dresden



Seitenansicht und Eingang  
des Krankenhauses  
Dresden Friedrichstadt

#### Frage:

Die Mykologie zieht sich wie ein roter Faden durch Ihren beruflichen bzw. wissenschaftlichen Lebensweg. Gab es ein Schlüsselerlebnis, das dieses besondere Interesse geweckt hat?

#### Prof. Seebacher:

Das eigentliche Schlüsselerlebnis gab es für mich 1963, als ich von meinem damaligen Chef, Professor Kleine-Natrop, beauftragt wurde, den Kongress der Sektion Mykologie der Polnischen Dermatologischen Gesellschaft in Warschau zu besuchen. Dort bin ich zum ersten Mal mit bedeutenden Mykologen Europas und auch aus Übersee in persönlichen Kontakt gekommen. Begegnungen, die mir in besonderer Erinnerung geblieben sind, waren die mit dem polnischen ehrwürdigen Professor Alkiewicz und mit Professor Sowinski. Kennengelernt habe ich dort auch die Mykologen aus der damaligen DDR und natürlich aus Westdeutschland wie Professor Rieth und Frau Professor Krempe-Lamprecht. Was mich besonders beeindruckte war, dass ich in diesen Kreis als junger Spund und „Nobody“ sehr herzlich aufgenommen wurde, als hätte ich schon ewig dazugehört. Daraus hat sich eine freundschaftliche Verbundenheit mit vielen Mykologen entwickelt. In der Mykologischen Gesellschaft geht es eben sehr familiär zu, und das hat mir immer gut gefallen.

#### Frage:

Welches waren die wichtigsten Meilensteine Ihres persönlichen mykologischen Interesses?

#### Prof. Seebacher:

Ich habe in der Klinik die Mykologie mit aufgebaut. Dazu wurde eine MTA angestellt und wir haben die meisten Methoden nach verfügbaren Lehrbüchern sozusagen im „self-made-Prozess“ erarbeitet. Zu dieser Zeit - nach 1961 - waren Reisen

nicht mehr möglich und ich konnte nirgendwo hinfahren, um Methoden zu erlernen, wie sie in den damaligen Hochburgen der Mykologie in Hamburg oder in Holland vermittelt wurden. Mitgewirkt habe ich

# Interview

dann Anfang der 60-er Jahre an der Einführung von Griseofulvin in der DDR, das im AWD (Arzneimittelwerk Dresden) produziert bzw. entwickelt wurde. Aus dieser Zeit stammen auch die ersten wissenschaftlichen Arbeiten, weil ich an der Erprobung der Substanz beteiligt war. Dann folgte die Zusammenarbeit mit Frau Professor Blaschke-Hellmessen, die sich maßgeblich um die Kinder- und Säuglingscandidose gekümmert hat. Sie führte die Pilzuntersuchungen durch und schickte - sofern notwendig - die Patienten dann zu mir. Ich habe mich mit den klinischen Erscheinungsbildern auseinandergesetzt und daraus resultiert im Wesentlichen meine Habilitationsarbeit, die sich mit dem „Seborrhoischen Ekzems des Säuglings“ befaßte. Ein weiterer Meilenstein war die Wahl in den Vorstand der Mykologischen Gesellschaft der DDR, der ich bis zu ihrer Auflösung 1990 als Vorstandsmitglied bzw. Schriftführer angehörte. Dieses Amt habe ich seit 1996 bis heute auch in der DMyG inne, so dass ich sozusagen der „ewige Schriftführer“ geblieben bin. Bedeutendes Ereignis war die Zusammenführung der west- und ostdeutschen Mykologischen Gesellschaften. 1990 durften wir erstmals ungehindert in den Westen fahren und zwar nach Göttingen. Gerade in den letzten Tagen habe ich beim Aufräumen einen Brief von Professor Götz gefunden, in dem er mich bittet, die offizielle Vereinigung der Gesellschaften im Rahmen der Jubiläumsveranstaltung in Essen anzuregen. Das war 1991 - die gesamte Mykologische Gesellschaft der DDR wurde in die DMyG aufgenommen.

## Frage:

Wie sehen Sie den Stellenwert der Mykologie in Ihrem beruflichen und gesellschaftlichen Umfeld „gestern und heute?“

## Prof. Seebacher:

Ausgegangen war die Mykologie zunächst von den Pilzinfektionen der Haut, weil sie am längsten bekannt waren. Auf diesem Gebiet wurde seitens der Dermatologie sehr viel Forschung betrieben. Das Schwergewicht hat sich mittlerweile jedoch auf die Endomykosen bzw. auf die opportunistischen Mykosen gelegt,

die heute infolge der aggressiven Therapien bei malignen Tumoren und Immunsuppression bei AIDS-Erkrankung vermehrt auftreten. Die Behandelbarkeit vieler Erkrankungen bringt diese lebensbedrohliche Infektionen mit sich. Ein Beispiel sind die Leukämien, die noch zu meiner Studentenzeit unheilbar waren. Heute sind sie behandel- und sogar heilbar, bergen jedoch u.a. die Gefahr einer systemischen Mykose.

## Frage:

Wie haben Sie persönlich die Wende erlebt und wie hat sich Ihr mykologisches Leben verändert?

## Prof. Seebacher:

Es war der 9. November 1989 und wir wollten überhaupt nicht glauben, was über die Medien gemeldet wurde. Es hielt uns dann aber nicht mehr zu Hause und so fuhr ich mit meiner Frau und meiner Tochter am darauffolgenden Wochenende nach Berlin, wo wir uns zum ersten Mal den Westteil der Stadt anschauten. Es war ein überwältigender Eindruck, zumal wir uns diese Möglichkeit vor dem Erreichen des Rentenalters überhaupt gar nicht vorstellen konnten.

1990 sollte der - schon lange geplante - Mykologen Kongress der DDR in Rostock stattfinden und wir hatten schon viele Anträge, Einladungen und organisatorische Vorbereitungen getroffen und verschickt. Wir durften ja längst nicht jeden einladen, genehmigt waren Professor Müller und Professor Meinhof. Und plötzlich kamen sehr viele westdeutsche Mykologen, die wir zum ersten Mal trafen. Das waren unvorhergesehene und erhebende Ereignisse. Berührungängste gab es aber überhaupt nicht, beide Seiten haben sich sofort akzeptiert und sehr gut verstanden.

## Frage:

Sicherlich wird es kein Ruhestand sein, in den Sie jetzt treten. Kann man hoffen, dass Sie der Mykologie und der DMyG verbunden bleiben?

## Prof. Seebacher:

Ganz sicher! Das Amt des Schriftführers behalte ich bis zur Neuwahl bei, werde es aber dann in jüngere Hände geben. Ich bin aber gerne bereit, andere Aufgaben in der Gesellschaft zu übernehmen, wie zum Beispiel die Erarbeitung von Leitlinien. Und wenn irgendwo mein Rat und die Erfahrung gefragt sind, dann gebe ich sie natürlich sehr gerne - ohne mich



jedoch aufzudrängen - weiter wie u.a. in dem schon bestehenden Collegium Mycologicum.

**Frage:**

Sie verrieten mir kürzlich, Sie wollen jetzt tun was Sie möchten und nicht was Sie müssen. Was wird das sein, was Sie jetzt mit der gewonnen Zeit tun möchten?

**Prof. Seebacher:**

Wenn ich meinen jetzigen Terminkalender betrachte, dann sind die nächsten 3 Monate schon völlig ausgebucht. Einige Reisen und längst überfällige Verwandten- und Bekanntenbesuche stehen auf dem Plan. Ausserdem habe ich einen Garten, der dringend bearbeitet werden muß und gerne nehme ich mir Zeit, um Musik zu hören.

**Frage:**

Was wünschen Sie Ihren Nachfolgern und der Mykologie?

**Prof. Seebacher:**

Dass sie sich weiterentwickelt und, dass viele junge Leute Interesse daran finden. Weiterhin, dass die mykologischen Arbeitsstellen, die jetzt durch das Ausscheiden der bisherigen Stelleninhaber, nicht wegrationalisiert werden, wie es in verschiedenen Orten geschehen ist. Ebenfalls wünsche ich mir, dass die Mykologie den Stellenwert einnimmt, der ihr gebührt. Im Zuge des Fortschrittes der Medizin werden Mykosen zukünftig vermehrt auftreten und selbst die banalen Hautmykosen, die die häufigsten Infektionskrankheiten des Menschen überhaupt sind, bedürfen weiterer Erforschung.

**Frage:**

Wo liegen Ihrer Meinung nach die wissenschaftlichen Herausforderungen in der Mykologie. Welche Perspektiven gibt es beispielsweise hinsichtlich der Therapie, die ja bis heute ein relativ begrenztes Arsenal bietet?

**Prof. Seebacher:**

Die therapeutischen Fortschritte sind Dank des Engagements und der Aktivitäten der Pharmaindustrie bedeutend. Trotz dieser Fortschritte der letzten 20 Jahren benötigt die Therapie neue und effizientere Medikamente. Es gibt hier immer noch erhebliche Probleme sowohl in der Behandlung der systemischen wie auch der Hautmykosen. Es ist noch längst nicht alles erreicht, was wir uns wünschen und vorstellen können. Wir müssen aber auch mehr Erkenntnisse in Bezug auf die Reaktionen des Wirtsorganismus' gewinnen. Hier geht es insbesondere um die Immunvorgänge bei pilzbedingten Infektionen. Viele Unklarheiten gibt u.a. bei den Infektionen der Haut durch Dermatophyten. Es gibt zwar Ansätze, die schon aus den 20-er Jahren des vergangenen Jahrhunderts stammen, aber nur sporadisch weiterverfolgt wurden. Darüber hinaus brauchen wir epidemiologische Forschung und konkretere Zahlen, die es bisher nicht gibt. Es heißt zwar immer, die Mykosen seien häufig, aber wie häufig sie wirklich sind, wissen wir nur sehr ungenau. Auch die molekulare Mykologie bringt wichtige neue Erkenntnisse. Wünschenswert wären neue diagnostische Ansätze, die zu mehr Sicherheit führen. Defizite gibt es in der klinischen Mykologie, der Immunologie und der Epidemiologie.

Es gibt also Arbeit „en masse“ für die Mykologen und sehr interessante Themen, die nur darauf warten, in Angriff genommen zu werden.

**Herzlichen Dank für das Gespräch!**



# Report

## Probleminfektionen in der Klinik Systemische Mykosen bei Intensivpatienten frühzeitig therapieren

Nosokomiale Infektionen bei Intensivpatienten waren Themen der Fortbildungsveranstaltung "Aktuelles zur Diagnostik und Klinik von Probleminfektionen", die am 13. März 2001 in Berlin stattfand. Den Vorsitz hatte Prof. Dr. med. U. Göbel, Berlin; unterstützt wurde die Veranstaltung durch die Pfizer GmbH, Karlsruhe.

Pilzinfektionen, allen voran solche mit *Candida spp.*, treten heute zunehmend nicht nur in der Hämatologie auf, sondern auch in anderen medizinischen Bereichen, wie Privatdozent Dr. med. W. Fegeler, Münster, erläuterte. Dies liegt im Fortschritt der Therapie begründet, der dazu geführt hat, dass auf Intensivstationen immer mehr Kranke zu finden sind, die noch vor einigen Jahren deutlich geringer Überlebenschancen hatten.

Diese Hochrisikopatienten weisen aber eine ganze Reihe von Prädispositionen für Mykosen auf, wobei sich erkrankungs- und therapiebedingte Faktoren unterscheiden lassen. Zu ersteren zählen z.B. hormonelle Störungen, besonders ein nicht gut eingestellter Diabetes mellitus, Immundefekte bis hin zu AIDS, maligne Tumoren, Verbrennungen und Infektionskrankheiten. Therapiebedingte Faktoren sind beispielsweise Corticoide, Immunsuppressiva, Zytostatika, Röntgenbestrahlung, antibiotische Therapie und Prophylaxe und Verweilkatheter.

Wie gelangen nun die Pilze in den Körper? Bei den Aspergillose, Mukormykosen und Kryptokokkosen handelt es sich um Inhalationsmykosen. Die Candidose stellt in der Regel eine typische exogene oder endogene Schmierinfektion dar. Während sich die exogene durch Maßnahmen der klassischen Hygiene sehr gut unterbinden lässt, bereitet die Verhinderung einer endogenen Schmierinfektion Probleme, denn hier ist der Patient seine eigene Infektionsquelle.

In diesem Zusammenhang wies der Referent darauf hin, dass es keine Normalflora pathogener Pilze beim

Menschen gibt, wohl aber eine transiente. Das bedeutet, dass der wiederholte Pilznachweis in einem Untersuchungsmaterial auf eine Kolonisation des Keimes schließen lässt. Welche Folgen dies hat, hängt wiederum von der Prädisposition des Patienten ab. Hier spielt die zelluläre Immunabwehr eine ganz entscheidende Rolle.

### Diagnostische Bausteine

Zur Diagnostik invasiver Mykosen stehen eine Reihe von Maßnahmen zur Verfügung. Bezüglich der Blutkultur lautet die Empfehlung, eine solche dreimal in halbstündlichem Abstand vorzunehmen und zwar im Fieberanstieg. Dabei müssen genaue Anweisungen für die Mikrobiologie erfolgen, denn die bakteriologische Standarddiagnostik weist eine Lücke für Pilze auf. - Nährmedien für die Bakteriologie sind nur sehr bedingt für die Pilztestung geeignet. Der Nachweis von z.B. *Candida*-Antikörpern kann weiterhelfen, zeigt allerdings nur, dass ein Antigenkontakt stattgefunden hat; er erlaubt keine Aussage über den Ort dieses Geschehens. Beim *Candida*-Antigen-Test ist zu berücksichtigen, dass er nur eine Momentaufnahme darstellt.

Vor diesem Hintergrund betonte Fegeler, dass es sich bei den genannten Maßnahmen zwar um ausgereifte Methoden handelt, die aber andererseits ein großes Manko aufweisen: Im negativen Fall besitzen sie keinerlei Aussagewert. Daraus leitet sich die Notwendigkeit eines diagnostischen "Puzzles" ab, wobei klinische Inspektion und Prädispositionsanalyse ganz wichtige Maßnahmen darstellen.

### Frühe Intervention mit Fluconazol

Therapeutisch kann man heute frühzeitig mit Fluconazol intervenieren, da diese Substanz eine geringe Toxizität aufweist. Eine Lücke besitzt sie gegenüber *Candida krusei*; Schimmelpilze lassen sich mit pharmakologischen Dosen ebenfalls nicht behandeln.

Zu welchem Zeitpunkt sollte nun bei schwer kranken Intensivpatienten eine antimykotische Therapie beginnen? Der Referent legte nahe, immer dann, wenn ein primärer sowie ein sekundärer Therapieansatz mit Antibiotika nicht wirksam ist und eine Kolonisation mit Hefen vorliegt, spätestens in der dritten Eskalationsstufe ein Antimykotikum zu applizieren. Die Chance zur frühen Intervention, die Fluconazol bietet, muss im Interesse des Patienten genutzt werden.

Prof. Dr. med. K. H. Duswald, München, bestätigte, dass mit der heute gebräuchlichen Dosierung von 800 mg Fluconazol pro Tag Serumkonzentrationen erreicht werden, die für die frühe kalkulierte Therapie nicht nur von *Candida albicans*, sondern auch des intermediär empfindlichen Keimes *Candida glabrata* geeignet sind.

Duswald machte deutlich, dass heute die Mehrzahl der immunsupprimierten Patienten auf chirurgischen Intensivstationen zu finden ist. Bei diesen nichtneuropathischen Kranken, die Dank der Fortschritte der Medizin Polytraumen oder schwere primäre Infektionen wie z.B. eine Peritonitis überleben, kommt es in der Folgezeit zu einer Aktivierung und schließlich zu einer Überbeanspruchung der körpereigenen Abwehr, sowohl zellulär als auch humoral. Diese Patienten sind also ebenso wie solche im hämato-onkologischen Bereich als immunsupprimiert anzusehen. Auch bei ihnen muss deshalb sorgfältig auf Pilzinfektionen geachtet werden.



**Professor Dr. med. K. H. Duswald, Intensivmedizin**  
**Chirurgische Klinik und Poliklinik**  
**Klinikum Innenstadt der Universität München**

## **Multiorganversagen durch Mediatorenkaskade**

Um zu erkennen, warum Mykosen auf Intensivstationen dringend differentialdiagnostisch berücksichtigt werden müssen, muss man sich die Abläufe im Körper der Betroffenen verdeutlichen. Nach einem schweren Trauma werden Plasmaproteine aktiviert, die in der Folge eine Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren bewirken. Diese wiederum schädigen Strukturen des Körpers, vor allem Endothelien, und führen zur Suppression sämtlicher Funktionen der körpereigenen Abwehr. Letztendlich kommt es auf diese Weise zum Multiorganversagen. Bei bakteriellen Infektionen wird ebenfalls die so genannte Mediatorenkaskade ausgelöst, und zwar infolge einer Überstimulation durch bakterielle Toxine.

Es gibt nun gute Anhaltspunkte dafür, dass die geschilderten Abläufe nicht nur durch Bakterien, sondern auch durch Pilze in Gang gebracht werden. Die systemische Mykose bedroht die Vitalorgane also nicht aufgrund einer Abszessbildung, vielmehr liegt die Gefahr in der Aktivierung der Mediatorenkaskade mit resultierender Selbstzerstörung des gesamten Systems. Die Definition der Pilzsepsis als Aussaat von Erregern von der Körperoberfläche in das Körperinnere und Schädigung der Vitalorgane durch metastatische Absiedlungen ist daher neu zu überdenken.

## **Sepsis bedeutet Spätstadium**

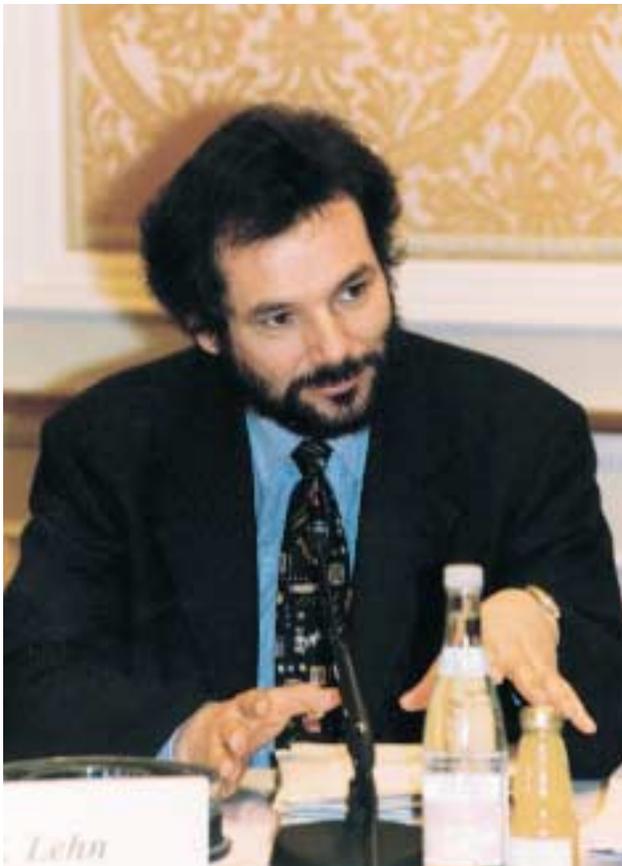
Die Bedeutung der Pilzinfektionen bei Intensivpatienten wird zum Teil immer noch negiert, wie Duswald am Beispiel einer 1997 erschienenen Multicenter-Studie von Petri et al. zeigte, die nur in 2% der Fälle eine invasive Mykose diagnostizierten. Danach würde es sich also um ein vernachlässigbares Problem handeln – allerdings eines, das meist tödlich endet, denn die Letalität betrug in dieser Untersuchung 75%.

Wie kam dieses Ergebnis zustande? „Invasive Mykose“ wurde in dieser Arbeit so definiert, dass eine positive Blutkultur zweimal, ein definiertes Organversagen sowie septische Organmetastasen vorliegen mussten. Mit einer solchen Festlegung werden jedoch nur die Spätstadien einer Sepsis erfasst, die dann natürlich nur selten therapierbar sind. Der hohen Letalität im Spätstadium lässt sich aber nur begegnen, indem man die Mykose eben früher diagnostiziert und behandelt.

Nach Meinung des Referenten sollten für Mykosen die für bakterielle Infektionen gebräuchlichen Definitionen zur Anwendung kommen. Das klinische Bild der Pilzsepsis mit einem potentiellen Herd sollte, zusammen mit den erkennbaren prädisponierenden Faktoren, bei immunsupprimierten Patienten ausreichen, um rechtzeitig eine Therapie einzuleiten.

## Antibiotika-Resistenzen multifaktoriell bedingt

Mit der Problematik der zunehmenden Antibiotika-Resistenz von Bakterien beschäftigte sich ein Vortrag von Prof. Dr. med. N. Lehn, Regensburg. Gefördert wird diese Entwicklung durch den Anstieg der Patientenzahlen bei gleichbleibenden oder gar sinkenden Zahlen des Pflegepersonals, durch die Zunahme von Polytraumatisierten, die mit zahlreichen Kathetern versorgt sind, durch Immunsuppression sowie durch den Selektionsdruck infolge antibiotischer Therapie. Zwar wird ein großer Teil der Resistenzen in der Klinik ausgelöst, jedoch darf man auch die Bedeutung eines



**Professor Dr. med. N. Lehn,**  
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
der Universität Regensburg

übertriebenen Hygienewahns im Haushalt sowie die Folgen der Antibiotika-Gabe in der Tiermast nicht außer Acht lassen. Notwendig ist eine Antibiotika-Kontrolle nicht nur beim Menschen, sondern auch beim Tier. Als Konsequenzen für die Klinik forderte der Referent Aufklärungsmaßnahmen zur richtigen Hygiene, eine rationale Antibiotika-Therapie sowie eine adäquate Behandlungsdauer.

## Probleme bei Diagnostik und Therapie

Eine wesentliche Bedeutung auf der Intensivstation hat die nosokomiale Pneumonie. Sie tritt im späten in der Behandlungsstadium auf und erhöht sowohl Liegezeit als auch Mortalität. Anhand verschiedener Studien zeigte Dr. med. T. Welte, Magdeburg, die Problematik der Diagnostik auf. So wurden z.B. bei gleicher diagnostischer Maßnahme, nämlich einer Lavage, ganz unterschiedliche Detektionsraten erzielt. Die klinische Einschätzung gestaltet sich aufgrund der unspezifischen Zeichen bei Intensivpatienten recht schwierig. Der positiv prädiktive Wert des Röntgenbildes fällt sehr gering aus. Die mikrobiologische Diagnostik aus Atemwegsmaterialien ist mit Fehlern behaftet. In der Konsequenz bedeutet dies, dass die Klinik, die unverzichtbar ist, mit Röntgenbild sowie mikrobiologische Untersuchung des Sekrets und Blutkultur kombiniert werden muss.

Bezüglich der Therapie nosokomialer Pneumonien betonte der Referent die große Bedeutung des Einsatzes jeweils geeigneter Antibiotika. Orientiert sich die Auswahl ausschließlich am Antibiogramm, wird dies der Situation des Kranken nicht gerecht. Ebenso wenig ist es aber angezeigt, die Wahl des geeigneten Antibiotikums nur dem Kliniker zu überlassen. Hier spielt die gute Zusammenarbeit zwischen Mikrobiologe und Kliniker eine ganz entscheidende Rolle.

### Ihr Forum!

Nutzen Sie das neue MYKOLOGIE FORUM als Ihr Forum. Interessante Beiträge sind jederzeit herzlich willkommen! Senden Sie Ihr Manuskript an:



Redaktion: Gabriele Henning-Wrobel  
Im Niederfeld 20 · 59597 Erwitte  
Fax. 0 29 43 / 48 68 82 · e-mail: ghwpress@aol.com

## **Kombinationstherapie mit 5-Flucytosin (Ancotil®) – unverzichtbare Substanz in der antimykotischen Therapie**

Wenn von einer Strategie in der antimykotischen Therapie die Rede ist, bieten Kombinationstherapien unter Berücksichtigung von 5-Flucytosin (5-FC) eine Option, auf die bis jetzt keineswegs verzichtet werden könne. Dies erklärten Experten auf einem Symposium von ICN Pharmaceuticals Germany GmbH in Rahmen der 34. Wissenschaftlichen Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V., die von 14.-16. September 2000 in Berlin stattfand. Die antimykotischen Strategien der Zukunft seien mit hoher Wahrscheinlichkeit die Kombinationstherapien. „Angesichts des immer noch schmalen Arsenal der wirksamen Substanzen, ist es sinnvoll, Synergien zu nutzen“, sagte PD Dr. Wolfgang Fegeler, Institut für Medizinische Mikrobiologie der Westfälischen Wilhelmsuniversität Münster. „Es wird sobald keine Substanz geben, die als Monosubstanz Allroundqualitäten hat.“ Größtmöglicher Nutzen sei derzeit durch Kombinationstherapien zu erzielen und auch die Nebenwirkungen seien aufgrund der langjährigen Erfahrungswerte und vorliegenden Studienergebnisse kalkulierbar. Vor dem Hintergrund eines wachsenden Bedarfsdrucks – die Inzidenz der invasiven Mykosen steigt stetig – setze man deshalb auf bewährte Substanzen, Kombinationen und Synergien. „Die Gruppe der systemischen Antimykotika ist nicht groß, so dass wir nicht auswählen oder aussondern sollten, sondern uns vielmehr die Frage stellen, welche Kombinationen der verfügbaren Substanzen hier einen zusätzlichen Vorteil bringen können.“ 5-Flucytosin war immer – seitdem es auf dem pharmazeutischen Markt zur Verfügung steht – ein Kombinationspräparat, dessen wesentlicher Partner Amphotericin B ist.

Eine Anwendungsbeobachtung brachte interessante Erkenntnisse, die von PD Dr. med. Gudrun Just-Nübling vorgestellt wurden. Die Möglichkeiten der antimykotischen Therapien würden in Deutschland noch keineswegs ausgeschöpft und es bedürfe sicherlich viel mehr umfassende Informationen, um das Bewußtsein für Mykosen sowohl hinsichtlich der Diagnostik als auch der Therapie zu schärfen.

**Kurz notiert**

Ziel dieser Erhebung war es deshalb, folgende Fragen zu beantworten:

**Bei welchen Indikationen wird 5-FC in Deutschland eingesetzt?**

**Bei welchen Risikogruppen wird 5-FC in Deutschland eingesetzt?**

**Dauer und Dosis der Therapie?**

**Kombinationspartner?**

**Verträglichkeitsprofil?**

**Therapieergebnisse?**

237 auswertbare Bögen wurden zusammengetragen. 63 Zentren unterschiedlicher Größe haben sich an dieser Erhebung beteiligt.

Zwar sei eine derartige Anwendungsbeobachtung sehr aufschlußreich, für wünschenswert hält Just-Nübling es jedoch, Untersuchungen unter Studienbedingungen durchzuführen. Insbesondere vor dem Hintergrund der Tatsache, dass viele Patienten immer noch an invasiven Mykosen versterben, sollten Kombinationstherapien mit neuen Substanzen frühzeitig geprüft werden, um die Möglichkeiten einer Optimierung des Behandlungsziels besser auszuschöpfen.

