DIAGNOSTIK UND THERAPIE DER PILZKRANKHEITEN UND NEUERE ERKENNTNISSE IN DER BIOCHEMIE DER PATHOGENEN PILZE

VORTRÄGE DER
6. WISSENSCHAFTLICHEN TAGUNG DER
DEUTSCHSPRACHIGEN MYKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT
IN WIEN
VOM 15. BIS 17. JULI 1966

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. HANS GÖTZ
KLINIKUM ESSEN DER RUHRUNIVERSITÄT BOCHUM
UND
DR. HANS RIETH
HAMBURG

UNTER MITARBEIT VON

DR. OTTO MALE
I. UNIVERSITÄTS-HAUTKLINIK IN WIEN
UND
UNIV.-DOZ. DR. JOSEFINE THURNER
II. UNIVERSITÄTS-HAUTKLINIK IN WIEN

MIT 178 TEXTABBILDUNGEN

1970
GROSSE VERLAG
BERLIN

Aus dem Institut für bakterielle Tierseuchenforschung Jena-Zwätzen der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
(Direktor: Prof. Dr. habil. Th. HUBRIG)

Papierchromatographische Untersuchungen serologisch reagierender Polysaccharide einiger Dermatophyten

P. KIELSTEIN und W. ERLER, Jena-Zwätzen

Mit einer Abbildung

Antigenanalytische Untersuchungen unter Anwendung verschiedener serologischer und biochemischer Verfahren sind für die Differenzierung von Mikroorganismen, für taxonomische Studien, für den Nachweis verwandtschaftlicher Beziehungen verschiedener Mikroorganismen untereinander sowie für die richtige Antigenauswahl zum Nachweis homologer Antikörper von großer Bedeutung. Zum Studium derartiger Fragen eignet sich besonders gut die Agargel-Präzipitation. Mit Hilfe dieser Methode konnten wir nachweisen, daß zwischen den mit Hilfe der Formamidextraktion nach FULLER gewonnenen Polysaccharidantigenen der Dermatophytengattungen Trichophyton, Mikrosporum, Epidermophyton und Keratinomyces sehr enge verwandtschaftliche Beziehungen bestehen, so daß eine Gattungs- oder Artdiagnose sowie eine Klassifizierung nach serologischen Gesichtspunkten nicht möglich war. Außerdem besitzen die Dermatophyten mit einigen Schimmelpilzen, unter anderem auch mit Ct. serratus EIDAM, gemeinsame Partialantigene. Einzelheiten zur Zahl der nachgewiesenen und serologische Verwandtschaftsbeziehungen ausdrückenden Antigen-Antikörper-Reaktionen sind dem Antigenschema der **Tabelle I** zu entnehmen. Die mit den Schimmelpilzen gemeinsamen Partialantigene dürften verantwortlich sein für viele übergreifende serologische Reaktionen, z. B. bei intrakutanen Allergieproben an pilzsensibilisierten Patienten oder Allergieerscheinungen während einer Penicillinbehandlung. Unsere Resultate haben außerdem ergeben, daß zum Nachweis der im Verlauf mancher Dermatosen auftretenden immunbiologischen Reaktionen im wesentlichen alle Dermatophyten als Antigen auf Grund ihres fast gleichen Antigenaufbaues verwendet werden können.

Zur Ergänzung unserer serologischen Untersuchungsergebnisse erschien die papierchromatographische Auftrennung der Spaltprodukte der in der Präzipitation wirksamen Polysaccharidantigene als zweckmäßig. Es sollte untersucht werden, ob mit Hilfe dieses Verfahrens verschiedene „Chemotypen" der Dermatophyten ermittelt werden können. Bei unseren papierchromatographischen Untersuchungen prüften wir serologisch aktive Polysaccharide 10 verschiedener Dermatophyten und von Ct. serratus EIDAM.

Tabelle 1: Antigenschema einiger Dermatophyten und Schimmelpilze

Pilzstamm	Serum	Partialantigen 1	2	3	4	5	6	7
1. Scopulariopsis brevicaulis	A							
	B							
	C		▬					
2. Mucor sp.	A							
	B							
	C		▬					
3. Rhizopus nigricans	A							
	B							
	C		▬					
4. Fusarium sp.	A							
	B							
	C		···					▬
5. Penicillium sp.	A		···					
	B		···		···	▬		
	C		▬					
6. Aspergillus sp.	A							
	B							
	C	▬	▬					
7. Ctenomyces serratus	A	▬	▬	▬		▬	▬	···
	B	▬	▬	▬		▬	▬	···
	C	▬	▬	▬				
8. T. terrestre	A	▬			▬	▬	···	
	B	▬	▬		▬	▬		
	C	▬	▬					
9. T. quinckeanum	A	▬	▬	▬				
	B	▬	▬	···				
	C	▬	▬					
10. K. ajelloi	A		▬	▬		▬	▬	···
	B		▬	▬	···	▬		
	C		▬	▬				
11. M. gypseum	A		▬	▬	▬	▬	▬	
	B		▬	▬	▬	▬		
	C		▬	▬	▬	▬	▬	
12. M. canis	A	···	▬					
	B		▬	▬	▬	▬		
	C		▬	▬	▬	▬		
13. T. rubrum	A	···	▬	▬		▬	···	
	B		▬	▬		▬		
	C	···	▬	▬	···	▬		
14. T. mentagrophytes	A		▬	▬	▬	▬		
	B		▬	▬	▬	▬		
	C		▬	▬	···	▬		
15. T. verrucosum	A	···	▬	▬	▬			
	B		▬	▬	▬			
	C	···	▬	▬	▬			
16. T. schönleinii	A		▬	▬	···	▬	▬	···
	B		▬	▬	▬	▬		
	C		▬	▬	···	▬		
17. T. megninii	A	-|-	▬	▬	▬	▬	▬	-|-
	B	-|-	▬	▬	▬	▬	▬	-|-
	C	-|-	▬	▬	▬	▬	▬	-|-
18. E. floccosum	A	▬	▬	···	▬	▬		
	B		▬	▬	▬	···		
	C			▬	▬	···		

A = Anti-T. mentagrophytes - Serum Ib
B = Anti-T. " - " 1b
C = Anti-T. rubrum - " 1

▬ stark vorhandenes Partialantigen
··· schwach " "
-|- nicht geprüft

T. = Trichophyton; K. = Keratinomyces; M. = Microsporum; E. = Epidermophyton

Folgende Pilzarten wurden untersucht:

1. Trichophyton: T. mentagrophytes, T. rubrum, T. quinckeanum, T. verrucosum, T. megninii, T. terrestre;
2. Microsporum: M. gypseum, M. canis;
3. Epidermophyton: E. floccosum;
4. Keratinomyces: K. ajelloi;
5. Gymnoascaceae: Ctenomyces serratum EIDAM.

Als Extrakte dienten nach der Methode von FULLER mit Formamid sowie durch Autoklavieren der Pilzrasen-Nährbouillon-Suspension gewonnene Polysaccharide (H-Extrakt). Nach Hydrolyse der partiell gereinigten Extrakte wurde von allem mit n-Butanol-Pyridin-Wasser 48 Stunden absteigend chromatographiert und die Chromatogramme mit Silbernitrat-Natronlauge im Badverfahren angefärbt.

Tabelle 2: Papierchromatographische Analyse der Polysaccharidextrakte einiger Dermatophyten

Pilzart	Fuller-Extrakte			H-Extrakte		
	Galaktose	Glucose	Mannose	Galaktose	Glucose	Mannose
T. terrestre	(+)	++	++	./.	./.	./.
T. mentagrophytes	(+)	++	++	(+)	++	++
T. quinckeanum	(+)	++	++	(+)	++	++
T. rubrum	(+)	++	++	—	++	++
T. megninii	+	++	(+)	++	++	++
T. verrucosum	+	++	++	./.	./.	./.
M. gypseum	(+)	++	++	(+)	++	++
M. canis	(+)	+	++	(+)	(+)	++
E. floccosum	++	++	++	(+)	++	(+)
K. ajelloi	—	++	++	—	++	(+)
Ct. serratus	+	++	++	./.	./.	./.

Zeichenerklärung:
./. = nicht untersucht
++ = als Hauptprodukt identifiziert
\+ = deutlich identifiziert
(+) = in Spuren identifiziert
— = nicht identifiziert

Unsere Untersuchungsergebnisse sind in **Tab. 2** zusammengefaßt und als Beispiel in **Abb. 1** dargestellt. Daraus geht hervor, daß die in der Präzipitation reagierenden Extrakte durch 3 Monosaccharide qualitativ charakterisiert sind: Glucose, Mannose und Galaktose. Nur in den FULLER- und H-Extrakten von K. ajelloi konnte keine Galaktose nachgewiesen werden. Obgleich keine quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgte, konnten auf Grund etwa gleichgroßer Mengen Ausgangsmaterial am Auftragungsort die nachgewiesenen Substanzen als Haupt- und Nebenbestandteile unterschieden werden. So konnten wir bei allen untersuchten Pilzen

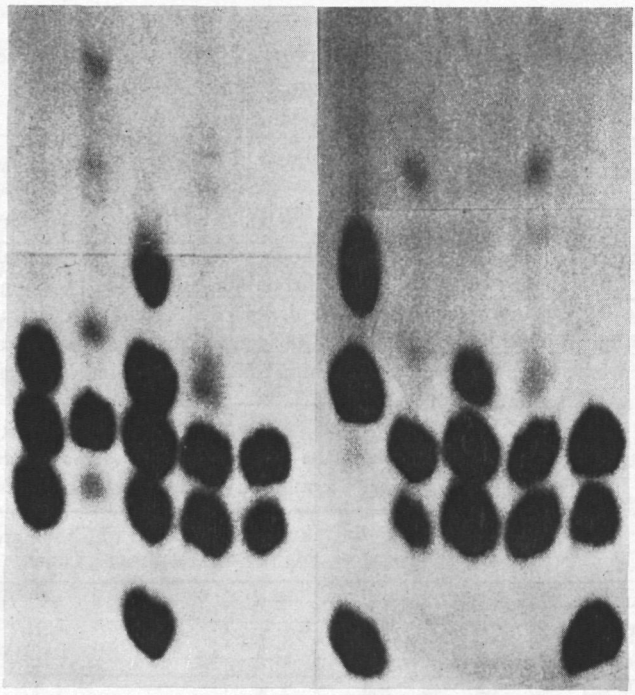

Abb. 1: Papierchromatogramme von H-Extrakten verschiedener Dermatophyten: Von links: Glucose — Mannose — Ribose — T. quinckeanum — M. gypseum — K. ajelloi — Glucosamin, Galaktose, Ribose — T. rubrum — T. mentagrophytes — Glucosamin, Galaktose, Glukose, Mannose, Ribose — E. floccosum — T. megninii

mit Ausnahme des H-Extraktes von M. canis Glucose als Hauptbestandteil nachweisen. Auch Mannose war bei der Mehrzahl der geprüften Extrakte deutlich zu identifizieren. Nur der FULLER-Extrakt von T. megninii sowie die H-Extrakte von E. floccosum und K.ajelloi wichen von dieser Regel insofern ab, daß sie Mannose nur in Spuren besaßen. Der Gehalt an Galaktose war dagegen bei den einzelnen Pilzarten und bei den verschiedenen Extraktionsverfahren sehr unterschiedlich: Galaktose war meist nur in Spuren vorhanden. Zwischen den FULLER- und H-Extrakten bestanden nach ihrer chromatographischen Auftrennung keine grundsätzlichen Unterschiede in bezug auf die Monosaccharidzusammensetzung. Glucosamin konnte wahrscheinlich auf Grund der von uns angewandten Extraktionsverfahren nicht nachgewiesen werden, da Zellwände bei diesem Aufbereitungsverfahren sicher weitgehend unberücksichtigt blieben.

Abgesehen von geringen quantitativen Abweichungen in der Menge der vorhandenen Monosaccharide bestanden somit zwischen den Gattungen

Trichophyton, Mikrosporum und Epidermophyton keine Unterschiede, so daß eine Einordnung der Dermatophyten in sog. Chemotypen nicht möglich war. Dies stellte einen weiteren Beweis für die engen verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den einzelnen Dermatophytenarten und mit Ct. serratus EIDAM dar, wie wir dies auch in vorangegangenen serologischen Untersuchungen feststellen konnten (KIELSTEIN, 1966).

Zusammenfassung

Die Monosaccharidzusammensetzung serologisch aktiver Polysaccharidextrakte einiger Dermatophyten wird vergleichend beschrieben. Als Zucker konnten die Hexosen Glucose (Hauptbestandteil), Mannose und Galaktose identifiziert werden. Eine Einordnung der Dermatophyten mit Hilfe dieses Verfahrens in bestimmte Chemotypen ist ebenso wie eine serologische Klassifizierung nicht möglich.

Literatur

KIELSTEIN, P.: Vergleichende antigenanalytische Untersuchungen einiger Dermatophyten und Schimmelpilze mit Hilfe des Agargelpräzipitationstestes. Arch. exp. Veterinärmedizin **20**, 523 (1966).

Dr. med. vet. habil. PETER KIELSTEIN;
Dr. rer. nat. WILFRIED ERLER
69 Jena-Zwätzen,
Naumburger Str. 96 a