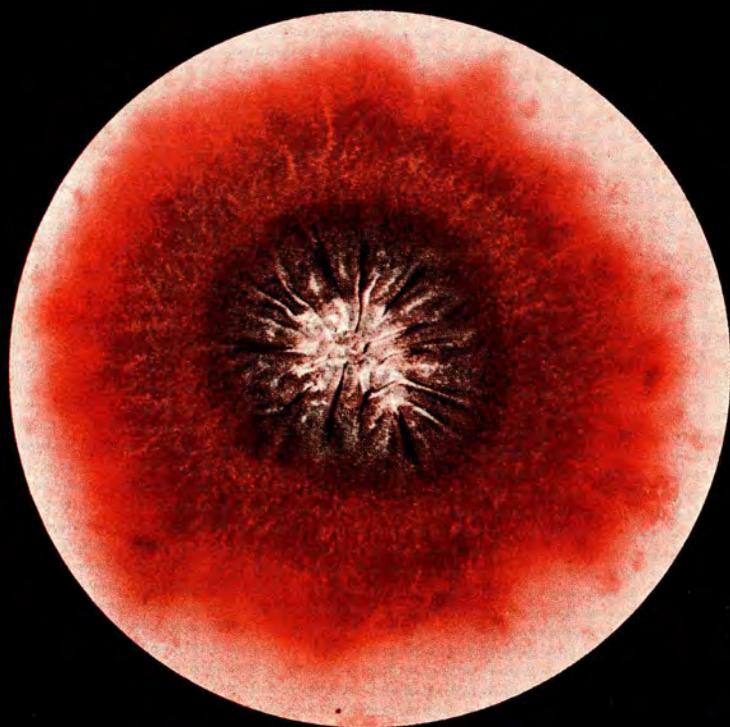


A 2547 E

mykosen

Herausgeber und Schriftleiter: Hans Götz, Essen, Heinz Grimmer, Wiesbaden
Detlev Hantschke, Essen, Wolf Meinhof, München, Hans Rieth, Hamburg



2/1970

1. Februar

Aus der Hautklinik der Medizinischen Fakultät Sofia
(Direktor: Prof. Dr. P. POPCHRISTOV)

Zur physiologischen Differenzierung einiger Dermatophyten und Schimmelpilzarten

VASSIL AL. BALABANOFF

Im Rahmen der vergleichenden physiologischen Untersuchungen der geophilen und pathogenen Dermatophyten, Gymnoascaceen und Schimmelpilzarten in Zusammenhang mit ihrer biologischen Differenzierung und die von uns s.g. physiologische Reduktion beim Übergang von Saprophytismus zum Parasitismus, haben wir einige Merkmale zur Differenzierung mancher Arten gefunden.

Material und Methode

Es wurden 71 Stämme von 18 Dermatophytenarten (5 geophile und 13 pathogene), 5 Gymnoascaceen- und 5 Dematiaceenarten und speziell *Trichophyton rubrum* (13 Stämme), *Trichophyton mentagrophytes* (10 Stämme), *Trichophyton interdigitale* (3 Stämme), *Microsporum ferrugineum* (9 Stämme), *Achorion Schönleinii* (4 Stämme), *T.(A.)Quinckeanum* (4 Stämme), *T.(A.)gallinae* (2 Stämme) und *T.Mégninii* (1 Stamm) untersucht.

Die Differenzierung erfolgte mit 5 Nährböden der mikrobiologischen Routine, nämlich: Löffler-Serum, Methylenblau-milch, Nährgelatine, Stärkelösung (0,2% lösliche Stärke, 0,6% Dextrose) und Dextrosebouillon nach Sabouraud. Bebrütung bei 20° C.

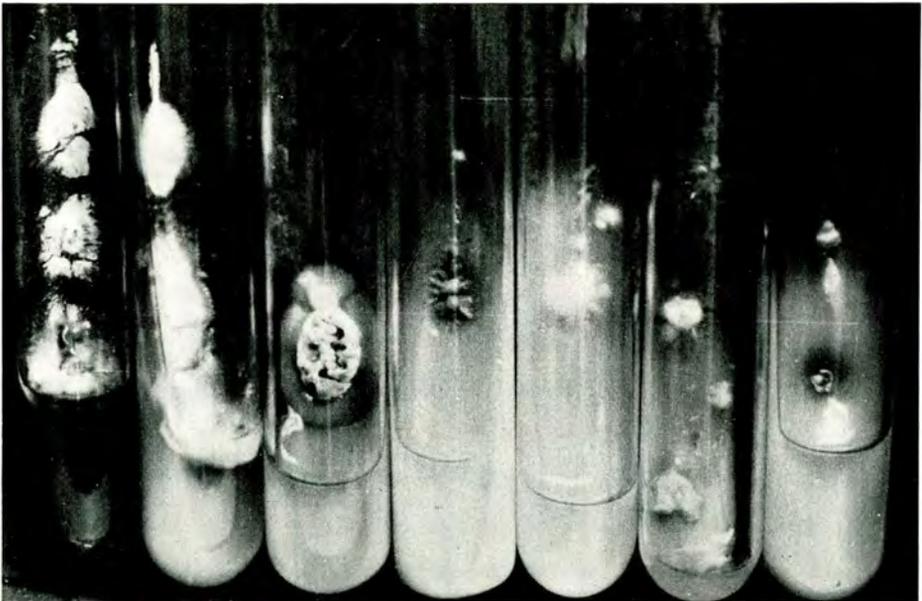


Abb. 1: Wachstum einiger Dermatophytenarten auf Löffler-Serum. Von links nach rechts — *M. Cookei*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* (faviformes Wachstum), *T. rubrum* (typus ferrugineum), *T. rubrum* (typus glabrum), *M. ferrugineum* und *A. Schönleinii*

Ergebnisse

Auf den geprüften Nährböden zeigten die untersuchten Dermatophyten und Schimmelpilzarten morphologische Eigentümlichkeiten, welche zur Differenzierung geeignet sind.

Tabelle I: Differenzierung zwischen *T.rubrum* und *T.mentagrophytes*

Nährmedium, 20° C	<i>T.rubrum</i>	<i>T.mentagrophytes</i>
Löffler-Serum	Schwaches Wachstum von zwei Varianten — a) glabrum und b) ferrugineum	Üppigeres Wachstum von a) faviformen (cerebriformen) und b) weißsamtigen Kolonien
Methylenblaulmilch	reduziert nicht oder reduziert nur selten spät	reduziert früh, peptonisiert manchmal
Nährgelatine	schalenförmige, schwach ausgeprägte Verflüssigung. Die Ferrugineum-Variante ist an der Unterseite glänzend-orange verfärbt	Zylinderförmige Verflüssigung, 20—25 mm, m. sichtbarer Begrenzung von nicht verflüssigter Gelatine
Dextrosebouillon nach Sabouraud	Dreizoniges, oberflächliches Wachstum (seltener am Boden) 1. rostigbräunliche seidenschäumige Zone 2. hellere Zwischenzone und 3. burgunderrote Zone in der Nähe von Dextrosebouillon	Zweizoniges, oberflächliches Wachstum 1. hellere, gipsartige und flaumige Zone 2. braune, gefaltete an der Unterseite

Differenzierung zwischen *T.rubrum* und *T.mentagrophytes* (Tab. I)

Auf Löffler-Serum wächst *T.rubrum* (*T.r.*) in zwei deutlich trennbaren Varianten — a) Typus glabrum mit Cremefarbe, die der von *T.violaceum* var. *glabrum* ähnlich ist, b) Typus ferrugineum mit orangerostiger Farbe und asteroiden Ausläufern (**Abb. 1**). *T.mentagrophytes* (*T.m.*) wächst in glatten oder weißsamtigen Kolonien mit verhältnismäßig gut begrenztem Rand (Siehe **Abb. 1**). Die *T.(E.)interdigitale*-Kolonien bilden weniger gefaltete, feingipsartige weißliche Rasen, welche sich an der Oberfläche der Nährböden ohne scharfe Grenzen ausbreiten. Manchmal zeigen sie eine schwache proteolytische Wirkung, indem sie im Agar einsinken. *T.m.* ist dagegen scharf begrenzt in gut gebildeten faviformen Kulturen — phylogenetisches Merkmal einer höheren biologischen Differenzierung. *T.(A.)Quinckeanum* wächst glatt cerebriform, nicht so gut begrenzt wie *T.mentagrophytes*. *T.(A.)gallinae* wächst faviform, aber mit weniger ausgeprägter proteolytischer Aktivität im Vergleich zu *A.Schönleini*.

T.r. und *T.gallinae* reduzieren Methylenblau nicht (oder spät nach 21 Tagen), *T.m.* und *T.Quinckeanum* reduzieren es dagegen noch in der ersten Woche, manchmal mit Peptonisierung (**Abb. 2**).

Auf Nährgelatine ist das Wachstum von *T.r.* und *T.m.* noch typischer. *T.r.* verflüssigt schwach und schalenförmig, *T.m.* — dagegen stärker und zylinderförmig (20—25 mm Gelatinesäule) mit ausgeprägter Begrenzung der verflüssigten Gelatine (**Abb. 3**). Die Varianten des Typus ferrugineum von *T.r.* haben eine glänzende orange Färbung an der Unterseite der schalenförmigen Verflüssigungszone, die Variante des Typus glabrum da-

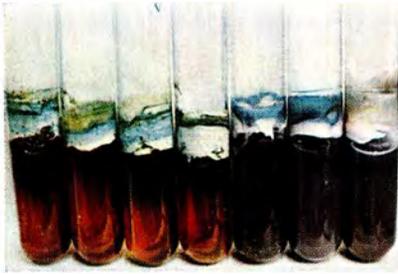


Abb. 2: Wachstum in Methylenblau. Von links nach rechts, phylogenetisch geordnet — Reduktion von Methylenblau durch die primitiven Arten: *T. terrestre*, *T. Vanbreuseghemii*, *M. gypseum* und *T. mentagrophytes*; keine Reduktion durch die höher differenzierten Arten: *T. rubrum*, *M. ferrugineum* und *A. Schönleinii*

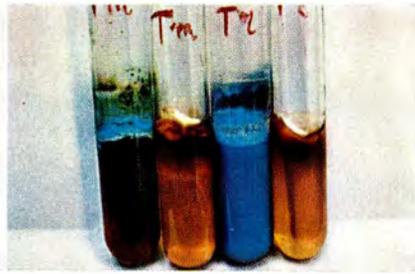


Abb. 3: Differenzierung auf Methylenblau-milch und auf Nährgelatine von *T. mentagrophytes* und *T. rubrum* (siehe Tab. I) — *T. m.* reduziert Methylenblau und verflüssigt zylindrisch Gelatine; *T. r.* reduziert Methylenblau nicht und verflüssigt schwächer, schalenförmig Gelatine

gegen nicht. Man kann annehmen, daß es sich um fixierte physiologische Varianten handelt.

Auf Stärkenährlösung wachsen einige *T.r.*-Kulturen oberflächlich seidenflaumig, schneeweiß oder mit zarter hellrosa Farbe, andere aber am Boden des Reagenzglases ohne diffusibles Pigment. *T.m.* wächst dagegen immer an der Oberfläche und sieht weiß-beige gipsartig und gefaltet aus. *T.m.* produziert in der Nährlösung ein hellbräunliches Pigment, vergleichbar mit gebranntem Zucker oder chinesischem Tee.

Auf Dextrosebouillon nach Sabouraud ist das Wachstum, wie wir es schon früher betont haben, von der Kolonienstruktur und von dem Adaptationsgrad der entsprechenden Dermatophytenart abhängig (Abb. 4) — 1) die wachsartigfaviformen und glatten, höher

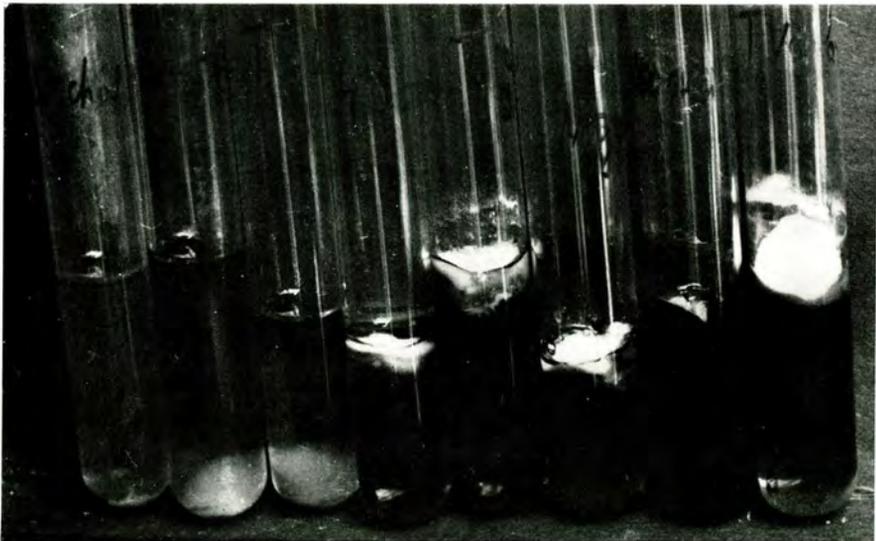


Abb. 4: Wachstum auf Stärkenährlösung. Von links nach rechts — Bodenwachstum — *A. Schönleinii*, *M. ferrugineum*; Boden- oder oberflächliches Wachstum — *T. rubrum*; stets oberflächliches Wachstum — *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *M. Cookei* und *T. Vanbreuseghemii*

differenzierten Arten wachsen am Boden der Nährbouillon; 2) die samtigen und flaumigen „weißen“ Grenzformen, wie T.r., wachsen oberflächlich oder manchmal am Boden (besonders wenn man Agarpartikel mit der Öse einführt); 3) die primitiven gipsartigen oder wolligen Formen, die stets oberflächlich wachsen.

Die Untersuchungen der Wachstumsart auf Dextrosebouillon nach Sabouraud (mit KASAROV) zeigten, daß T.r. auf der Oberfläche in drei Zonen wächst (Abb. 5) — eine obere seidenförmige, rostbräunlich gefärbte, die 3—4 mm breit ist, mit feinstrahligen Ausläufern an der Wand des Reagenzglases, eine hellere, weiße Zwischenzone und eine untere weinrote. Die rote Farbe von T.r. fehlt auf allen Nährböden ohne Mono- und Polysaccharide (Dextrose, Maltose, Honig, Mais u. a.). T.m. und T.interdigitale wachsen immer oberflächlich und nur in zwei Zonen — die obere ist gipsartig-flaumig gefaltet und hellbeige mit langen Ausläufern an der Glaswand, wie mit Mehl bestäubt (Reichtum an Aleurien oder in Traubenformen); die untere Zone in der Nähe der Dextrosebouillon ist braun bis dunkelbraun und stark gefaltet, besonders bei T.m. und weniger bei dem ihm verwandten T.(E.)interdigitale.

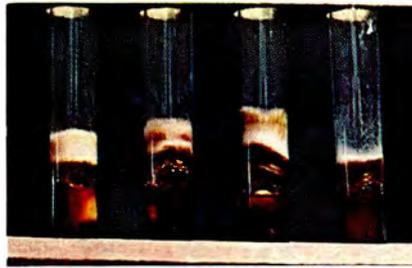


Abb. 5: Wachstum auf Dextrosebouillon nach Sabouraud von *T. mentagrophytes* (rechts), *T. rubrum* (zwei Kulturen in der Mitte) und *T. interdigitale* (links)

Tabelle II: Differenzierung zwischen *M.ferrugineum* und *A.Schönleinii*

Nährmedien, 20° C	<i>M.ferrugineum</i>	<i>A.Schönleinii</i>
Löffler-Serum	Verhältnismäßig üppiges, cerebriformes, glattes oder feinsamtiges Wachstum (weiße Varietät)	Schwaches, faviformes Wachstum mit tiefer kreisförmiger Verflüssigung (gut ausgeprägte proteolytische Aktivität)
Methylenblaumilch	keine Reduktion oder spät beginnende Reduktion bei den weißen Varietäten	Keine Reduktion
Nährgelatine	schwachausgeprägte Verflüssigung — leicht trichterförmig und schwaches Wachstum	Zylinderförmige Verflüssigung (20—25 mm) mit schwanmartiger, gut entwickelter Kultur an der Oberfläche

Differenzierung zwischen *M.ferrugineum* und *A.Schönleinii* (Tab. II)

Auf Löffler-Serum wächst *M.ferrugineum* (M.f.) in zwei Varianten: a) cremefarbig, cerebriform gefaltet, und b) wenig gefaltet, heller mit weißlichem, feinsamtigem Myzel an

der Oberfläche der Kultur, die den weißen Varietäten von *M.f.* entspricht. *A.Schönleinii* (*A.sch.*) wächst schwächer, aber mit ausgeprägter proteolytischer Potenz (Siehe *Abb. 1*). Die Kulturen durchwachsen das Löffler-Serum bis zur Glaswand und bilden charakteristischen Saum oder Halo. Die Kolonien, die am oberen, dünn-schichtigen Teil des Löffler-Serum wachsen, sind atypisch. Das gilt auch für die anderen Dermatophyten.

A.sch. reduziert Methylenblau nie. *M.f.* reduziert es auch nicht. Die Reduktion kann aber später eintreten, besonders bei den weißen Varietäten.

Auf Stärkenährlösung wächst *M.f.* sparsam am Boden des Reagenzglases. *A.sch.* sinkt auch ein oder wächst üppiger an der Oberfläche, einem weißsamtigen, starkgefalteten Kuchen vergleichbar. Ein Stamm bildete ein hellgrünlisches Pigment.

Auf Nährgelatine wächst *M.f.* spärlich als Klümpchen und sinkt schnell tief in den Nährboden ein, wenn es von Agarpartikelchen begleitet wird. Die Verflüssigung ist verhältnismäßig schwach. *A.sch.* wächst üppiger wie ein Schwamm an der Oberfläche, kann aber einsinken. Es erzeugt aber eine ausgeprägte zylinderförmige Verflüssigung der Nährgelatine (20—25 mm) mit sichtbarer Grenze.

Der Erreger einer Chromomykose in Bulgarien (*Fonsecaea* oder *Aureobasidium* sp.? Stamm No 91) aus einer verrukösen Läsion von uns isoliert, ist von apathogenen *Dematiaceae* (*Hormodendrum*)-Arten deutlich auf den verwendeten Nährmedien differenzierbar (*Abb. 6* und *Abb. 7*) — reduziert nicht Methylenblau und verflüssigt nicht Gelatine.

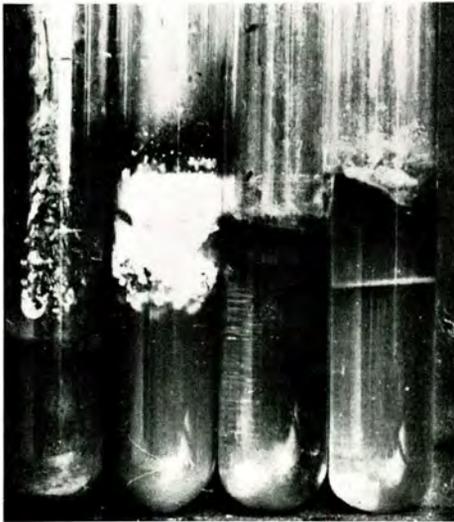


Abb. 6: Wachstum von *Hormodendrum* sp. (Saprophyt) auf den geprüften Nährmedien — reduziert Methylenblau und verflüssigt Gelatine

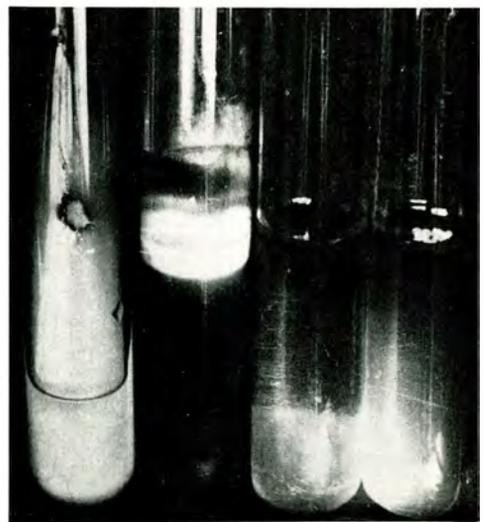


Abb. 7: Wachstum von *Fonsecaea* sp. No 91 (Erreger einer Chromoblastomykose) auf den geprüften Nährmedien — reduziert nicht Methylenblau und verflüssigt nicht Gelatine

Ctenomyces serratus und *Chrysosporium keratinophilum* wachsen auf Löffler-Serum als kleine, rundliche Scheiben, wachstümlich, in großer Zahl zerstreut über das ganze Nährmedium und verursachen eine mäßig ausgeprägte Verflüssigung. Dieses eigenartige physiologische Verhalten unterscheidet sie von den anderen uns zur Verfügung stehenden

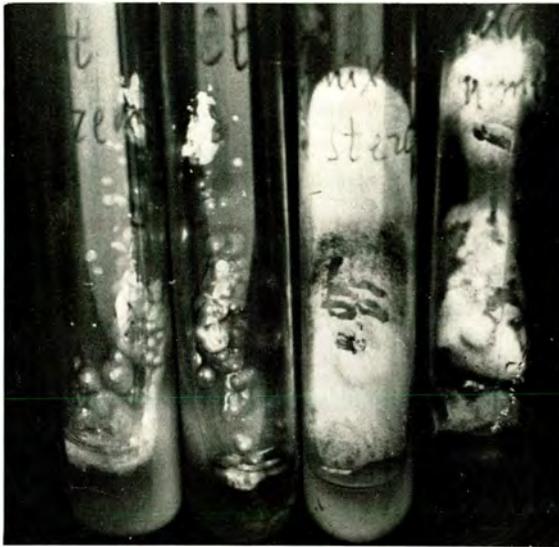


Abb. 8: Wachstum von *Ctenomyces serratus* und *Chrysosporium keratinophilum* auf Löffler-Serum in Vergleich mit *Anixiopsis stercoraria* und *Auxantron umbrinum*

Gymnoascaceen (freundlicherweise von Dr. BÖHME-Charité-Berlin überlassen) und anderen Schimmelpilzarten (Abb. 8).

Die primitiven, geophilen Dermatophyten — *T.terrestre*, *T.Vanbreuseghemii*, *M.Cookei* und die Übergangsformen *M.gypseum* und *T.mentagrophytes* reduzieren das Methylenblau. Die höher differenzierten, engspezialisierten zoophilen und humanen Arten — *M.nanum*, *T.(A.) gallinae*, *T.rubrum*, *M.ferrugineum*, *T.tonsurans*, *T.violaceum* und *A.Schönleinii* reduzieren es dagegen nicht oder spät. Durch eine vergleichende Untersuchung des Vitaminbedarfs der pathogenen und saprophytären Dermatophyten erreichen wir noch vollständigere und genauere phylogenetische Differenzierung, denn der Mangel einer guten enzymatischen Equipierung der höher differenzierten, auxotrophen Arten geht parallel mit den erhöhten Vitaminbedürfnissen beim Parasitismus, die von uns als *physiologische Reduktion* bezeichnet wurden.

Die komplette Charakterisierung der pathogenen Art, wie wir es schon betont haben, beruht auf der Gesamtheit aller diagnostischen Merkmale — Mikro- und Makromorphologie, physiologisch-biochemischen Eigenschaften, Parasitologie (Klinik) und epidemiologischem Verhalten.

Zusammenfassung

Die physiologischen Untersuchungen auf Löffler-Serum, Methylenblaumilch, Gelatine, Stärkelösung und Dextrosebouillon nach Sabouraud einiger schwerdifferenzierbarer Dermatophytenarten — *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes*; *Microsporum ferrugineum* und *Achorion Schönleinii*, sowie andere apathogener und pathogener Dermatophyten und Schimmelpilzarten —, geben die Möglichkeit zu ihrer genaueren Bestimmung und ihrer phylogenetischen Systematisierung. Diese Ergebnisse stehen in Zusammenhang mit der physiologischen Spezialisierung und Reduktion der höher differenzierten, pathogenen Arten unter dem Einfluß des Parasitismus.

Anschrift des Verfassers: Doc. Dr. med. habil. V. A. BALABANOFF, Fr. Nansenstr. 5, Sofia, Bulgarien