EINFÜHRUNG IN DIE ALLGEMEINE MYKOLOGIE

Pilze sind Eukaryonten und gehören zu den Thallophyten. Sie stehen in der Evolution sehr niedrig, d. h., sie haben keine Einteilung in Wurzel, Stängel und Blüten. Sie bilden einen Thallus (Pilzkörper) aus. Im Gegensatz zu Pflanzen und zu Algen sind sie heterotroph und somit nicht zur Photosynthese fähig. Sie müssen organische Moleküle aufnehmen bzw. sind abhängig von organischen Kohlenstoffsubstraten.
Einige Pilze leben als Saprophyten und beziehen ihre Nährstoffe aus totem organischem Abfall, andere leben als Symbionten oder Parasiten.

Pilze sind weit verbreitet in unserer Umwelt. Sie werden auf ungefähr 200.000 Arten und mehr geschätzt, aber nur einige wenige hundert sind pathogen für Mensch und Tier oder treten als Opportunisten auf.
Einige Arten leben als Kommensale im Gleichgewicht mit dem Wirt, dringen aber im Falle von Abwehrschwächen bzw. Immundefiziten tiefer in den menschlichen Organismus ein, wobei sie immer häufiger als Opportunisten auftreten und endogene Mykosen auslösen können, während andere, von außen eindringende Arten, exogene Mykosen verursachen.

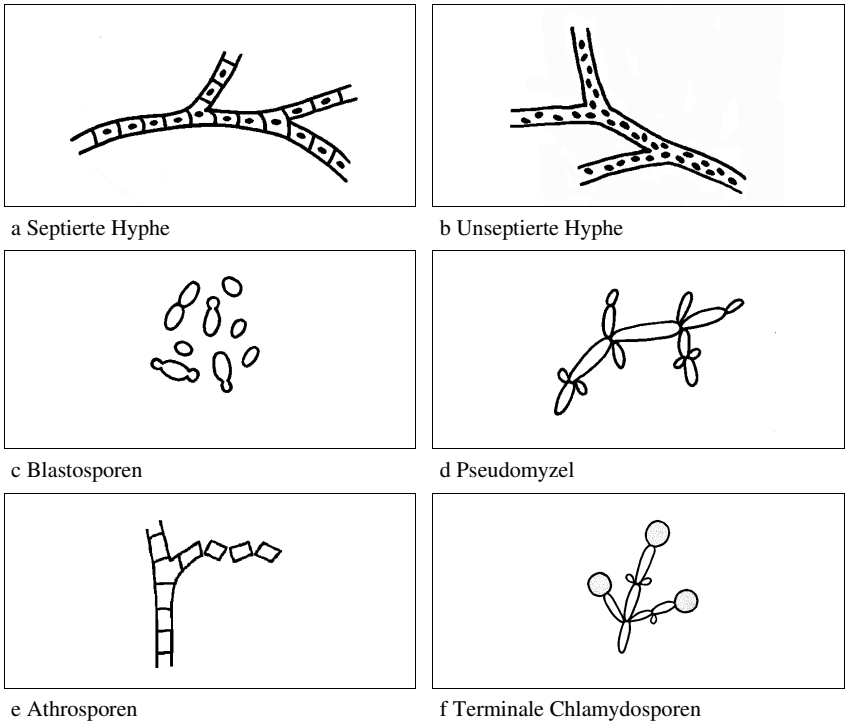
Bei der Einteilung der Pilze unterscheiden wir zunächst zwei große Gruppen: die *Fadenpilze* (Schimmelpilze) und die *Sprosspilze* (Hefen).

Fadenpilze bilden fadenähnliche Zellen, genannt Hyphen, aus. Diese können unseptiert (ohne Zellwand) und vielkernig sein. Sie sind charakteristisch für niedere Pilze. Bei höher entwickelten Pilzen sind die Hyphen septiert (einzelne Zellen sind durch Querwände getrennt), wie beispielsweise bei Basidiomyzeten.
Bei den Ascomyzeten weisen die Septen wiederum kleine Löcher auf, durch die die Kerne hin und her fließen können.
Substrathyphen sind Hyphen, die in den Agar hineinwachsen, um organische Nährstoffe aufzunehmen. Lufthyphen erheben sich frei in den Luftraum und bilden Sporen für die Fortpflanzung aus.
Durch Vermehrung und Verzweigung der Hyphen entsteht ein Geflecht. Dieses wird als Myzel bezeichnet. Demzufolge spricht man auch von Substratmyzel und Luftmyzel.

Sprosspilze bestehen aus runden bis ovalen Zellen (Blastosporen), die entweder einzeln, in Haufen oder kettenartig gelagert sind.
Einige Stämme können durch Längsstreckung der Zellen ein Pseudomyzel bilden. Echtes Myzel ist nur in Ausnahmefällen vorhanden.

Es gibt Pilze, die als Fadenpilz und auch als Sprosspilz wachsen. Der Gestaltwechsel scheint temperaturabhängig zu sein. In ihrer parasitären Phase oder im Labor bei 37°C wachsen sie in Hefeform, während sie in ihrer saprophytären Phase oder im Labor bei 24°C Myzel bilden. Diese Zweigestaltigkeit wird als „thermaler Dimorphismus“ bezeichnet.

Fadenpilze und Sprosspilze können Chlamydosporen ausbilden. Dieses sind rundliche, lichtbrechende Sporen, die durch eine dickere Zellwand eine längere Lebensdauer haben. Vermutlich sind sie gegenüber Umwelteinflüssen widerstandsfähiger.
Terminale Chlamydosporen sitzen endständig; interkalare Chlamydosporen sitzen zwischen den Hyphen bzw. zwischen den Pseudohyphen.



a Septierte Hyphe
b Unseptierte Hyphe
c Blastosporen
d Pseudomyzel
e Athrosporen
f Terminale Chlamydosporen

Abb. 1 a - f Pilz- und Sprosspilzformen

Klassifikation

Eine weitere Einteilung der Pilze erfolgt nach einer hierarchischen Systematisierung in Abteilung, Klasse, Ordnung, Familie, Gattung und Spezies.
Obwohl die wirklich pathogenen Pilze nur in wenigen taxonomischen Gruppen vertreten sind ist eine Einteilung der Pilze schwierig.
Schwierigkeiten bereiten unter anderem Pilze, die sich schwer in eine bestimmte Klasse oder Ordnung einreihen lassen, Namensänderungen von Pilzen, Verschiebung von Pilzen in andere Klassen, Hauptfruchtformen (siehe Vermehrung von Pilzen), die später gefunden wurden, Neuentdeckungen von Pilzen, etc.

Grobe Übersicht zur Klassifikation:

1. Niedere Pilze
2. Höhere Pilze
   - Ascomyzeten (Schlauchpilze)
   - Basidiomyzeten (Ständerpilze)
   - Deuteromyzeten (imperfekte Pilze)

Die niederen Pilze, früher als Phycomyzeten bekannt, bilden keine Querwände aus, das heißt ihr Myzel ist weitgehend unseptiert und mehrkernig. Heute werden sie in mehrere Klassen eingeteilt, wobei die Klasse der Zygomyzeten jetzt den höheren Pilzen zugordnet wird.
Höhere Pilze wie Asco-, Basidio- und Deuteromyzeten sind Pilze mit septiertem Myzel, wenn vorhanden.
Die Einteilung der Pilze erfolgte bisher nach weiteren biologischen Gesichtspunkten, wie unter anderem der Art ihrer Vermehrung. Die Deuteromyzeten stellten eine Sonderklasse dar. Hierunter wurden alle Pilze zusammengefasst, die keine perfekte Form (Hauptfruchtform) besitzen oder deren Hauptfruchtform bisher nicht gefunden wurde.

Aufgrund dessen konnte ein Pilz mehrere Namen tragen. Die imperfekte (asexuelle) Form und die perfekte (sexuelle) Form eines Pilzes hatten je ihren eigenen Namen: so schreibt ein Autor beispielsweise über den Pilz *Candida sphaerica*, an anderer Stelle finden wir den selben Pilz unter dem Namen *Kluyveromyces lactis*. Diese doppelte Namensgebung wurde 2013 außer Kraft gesetzt, da sie hauptsächlich auf der morphologischen Identifizierung der asexuellen und der sexuellen Fruchtformen basierte.
Aus molekulargenetischer Sicht trifft dies nun nicht mehr zu; vor diesem Hintergrund sind beide Formen identisch. Heute werden Pilze phylogenetisch klassifiziert und nur noch mit *einem* Namen versehen nach der Regel: *One fungus - one name*.

Rangordung der Pilze und ihre Endungen:

- Reich: Fungus
- Abteilung: - mycota
- Unterabteilung: - mycotina
- Klasse: - mycetes
- Unterklasse: - mycetidae
- Ordnung: - ales
- Familie: - aceae
- Gattung variabel
- Art

Die folgende Tabelle ist unvollständig und beinhaltet zum einen nicht die gesamte taxonomische Einordnung der einzelnen Pilze und zum anderen (von einigen Ausnahmen abgesehen) nur die Gattungen, die in diesem Buch beschrieben werden.

Tab. 1 Vereinfachte taxonomische Einteilung der Pilze

Mucoromycotina:

	Familie	Gattung/Spezies
- Mucorales	Mucoracae	Mucor, Absidia, Rhizomucor, Rhizopus
	Cunnighamellacae	Cunnighamella bertholletiae
	Syncephalastraceae	Syncephalstrum racemosum

Ascomyzeten:

- Pezizomycotina	Pleosporaceae	Alternaria,
	Arthrodermataceae	Trichophyton, Epidermophyton, Mikrosporum
	Aspergillaceae	Aspergillus, Penicillium
	Nectriaceae	Fusarium
	Ajellomycetaceae	Histoplasma, Blastomyces
	Microascaceae	Scopulariopsis, Scedosporium
- Saccharomycotina	Debaryomycetaceae	Candida, Debaryomyces
	Saccharomycetaceae	Cyberlindnera, Kluyveromyces, Torulaspora,Saccharomyces, Zygosaccharom.
	Dipodascaceae	Galactomyces, Geotrichum, Yarrowia
	Pichiaceae	Pichia

Basidiomyzeten:

- Hymenomyzeten		Waldpilze
- Ustilaginomyzeten		Brandpilze
	Malasseziaceae	Malassezia
- Urediniomyzeten	Sporidiobolaceae	Rhodotorula, Sporobolomyces
- Agaricomyzeten	Cryptococcaceae	Cryptococcus
	Trichosporonaceae	Trichosporon

Deuteromyzeten (obsolet):

- Blastomyzeten	Cryptococcacae	Candida-, Cryptococcus-, Trichosporon spp.
- Hyphomyzeten		Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccioides, Sporothrix, Aspergillus spp.

Vermehrung

Alle Pilze können sich sexuell oder asexuell vermehren.

Die asexuelle, vegetative, somatische oder ungeschlechtliche Fortpflanzung kann auf unterschiedliche Weise geschehen:
Bei den Hefen entstehen Blastosporen durch Sprossung. Hierbei bildet die Mutterzelle eine Tochterzelle durch Herausstülpen der Zellwand aus, auch Knospung genannt. Durch eine Mitose kommt es zur Kernteilung. Die Tochterzelle wird ab einem gewissen Reifegrad von der Mutterzelle abgeschnürt.

Die Sprosszelle kann an unterschiedlichen Stellen der Mutterzelle entstehen:
- mono- oder unipolare Sprossung: an einer Stelle der Zelle oder einem Pol,
- bipolare Sprossung: an beiden Polen der Zelle,
- multilaterale Sprossung: mehrfach an beliebiger Stelle der Zelle.

Athrosporen (Gliedersporen) entstehen durch den Zerfall von Hyphen.
Ballistosporen werden mit Hilfe eines Tröpfchenmechanismus aus einer Stielzelle abgeschleudert.

Bei den Fadenpilzen findet die vegetative Sporenbildung an den Lufthyphen statt. Konidiosporen bilden sich zum Beispiel bei den Aspergillen auf ein- oder zweireihigen Sterigmen. Endosporen werden im Sporangium gebildet (Zygomyzeten).

Die sexuelle, generative oder geschlechtliche Fortpflanzung geht immer mit einer Meiose einher. Am Beispiel der Zygomyzeten (heute: Mucoromycotina) entsteht durch Verschmelzung einer weiblichen mit einer männlichen Gametangie (haploid) eine diploide Zygote. Durch eine anschließende Reduktionsteilung (Meiose) entstehen neue Geschlechtszellen mit einem haploiden Chromosomensatz (Zygosporen).
Weitere sexuelle Sporen sind beispielsweise Ascosporen, Basidiosporen oder Oosporen.

Die Fruchtform der asexuellen Vermehrung nennt man Nebenfruchtform, die der sexuellen Vermehrung Hauptfruchtform. Man spricht auch von der imperfekten Form (anamorph) und der perfekten Form (teleomorph).
Pilze, die keine Hauptfruchtform besitzen oder deren Hauptfruchtform bisher nicht bekannt ist, fasst man unter *Fungi imperfecti* zusammen.

Im Labor werden fast immer die vegetativen Formen gezüchtet. Für die Labordiagnose haben die asexuellen Fruktifikationsorgane auch den größten Stellenwert.

KAPITEL 1

Sprosspilze

Hefen sind einzellige Lebewesen, die sich von Bakterien durch den Besitz eines Zellkerns unterscheiden. Sie vermehren sich asexuell durch Sprossung oder sexuell durch die Bildung von Ascosporen (siehe Einführung in die Allgemeine Mykologie: Vermehrung von Pilzen). Einige Hefen besitzen keine Art der sexuellen Vermehrung bzw. die Bildung sexueller Sporen ist nicht nachweisbar. Diese Pilze bezeichnet man auch als *imperfekte Pilze*.

Hefen sind weit verbreitet und kommen v. a. in zuckerhaltigen Produkten wie Obst, Fruchtsaft, Wein, Bier, aber auch in Gemüse und Milch, vor.

Gesunde Menschen erkranken hieran in der Regel nicht. Deshalb muss nicht jede Anzucht von Hefen aus klinischem Material von pathogener Bedeutung sein. Der Arzt muss, je nach Menge, Lokalität, Spezies der Hefen oder Abwehrschwäche, Therapieversagen und Krankheitsbild des Patienten, über eine Antimykotikatherapie entscheiden.

Anzucht
Mögliche Nährmedien
- Sabouraud-Glukose-Agar
- Kimmigagar
Bebrütung bei 37°C und 30°C

Grampräparat
Im Grampräparat färben sich Pilze dunkelblau an. Sie lassen sich anhand ihrer Größe, Sprossung oder Myzelbildung gut von Bakterien unterscheiden.

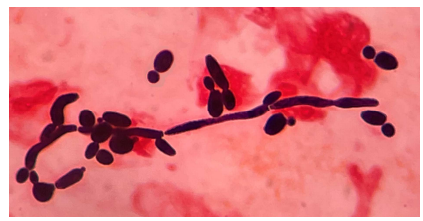


Abb. 2 Sproßpilze im Grampräparat

Identifizierung

Liegen die Hefen nicht in Reinkultur vor sollte eine Isolierung vorgenommen werden.

Makroskopische Merkmale
Die makroskopische Beurteilung kann nur zur Identifizierung hinzugezogen werden, sollte aber nie alleiniges Identifizierungsmerkmal sein.
Beurteilt wird die Beschaffenheit der Kolonie: flach, konvex, cremig, trocken, matt, glänzend, faltig etc., die Farbe der Kolonie: cremefarben, weiß, grau oder ob Pigmentierungen vorhanden sind sowie die Myzelbildung. Manchmal kann auch der Geruch charakteristisch für eine Spezies sein.
In Flüssignährmedien können Hefen mit oder ohne Kahmhaut wachsen, eine Wandhaut bilden, krümeliges oder trübes Wachstum zeigen. Mit zunehmendem Alter verändern viele Hefen ihre Konsistenz und Farbe, was die Beurteilung erschwert. Nur wenige Spezies haben für sich typische Merkmale.

Temperaturwachstumskontrolle
Die meisten pathogenen Hefen wachsen bei 37°C. Die Wachstumskontrolle ist aber auch eine Identifizierungshilfe und dient der Erkennung von thermal dimorphen Pilzen. Deshalb sollten alle angezüchteten Hefen auf Wachstum bei 37°C getestet werden. Gegebenenfalls können auch Kontrollen bei 40°C oder 45°C richtungsweisend sein. Mit einem Wachstumstemperatursprektrum wird die Maximaltemperatur ermittelt, bis zu der Hefen noch wachsen.

Keimschlauchtest
Der Keimschlauchtest ist ein einfacher und zugleich kostengünstiger Nachweis zur Schnelldiagnose von C. albicans. Bereits am Tag der Anzucht können ca. 90% aller C. albicans-Fälle identifiziert werden, ohne kommerzielle Test-Kits einsetzen zu müssen. Keimschlauch-negative C. albicans-Stämme können durch Chrom- oder Reisagar nachgewiesen werden.
In einige Tropfen Serum etwas Hefematerial einrühren und 2-3 Stunden bei 37°C bebrüten.

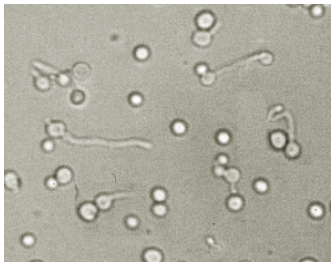


Abb. 3
Keimschlauchtest: C. albicans

Einen Tropfen davon auf einen Objektträger geben und mit Deckglas (Objektiv 1:40) mikroskopisch beurteilen. Blastosporen von C. albicans bilden in dieser Zeit einen schlanken Faden (Keimschlauch) aus. Der Test ist bei zu langer oder bei Übernachtbebrütung nicht mehr beurteilbar. Einige andere Candida-Arten können dann ebenfalls ein Keimschlauch-ähnliches Gebilde entwickeln. Dieses ist meist dicker als das von C. albicans, zudem befindet sich an der Verbindungsstelle von Blastospore und „Keimschlauch“ eine Einschnürung (3). Die Zellen (Blastosporen) anderer Candida-Arten können sich weiterhin in ihrer Größe von C. albicans unterscheiden. Für unerfahrenes Personal ist es deshalb ratsam, einen C. albicans-Stamm als Kontrolle mitzuführen.

Anmerkung: Nicht alle Isolate von C. albicans sind Keimschlauch-positiv.