

Gesundheitliche Aspekte von Schimmelpilzbefall bei Nässeschäden in Gebäuden

Leseranfrage von Dr. med. T. S. aus S.

Frage

1. Ist es zutreffend, dass Schimmelpilzbildung in der Wohnung nur dann eine Gesundheitsgefährdung darstellt, falls die vorhandenen Schimmelpilze toxinbildend sind?
2. Welche toxinbildende Schimmelpilze kämen hierfür in Frage?
3. Gibt es außer dem Schwärzepilz *Alternaria tenuissima* noch andere Schimmelpilze, welche bei Innenräumen als Wandschimmel in Frage kommen?
4. Mit welchen Untersuchungsmethoden kann der in Frage kommende Schimmelpilz nachgewiesen werden – a) in vitro oder b) in vivo?
5. Welche Nachweismethoden stehen für die Toxinbildung von Schimmelpilzen zur Verfügung?

Antwort

Zu 1.: *Schimmelpilze – Vorkommen und Reservoir*

Schimmelpilze, manchmal auch allgemein als Fadenpilze bezeichnet, kommen ubiquitär vor, wobei viele Vertreter ein terrestrisches/geophiles Reservoir haben. Einige Fadenpilze sind wirtsadaptiert, das betrifft unter anderem die Dermatophyten (Hautpilze sind an den Menschen oder bestimmte Tiere angepasst) (1). Reservoir für die eigentlichen Schimmelpilze sind abgestorbene organische Materialien, unter anderem Holz, nasse Tapeten (Nässeschaden in Wohnräumen) (Abb. 1),



Abb. 1: Nässeschaden des Putzes beziehungsweise Anstrichs der Decke in einem Bad eines Hotels. Die feuchte Bausubstanz ist mit einzelnen und konfluierenden Kolonien eines oder mehrerer Schwärzeschimmelpilze bewachsen

Biotonne, altes Obst, Getreide, Nüsse und Blumentopferde (2).

Die Fortpflanzungsformen der Schimmelpilze – Sporen beziehungsweise Konidien – sind ebenfalls ubiquitär verteilt. In der Außenluft muss man von April bis Oktober mit bis zu 1.000 *Alternaria*-Sporen/m³ rechnen (Abb. 2), außerdem mit bis 15.000 *Cladosporium*-Sporen/m³. Dagegen können in Innenräumen 50–100 Sporen/m³ nachgewiesen werden, 1–2% (bis 6%) davon sind *Aspergillus*-Sporen.

Neben der schädigenden Wirkung durch Mykotoxine, welche nach wie vor kontrovers diskutiert wird, sind diverse andere gesundheitsschädigende Wirkungen von Schimmelpilzen in Innenräumen zu bedenken. Diese werden hier im Folgenden abgehandelt.

Unspezifische Schädigung der Schleimhäute des Respirationstrakts durch Schimmelpilzsporen und deren organische Stoffwechselprodukte

In wassergeschädigten, mit Schimmelpilzen befallenen Gebäuden besteht eine erhöhte Exposition gegenüber verschiedenen Substanzen und Mikroorganismen, unter anderem Pilzsporen, Bakterien, toxischen Metaboliten, Hausstaubmilben und flüchtigen organischen Substanzen. Diese Agentien können Schleimhautirritationen, Schleimhautödeme (Schwellungen) und Entzündungen hervorrufen, mit der Folge, dass virale und bakterielle Infektionen entstehen (3). Es wurde darüber hinaus gezeigt, dass betroffene Patienten, an erster Stelle sind das Kinder, häufig an rezidivierenden respiratorischen Infektionen leiden, die auch antibiotischer Therapie bedürfen (4).



Abb. 2: Große, längs und quer gekammerte, dickwandige, braungefärbte, keulenförmige Makrokonidien von *Alternaria alternata*. Tesa-Abriß-Präparat von der Pilzkultur, gefärbt mit Lactophenol-Baumwollblau-Lösung

Von entscheidender Bedeutung ist die erst seit wenigen Jahren in den Mittelpunkt des Interesses gerückte nicht-allergische Schädigung vorzugsweise des Respirationstrakts infolge Exposition zu Pilzelementen. Das sogenannte »Organic Dust Toxic Syndrome« (ODTS) geht einher mit Atembeschwerden, Bronchitis sowie Asthma und wird zunehmend bei Pilzbefall zu Hause, aber auch in der Arbeitsumwelt beschrieben (5). Ursache scheinen die durch Schimmelpilze gebildeten flüchtigen organischen Substanzen – »Microbial Volatile Organic Compounds« (MVOC) – zu sein.

Noch nicht umfassend geklärt ist, wie diese sogenannten MVOC zu dieser Schädigung beitragen. MVOC sind Verbindungen mit Siedepunkten von 0–250 °C, unterteilt in die Gruppe der »Very Volatile Organic Compounds« (VVOC) und der VOC (6). Die MVOC können einem breiten Spektrum unterschiedlicher chemischer Stoffklas-

sen zugeordnet werden, wie zum Beispiel den Alkanolen, Alkenolen, Ketonen, Terpenen, Aldehyden, Alkanen, schwefelhaltigen Verbindungen, Ethern, Estern, Karbonsäuren und anderen. Bisher sind zirka 30 solche von Schimmelpilzen gebildete Verbindungen identifiziert worden, erkennbar übrigens am muffigen Geruch in Schimmelpilz-belasteten Räumen.

Allergologische Relevanz von Schimmelpilzen in Innenräumen

Es ist allgemein akzeptiert, dass einer erhöhten Keimbesiedlung, wie sie zum Beispiel infolge schlecht gepflegter Klimaanlage, aber auch bei nasser Baustoffsubstanz auftritt, allergologische Bedeutung zukommt.

Die Sporen vieler Schimmelpilze – zum Beispiel *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. sowie *Penicillium* spp. – sind potente Allergene und im Einzelfall verantwortlich für eine Rhinitis allergica, Conjunctivi-

tis allergica, Rhinosinusitis allergica, allergisches Asthma bronchiale oder die exogen allergische Alveolitis und die sogenannte allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) (7).

Schimmelpilzelemente sowie andere organische Substanzen können bei 10–30% der dauerhaft exponierten Personen zu allergischen Reaktionen führen, wenn sie in die Raumluft gelangen. Als Begleit- oder unterschwellige Reaktionen auf Allergene können im Übrigen auch unspezifische Beschwerden wie Abgeschlagenheit und Kopfschmerzen auftreten.

Mykotoxikosen durch Schimmelpilze
Einige Schimmelpilz-Arten, manchmal auch nur einzelne Stämme innerhalb einer Art, sind in der Lage, komplexe sekundäre Stoffwechselprodukte, die Mykotoxine, zu bilden. Diese meist heterozyklischen Verbindungen müssen in höheren Konzentrationen vorliegen, um eine entsprechende toxische Reaktion hervorrufen zu können. Im Gegensatz dazu kommt es zu Sensibilisierungen und allergischen Reaktionen auf Schimmelpilzsporen und ihre Bestandteile auch unabhängig von der Konzentration oder Menge (9). Die bekannten Substanzgruppen der Mykotoxine sind Aflatoxine, Fumonisine, Ochratoxine, Gliotoxin und Trichothecene. In der Regel kommt es durch Ingestion, also Aufnahme der Mykotoxine mit verschimmelten Nahrungsmitteln (oder in der Landwirtschaft bei Tieren durch verschimmelteres Futter) zu Vergiftungserscheinungen. Ob die Exposition zu Mykotoxinen in nässegeschädigten Innenräumen ebenfalls zu einer manifesten gesundheitlichen, das heißt toxischen Schädigung bei den Bewohnern einer Wohnung führen kann, ist nicht klar. Das oben bereits erwähnte »Organic Dust Toxic Syndrom« (ODTS) wird auf die Inhalation von bakteriellen Endotoxinen und Mykotoxinen bei Exposition in mit Mikroorganismen belasteten Innenräumen zurückgeführt. In der Arbeitsumwelt scheint dieser Zusammenhang gesichert zu sein, in der Wohnumwelt vermutet man einen Zusammenhang.

Mykotoxine stimulieren die allergische Immunantwort beim Asthma im Tierversuch

Die Rolle von Mykotoxinen, den sekundären Metaboliten der Schimmelpilze für die Stimulierung der allergischen Immunantwort beim Asthma bronchiale, wurde kürzlich in einem Tiermodell (an Nagern) nachgewiesen (8). Dazu wurde sogenannten Balb/c-Mäusen über die Atemwege Gliotoxin und über den Darm Patulin verabreicht, die Tiere wurden zudem mit Ovalbumin sensibilisiert, und daraufhin in einem Asthma-Modell untersucht. Man fand heraus, dass sowohl Gliotoxin (Mykotoxin der Schimmelpilze *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Eurotium chevalieri* und *Gliocladium fimbriatum*), als auch das zum Beispiel in Apfelsaft vorkommende Mykotoxin Patulin die allergische Immunantwort in den Mäusen durch Veränderung des Th1/Th2-Verhältnisses über einen direkten Effekt auf die IL-12-Sekretion sowie durch verstärkten oxidativen Stress ankurbeln.

*Diffuse pulmonale Hämorrhagie bei Kindern durch *Stachybotrys chartarum**

Bei der zum Glück seltenen diffusen pulmonalen Hämorrhagie bei Kindern durch *Stachybotrys chartarum* ist dagegen ein eindeutiger Zusammenhang gegeben. *Stachybotrys chartarum* (= *Stachybotrys atra*) ist ein Schwärzeschimmelpilz, der auf direktem und indirektem Wege den menschlichen Organismus schädigt. Bei Anzüchtung aus Umweltproben wird dieser Pilz aufgrund seines langsamen Wachstums leicht übersehen, da er eventuell von *Penicillium* spp. und *Aspergillus* spp. überwuchert wird. In Luftproben ist er sehr selten zu finden. Medizinische Bedeutung hat dieser Erreger, weil er für Mykotoxikosen bei Befall von Lebensmitteln und bei Innenraumbefall verantwortlich zeichnet, außerdem kann eine massive irritative Kontaktdermatitis nach direktem Kontakt resultieren.

Stachybotrys chartarum benötigt hohe Feuchtigkeit zum Wachstum, er produ-

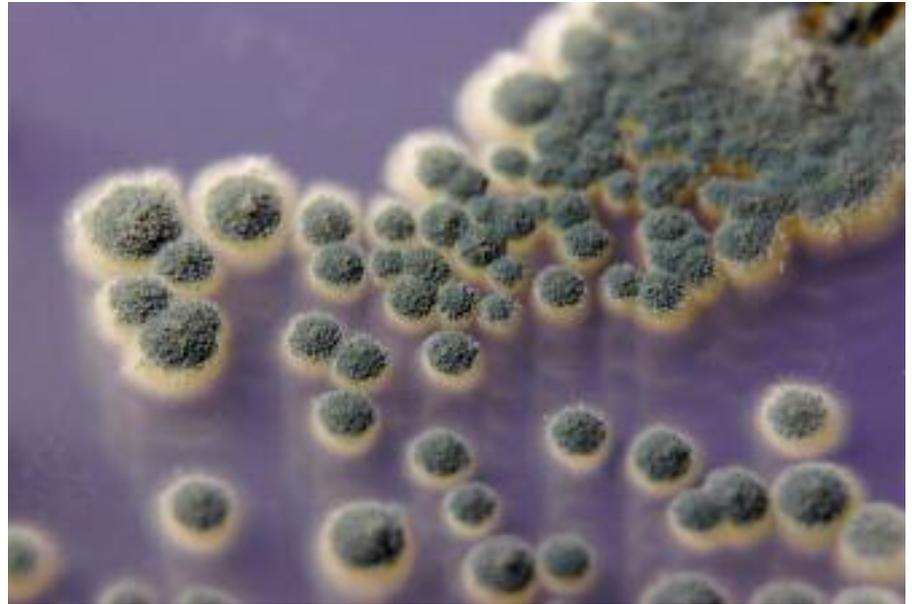


Abb. 3: *Aspergillus versicolor* auf Sabouraud-Glukose-Agar

ziert Sporen, die große Mengen von Stachylysin (einem Hämolyysin), Satratoxin (einem Trichotecen) und verschiedene andere Toxine enthalten. Diese Toxine werden aerogen über die Sporen übertragen. Sie schädigen akut die Schleimhäute der Atemwege.

Stachybotrys chartarum, aber auch *Aspergillus versicolor* (Abb. 3) sowie deren Mykotoxine sind für bestimmte Entzündungsreaktionen der Schleimhautzellen des Respirationstrakts, wahrscheinlich auch von Blutmonozyten verantwortlich. So wies eine gerade erschienene Studie nach, dass beide Schimmelpilze die Expression von proinflammatorischen Zytokinen in menschlichen Monozyten stimulieren (10).

Aspergillus versicolor und Stachybotrys chartarum in Gebäuden mit Risikokonstruktion (erhöhter Feuchtigkeitsbildung)

Eine aktuelle Studie aus Schweden zeigte die Belastung mit Schimmelpilzen in 21 Kindertagesstätten abhängig vom Gebäudetyp mit Blick auf Feuchtigkeits (>Dampf<)-bildung als Risikofaktor für Schimmelpilzwachstum (11). In den Staubproben (Probenahme mit Abstrichen bzw. Petrischalen) ließ sich Gesamt-Pilz-DNS in 99 beziehungsweise 100% nachweisen, *As-*

*pergillus/**Penicillium*-DNS in 54 beziehungsweise 68% sowie *Stachybotrys chartarum*-DNS in 4 beziehungsweise 9% der Abstriche/Petrischalenproben. Der Gesamt-Pilz-DNS-Level war eindeutig höher in den Gebäuden mit Risikokonstruktion in Bezug auf Feuchtigkeitsbildung.

Mykotoxine in Nasennebenhöhlenschleimhaut und -sekreten

Eine aktuelle Studie widmet sich dem Nachweis von Mykotoxinen (Aflatoxin, Deoxynivalenol, Zearalenone, Ochratoxin und Fumonisin) im Gewebe der Nasennebenhöhlen und dem Sekret der Sinus bei chronischer Rhinosinuitis (12). Die Proben von 18 Patienten waren negativ für Aflatoxin, Deoxynivalenol, Zearalenone und Fumonisin. Bei vier der 18 Patienten (22%) ließ sich Ochratoxin nachweisen.

Die klinische Signifikanz dieses Befunds ist noch nicht klar. Als Quelle kommt jedoch eher die chronische Besiedlung der Nasennebenhöhlen mit Schimmelpilzen – *Penicillium*, *Aspergillus* und *Alternaria* – in Frage, eher nicht die aerogene Aufnahme der Sporen. Wobei diese andererseits der Besiedlung vorausgeht und damit doch ein Zusammenhang zur Schimmelpilz-Belastung in Innenräumen herzustellen wäre.

Opportunistische Infektionen durch umweltrelevante Schimmelpilze aus Innenräumen

bei immunsupprimierten Patienten

Schimmelpilze sind sogenannte opportunistische beziehungsweise fakultativ-pathogene Krankheitserreger und vorzugsweise bei immunsupprimierten Patienten für folgende Erkrankungen beziehungsweise Infektionen von Bedeutung (13–15):

- Hautinfektionen, zum Beispiel bei ausgedehnten Verbrennungen der Haut oder bei diabetischer Gangrän,
- Haut- und Weichteilinfektionen, unter anderem kutane Aspergillose, Pseudoallescheriose (Scedosporiose), Eumyzetome und Chromomykose,
- Nagelinfektionen,
- Schleimhautbesiedlung und -infektion,
- Aspergillom der Lunge,
- invasive Aspergillose der Lunge und anderer innerer Organe, bis hin zur
- Schimmelpilzsepsis.

Infektionen durch Schimmelpilze treten (sehr) selten auf. Sie betreffen nahezu ausschließlich stark immunsupprimierte Patienten, potenziell gefährdet sind beispielsweise Empfänger von Organ- oder hämatopoetischen Stammzelltransplantationen, Patienten mit hämatologischen Malignomen, Verbrennungen, »Acquired immune deficiency syndrome« (AIDS), jedoch auch untergewichtige Neu- und Frühgeborene.

Infektionsquelle für die infektiologisch relevanten Fadenpilze stellt die Umwelt des Menschen dar, zum Beispiel kann eben auch Schimmelpilzbefall in Gebäuden mit erhöhter Schimmelpilzsporenkonzentration in der Raumluft resultieren, mit der Folge von Infektionen der Schleimhäute der Nasennebenhöhlen, des unteren Respirationstrakts oder der inneren Organe (an erster Stelle der Lunge). Ein direkter Zusammenhang einer Schimmelpilz-Infektion zu Schimmelpilzen in Gebäuden mit Nässeschäden und Schimmelpilzbefall kann im Einzelfall nur vermutet werden, beweisend wäre die mit

molekularbiologischer Stammtypisierung nachgewiesene Übereinstimmung des Erregers im Menschen mit isolierten Schimmelpilzen der Wohnumgebung. Das ist bisher nicht gelungen.

Aspergillus-Infektionen

Der Infektionsweg einer invasiven Aspergillose der Lunge, jedoch auch der Nasennebenhöhlen ist fast immer aerogen, das heißt Aspergillus-Sporen werden inhaliert. Aspergillus-Konidien können auf den Oberflächen von Innenräumen sedimentieren. Durch Bewegungen und Luftströme werden sie aufgewirbelt und können so in den Respirationstrakt der Patienten gelangen.

Schleimhautbesiedlung und -infektion durch Aspergillus-Arten

Schimmelpilze – insbesondere Aspergillus spp. – können auch ohne dass sie als infektiöses Agens in Aktion treten, verschiedene Oberflächen des menschlichen Körpers saprophytär besiedeln. Im Bereich des äußeren Ohrs und der Nasennebenhöhlen werden häufig Besiedlungen durch Aspergillus spp. (Aspergillus niger) beobachtet, die jedoch nur ausgesprochen selten zum Ausgangspunkt eines infektiösen Geschehens werden. Der Krankheitswert dieser Besiedlungen ist relativ niedrig.

Risikopatienten sollten keinerlei Quellen für Schimmelpilzsporen in der Wohnumgebung haben. Blumenerde (Topfpflanzen), Kompost, Heu, Stroh, Bioabfälle, Kräuter, Gewürze (Pfeffer), Baustaub, unzureichend gewartete Lüftungs- sowie Klimaanlage und sogar Marihuana sind potenzielle Ansteckungsquellen. Neuerdings im Blickfeld sind übrigens auch Federbetten und -kissen als potenzielle Sporenservoire. Nässegeschädigte Wohnräume und Bausubstanz mit sekundärem Befall durch diverse (fakultativ-pathogene) Schimmelpilze (»Wohnschimmel«) sind als gravierender Risikofaktor anzusehen.

Pulmonale Aspergillose

Das am häufigsten von einer Aspergillus-Infektion befallene Organ ist die

Lunge. Sie ist auch die Haupteintrittspforte der Infektion. Hier kann die Aspergillose als Pilzpneumonie oder relativ begrenzt als Aspergillom auftreten. Die Pilzpneumonie ist als invasive Infektion immer an eine Immunsuppression gebunden. Es handelt sich um eine atypische Pneumonie, die als Bronchopneumonie genauso wie als interstitielle Pneumonie auftreten kann. Der isolierte Befall eines Lappens ist ebenso möglich wie der disseminierte Befall der ganzen Lunge. Beim Aspergillom ist nicht in jedem Falle eine schwere Invasivität gegeben, man spricht auch von einer semi-invasiven Infektion. Es kann sich auch bei wenig immunsupprimierten Patienten oder sogar immunkompetenten Personen in präformierten Hohlräumen der Lunge (meistens alten Kavernen einer abgelaufenen Tuberkulose) entwickeln. Manchmal schmelzen entzündliche Infiltrationen in kompaktem Lungengewebe erst zu einem Aspergillom ein.

Weitere Eintrittspforten für Aspergillus-Sporen sind neben der Lunge die Schleimhäute der Nasennebenhöhlen und selten des Nasen-Rachen-Raums, des Magen-Darm-Trakts (hier vor allem die Speiseröhre), das Auge und in sehr seltenen Fällen auch offene Wunden (durch Traumen oder Operationen). Bei Immunsuppression kann die Infektion aus diesen Herden hämatogen in den ganzen Körper streuen mit der Folge einer Pilzsepsis oder einer disseminierten invasiven Aspergillose mit Befall verschiedenster Organe.

Allergische bronchopulmonale Aspergillose bei Mukoviszidose und Asthma bronchiale

Bei Patienten mit Mukoviszidose (zystische Fibrose) stellt der zähe Alveolarschleim ein ideales Nährmedium für Schimmelpilze dar. Diese meist jungen Patienten, aber auch ältere Asthmatiker entwickeln in zirka 5% eine bronchopulmonale allergische Aspergillose (ABPA). Diese Krankheit hat jedoch keinen infektiösen beziehungsweise invasiven Charakter, sie ist allergischer Natur und beruht auf der Typ-I- und Typ-III-Sensibilisierung durch die pa-

thologische Besiedlung des Schleims im Bronchialsystem mit *Aspergillus*.

Aspergillus fumigatus bleibt die am häufigsten nachgewiesene Spezies bei *Aspergillus*-Infektionen (56%), gefolgt von *Aspergillus flavus* (19%) und dem zunehmend isolierten *Aspergillus terreus* (16%). Es sei jedoch betont, dass ausgerechnet diese pathogenen *Aspergillus*-Arten, die thermophil sind, eher nicht aktiv auf Nässe-geschädigtem Baumaterial in Innenräumen wachsen. Trotzdem sind diese Sporen in der Raumluft insbesondere auch in Gebäuden mit Nässeschäden, aber auch in unbelasteten Innenräumen nachweisbar, die Hintergrundwerte liegen dabei sogar über den Sporenkonzentrationen, die in der Außenluft gemessen werden (16).

Zu 2.: Mykotoxin-bildende Schimmelpilze

Von den Schimmelpilzen, die in feuchtem Baumaterial nachweisbar sind, sind etliche als Mykotoxin-Bildner bekannt. Vergleichsweise gut untersucht und bekannt als Mykotoxin-Bildner, die auch umweltmedizinische Relevanz besitzen, sind *Aspergillus versicolor* (bildet Sterigmatocystin) sowie *Stachybotrys chartarum* (bildet Satratoxin, das bisher stärkste bekannte Zellgift) (17).

Häufig isoliert werden *Trichoderma*-Arten, zum Beispiel *Trichoderma koningii*, welche *Trichothecene* produzieren können (18). Das selbe Zellgift wird auch durch bestimmte *Fusarium*-Arten und -stämmen gebildet. Von diversen *Penicillium*- und *Chaetomium*-Arten ist ebenfalls bekannt, dass sie Mykotoxine bilden können.

Aflatoxin-ähnliche Substanzen ließen sich im Falle eines Feuchtigkeitsschadens in einer Büroetage und erkrankten Mitarbeitern des Betriebs mittels eines »enzyme linked immunosorbent assay« (ELISA) im Hausstaub und in luftgetragenen Staub nachweisen. Gleichzeitig wurde ein *Aspergillus*-Stamm kulturell nachgewiesen (17).



Abb. 4: *Cladosporium carrionii*: Schwarze, leicht dunkelgrün bis braun schimmernde, samtartige Kolonien des mikroskopisch *Penicillium*-ähnlichen, allergologisch relevanten Schwärzeschimmelpilzes auf Sabouraud-Glukose-Agar

Es sei auch erwähnt, dass nicht nur Mykotoxine aus Schimmelpilzen als Innenluft-Substanzen potenziell gefährdend sind, sondern auch von Bakterien produzierte Exotoxine, im Falle von gramnegativen Bakterien auch Endotoxine, sowie zytotoxische Verbindungen aus Strahlenbakterien, also Aktinomyzeten.

Zu 3.: Schimmelpilze (»Wandschimmel«) bei Nässe-geschädigter Bausubstanz

Alternaria spp. ist einer der am weitesten verbreiteten Schimmelpilze auf der Erde. Dieser Schwärzepilz wächst bei Raumtemperatur am besten und verursacht jedoch nur extrem selten eine exogen nach traumatischer Inokulation entstandene kutan-subkutane Infektion ausschließlich bei extrem immunsupprimierten Patienten. Beim Menschen haben drei *Alternaria*-Spezies Bedeutung: *Alternaria alternata*, *Alternaria chartarum* und *Alternaria tenuissima*, neuerdings auch *Alternaria infectoria*.

Man muss jedoch zur Kenntnis nehmen, dass *Alternaria*-Arten wahrscheinlich eher selten als »Wand-

schimmel« bei Nässeschäden isoliert werden. So fanden *Raulf-Heimsoth* et al. (19) *Alternaria* spp. nur in 2% der Proben von Baumaterial (Putz, Mörtel). Dagegen waren in dieser Untersuchung andere Schimmelpilze deutlich häufiger: *Penicillium* spp. (80%), *Aspergillus versicolor* (65%), *Cladosporium* spp. (46%), *Acremonium* spp. (31%), *Aspergillus restrictus* (26%), *Engyodontium album* (10%), *Ulocladium* spp. (9%), *Chaetomium* spp. (8%), *Eurotium* spp. (8%), *Scopulariopsis* spp. (8%), *Mortierella* spp. (5%), *Aspergillus sydowii* (4%), *Mucor* spp. (4%) und *Stachybotrys chartarum* (4%).

Auch der Schwärzeschimmelpilz *Cladosporium* spp. (z.B. *Cladosporium carrionii*) wird, wie gerade gezeigt, relativ selten bei Nässeschäden isoliert (Abb. 4). Es handelt sich um einen reinen Umweltschimmelpilz, der nur im Ausnahmefall medizinische Bedeutung als Infektionserreger besitzt und dann für kutan-subkutane oder pulmonale Mykosen verantwortlich ist. Dagegen besitzt *Cladosporium* spp. durchaus allergenes Potenzial. *Cladosporium cladosporioides* zum Beispiel ist ein wichtiges Allergen für Asthma-bronchiale Patienten.

Zu 4.: a) »In-vivo-Untersuchungen«

Umgebungsuntersuchung auf Schimmelpilze und ihre Bestandteile

Zum Nachweis der für einen konkreten Näscheschaden verantwortlichen Schimmelpilze bieten sich kulturelle diagnostische Methoden an. Man entnimmt mittels Abstrichtupfer Material von der Tapete oder Wand und weist die Schimmelpilze durch Anzucht auf mykologischen Nährmedien (Sabouraud-Glukose-Agar, Kimmig-Agar, Czapek-Dox-Agar) nach. Es empfiehlt sich die Inkubation bei zwei verschiedenen Temperaturen (28 und 37 °C) für einen Zeitraum von mindestens einer Woche, besser 14 Tagen, durchzuführen (20). Letztlich handelt es hierbei um eine sogenannte Stichprobenmessung.

Häufig kommen Tapetenstücke, Putz oder Holzbestandteile zur mykologischen Untersuchung im Rahmen einer Begutachtung wegen eines baulichen Näscheschadens. Hierbei ist, nach anfänglicher Anreicherung der Proben in Sabouraud-Glukose-Bouillon, identisch zu verfahren und zu inkubieren.

Aufwändig und teuer sind Raumluftmessungen der Schimmelpilzsporen mittels Luftkeimsammler. Es wird eine quantitative Aussage zur Anzahl der Schimmelpilzsporen in der Raumluft getroffen. Die Sporen gibt man in Kolonie-bildenden Einheiten (KbE) pro m³ Raumluft an. Eine einfache und preiswerte, jedoch weniger genaue Alternative ist das Aufstellen von Sedimentationsnährmedien (Petrischalen mit Pilz-Agar) im Raum für eine bestimmte Zeit (z.B. 30 Min.). Die nach der Inkubationszeit gewachsenen Schimmelpilzkolonien werden gezählt und die KbE/cm² berechnet.

Alternativ oder zusätzlich zur Bestimmung der Schimmelpilzsporen in Luft und am nassen Baumaterial sind die Messung der Gesamtpartikel im Raum sowie der MVOC in der Luft möglich. Das Vorkommen des Immunmodulators 1,3-β-D-Glucan, eines Zellwandbestandteils der Pilze, in Innenräumen lässt sich neuerdings ebenfalls bestim-

men. Trotzdem muss gesagt werden, dass es nach wie vor umstritten ist, ob sowohl die flüchtigen organischen Verbindungen (MVOC), als auch zum Beispiel 1,3-β-D-Glucan in Schimmelpilz-belasteten Innenräumen tatsächlich die Konzentrationen erreichen, bei denen eine gesundheitliche Schädigung zu erwarten ist. Diese zytotoxische Wirkung ist bislang vorzugsweise in Zellkultur- und tierexperimentellen Studien nachgewiesen worden (21).

Allergologische In-vivo-Diagnostik zum Nachweis von Schimmelpilz-Sensibilisierungen und -Allergien

Zum Arsenal einer allergologischen In-vitro-Diagnostik beim Verdacht auf eine Schimmelpilz-Allergie gehören die dem Hautarzt geläufigen Hauttestungen zum Nachweis von Typ-I-Allergien, die da sind Prick-Test (wahrscheinlich spezifischer als der Intrakutan-Test), Intrakutan-Test (wahrscheinlich empfindlicher als der Prick-Test) und Provokations-Testungen. Nur mit der Provokation kann die klinische Relevanz der In-vitro- und In-vivo-Testergebnisse bestätigt werden. Dazu wird die konjunktivale, die nasale oder bronchiale Provokationstestung mit definierten Pilz-Allergenen als Standardverfahren entsprechend Leitlinie durchgeführt (7). Um eine Kausalität zwischen in Innenräumen nachgewiesenen Schimmelpilzen und gesundheitlichen Störungen zu beweisen, muss neben dem kulturellen oder molekularbiologischen Nachweis der Schimmelpilze in der Arbeits- oder Wohnumgebung auch die klinische Relevanz einer in vitro (IgE) und in vivo (Prick-, Intrakutan-Test) gefundenen Sensibilisierung nachgewiesen werden, was nur mittels Provokationstestung möglich ist (7).

Zu 4.: b) »In-vitro-Untersuchungen«

Serologische In-vitro-Diagnostik der Patienten zum Nachweis einer Schimmelpilz-verursachten allergischen Erkrankung bei Schimmelpilzexposition in Innenräumen

Die In-vitro-Diagnostik zum Nachweis einer Sensibilisierung gegenüber Schimmelpilzsporen umfasst die Be-

stimmung des spezifischen Immunglobulins E (IgE) im Serum gegenüber den Schimmelpilzen. Damit lässt sich feststellen, ob respiratorische Symptome bei schimmelpilz-exponierten Personen möglicherweise durch eine Schimmelpilzbelastung ausgelöst und unterhalten worden sind und eine IgE-vermittelte Sensibilisierung vorliegt. Das Repertoire des IgE gegenüber Innenraumrelevanten Schimmelpilzen ist groß und wird ständig erweitert.

Rekombinante Pilzantigene zur allergologischen In-vitro-Diagnostik bei Verdacht auf Schimmelpilzallergie

Neuerdings finden zunehmend nicht nur die aus den Pilzen extrahierten Allergene Anwendung, sondern auch rekombinant hergestellte Schimmelpilzallergene. Im Falle von *Alternaria alternata* ist das zum Beispiel die Komponente rAlt a 1.

Im Falle der allergischen bronchopulmonalen Aspergillose (ABPA), die, wie oben erwähnt, vor allem bei Asthmatikern und Patienten mit Mukoviszidose auftritt, hat die Einführung der rekombinanten Aspergillus-Allergene und die Bestimmung des spezifischen IgE gegen dieselben einen wesentlichen Fortschritt der allergologischen In-vitro-Diagnostik gebracht. Der Nachweis von IgE gegen folgende Kombinationen der rekombinanten Allergene Asp f 2 + Asp f 4 beziehungsweise Asp f 2 + Asp f 4 + Asp f 6 ermöglicht eine hochspezifische und präzise Diagnose der ABPA (22)].

Nach wie vor sind Kreuzallergien insbesondere bei Schimmelpilzen problematisch. So identifizierten aktuell Chou et al. (23) aus Taiwan die Transaldolase als neue IgE-kreuzreagierende Allergenfamilie von *Cladosporium cladosporioides* und *Penicillium chrysogenum*. Diese Kreuzallergien können einerseits bedeuten, dass falsch-reaktive IgE-Bestimmungen vorliegen, andererseits ist es denkbar, dass Patienten, die gegenüber einem Pilz sensibilisiert sind, aufgrund der Kreuzallergie auch auf weitere Schimmelpilze mit respiratorischen Symptomen reagieren. Diese Kreuzallergien spielen im speziellen Fall von

Penicillium spp. und Cladosporium spp. eine Rolle, jedoch auch allgemein bei der allergologischen In-vitro-Diagnostik anderer Schimmelpilz-Arten.

Zu 5.: Mykotoxin-Bestimmung im Hausstaub

Mykotoxine im Hausstaub lassen sich nur durch methodisch aufwändige Analysemethoden bestimmen. So ist eine Quantifizierung ausgewählter Mykotoxine im Hausstaub mittels Flüssigchromatografie-Massenspektrometrie (LC-MS) möglich. Für bestimmte Mykotoxine existieren keine Referenzsubstanzen, zum Beispiel Satratoxin G und H, diese können mittels LC-MS nur qualitativ bestimmt werden (24).

Des Weiteren sind Mykotoxin-ELISA verfügbar, um die sekundären Pilzmetaboliten zu bestimmen, wobei diese insbesondere in der Überwachung von Nahrungs- und Futtermitteln hinsichtlich der Mykotoxin-Belastung eingesetzt werden (25).

Literatur

- De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ (2009): Atlas of clinical fungi. 3rd edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, & Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain
- Mitteilung der Kommission »Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin« (2007): Schimmelpilzbelastung in Innenräumen – Befunderhebung, gesundheitliche Bewertung und Maßnahmen. Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz 50, 1308–1323
- Haas D, Galler H, Habib J, Enayat U, Schlacher R, Marth E, Reinthaler FF (2007): Environmental indoor factors can enhance mold growth and respiratory infections in childhood. Mycoses 50, 370
- Ibargoyen-Roteta N, Aguinaga-Ontoso I, Fernandez-Benitez M, Marin-Fernandez B, Guillen-Grima F, Serrano-Monzo I, Hermoso-demendoza J, Brun-Sandiumetge C, Ferrer-Nadal A, Irujo-Andueza A (2007): Role of the home environment in rhinoconjunctivitis and eczema in schoolchildren in Pamplona, Spain. J Investig Allergol Clin Immunol 17, 137–144
- Haustein UF, Nenoff P (2008): Gesundheitliche Aspekte von Schimmelpilzbefall in Gebäuden. In: Berufsverband Deutscher Baubiologen VDB e.V. (Hrsg): 12. Pilztagung des VDB Verband Deutscher Baubiologen. Nachweis, Bewertung, Sanierung und Qualitätssicherung beim Umgang mit Schimmelpilzen in Innenräumen. 1. Auflage, Verlag des AnBUS e.V., Fürth, 141–149
- Palmgren U, Fischer G (2002): MVOCs. Mikrobielle flüchtige organische Verbindungen. Vorkommen und Deutung. Mycoses 45, 213–214
- Wiesmüller GA, Szewzyk R, Gabrio T, Fischer G, Lichtnecker H, Merget R, Ochmann U, Nowak D, Schultze-Werninghaus G, Steiß JO, Herr C (2011): Häufige Fragestellungen in Zusammenhang mit der Bewertung eines möglichen allergischen Risikos von Schimmelpilzexpositionen. Antworten eines Round Table auf dem Workshop Schimmelpilze und allergische Erkrankungen im Rahmen der GHUP-Jahrestagung 2010. Umwelt Forsch Prax 16, 98–106
- Schütze N, Lehmann I, Bönisch U, Simon JC, Polte T (2010): Exposure to mycotoxins increases the allergic immune response in a murine asthma model. Am J Respir Crit Care Med 181, 1188–1199
- Buzina W (2006): Schimmelpilze – Biologie und medizinische Bedeutung. In: Reinthaler FF, Buzina W, Pichler-Semmelrock FP (Hrsg): Pilze im Innenraum. Medizinische Aspekte, Diagnostik und Bewertung, Prävention und Sanierung. Symposium Raiffeisenhof, Tagungsband, Graz, 1–6
- Pei R, Gunsch CK (2011): Inflammatory cytokine gene expression in THP-1 cells exposed to Stachybotrys chartarum and Aspergillus versicolor. Environ Toxicol Mar 7. doi: 10.1002/tox.20698 (epub ahead of print)
- Cai GH, Mälarstig B, Kumlin A, Johansson I, Janson C, Norbäck D (2011): Fungal DNA and pet allergen levels in Swedish day care centers and associations with building characteristics. J Environ Monit Jun 3 (epub ahead of print)
- Lieberman SM, Jacobs JB, Lebowitz RA, Fitzgerald MB, Crawford J, Feigenbaum BA (2011): Measurement of mycotoxins in patients with chronic rhinosinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg Mar 31 (epub ahead of print)
- Nenoff P, Seyfarth HJ (2005): Mykosen und Dermatomykosen durch Schimmelpilze – Erregerspektrum in Innenräumen und infektiologische Relevanz. Mycoses 48, 290–291
- Nenoff P (2009): Schimmelpilze in der Dermatomykologie. Haut 4, 110–113
- Nenoff P (2010): Schimmelpilzinfektionen. In: Plettenberg A, Meigel W, Schöfer H (Hrsg): Infektionskrankheiten der Haut. 3. vollständig überarbeitete Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 196–198
- Fischer G (2010): Infektiologisch relevante Fadenpilze – Erregerspektrum und Häufigkeit in der Umwelt des Menschen. Umweltmed Forsch Prax 15, 84–91
- Lorenz W (2006): Gesundheitliche Beschwerden und mikrobielle Schäden in Innenräumen unter besonderer Berücksichtigung der möglichen Wirkung von Toxinen und MVOC. In: Reinthaler FF, Buzina W, Pichler-Semmelrock FP (Hrsg): Pilze im Innenraum. Medizinische Aspekte, Diagnostik und Bewertung, Prävention und Sanierung. Symposium Raiffeisenhof, Tagungsband, Graz, 29–41
- Degenkolb T, von Döhren H, Nielsen KF, Samuels GJ, Brückner H (2008): Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of Trichoderma and Hypocrea. Chem Biodivers 5, 671–680
- Raulf-Heimsoth M, Gabrio T, Lorenz W, Radon K (2010): Vorkommen und gesundheitliche sowie allergologische Relevanz von Schimmelpilzen aus der Sicht der Umwelt- und Arbeitsmedizin, der Innenraumhygiene und der Epidemiologie. Allergo J 19, 464–476
- Nenoff P, Mügge C, Haustein UF (2004): Schimmelpilze: Saprophyten & Pathogene. Teil 1: Allgemeine Aspekte der Diagnostik sowie Differenzierung von Penicillium spp. und wichtiger Aspergillus-Arten. Haut 15, 165–168
- Herr CEW, Eikmann T, Heinzow B, Wiesmüller GA (2010): Umweltmedizinische Relevanz von Schimmelpilzen im Lebensumfeld. Umweltmed Forsch Prax 15, 76–83
- Delhaes L, Frealle E, Pinel C (2010): Serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: State of the art and further challenges. Med Mycol 48 (Suppl 1), S77–87
- Chou H, Tam MF, Chiang CH, Chou CT, Tai HY, Shen HD (2011): Transaldolases are novel and immunoglobulin E cross-reacting fungal allergens. Clin Exp Allergy 41, 739–749
- Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V.: www.iuta.de/index.php?article_id=192&clang=0
- Sifuentes Dos Santos J, Takabayashi CR, Ono EY, Itano EN, Mallmann CA, Kawamura O, Hirooka EY (2011): Immunoassay based on monoclonal antibodies versus LC-MS: deoxynivalenol in wheat and flour in Southern Brazil. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess Jan 1, 1–8 (epub ahead of print)

Prof. Dr. med. Pietro Nenoff
Haut- und Laborarzt/
Allergologie, Andrologie
Labor für medizinische Mikrobiologie
Straße des Friedens 8
04579 Mölbis
E-Mail nenoff@
mykologie-experten.de
www.mykologie-experten.de

