Aus der Abteilung für
Oralchirurgie und zahnärztliche Röntgenologie
des Zentrums für Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Charité -
Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Qualitative Bestimmung von Candida-Spezies in der Mundhöhle bei Patienten nach Herz-, Leber- und Lungentransplantation

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Cornelia Kießling

aus Halberstadt

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. A.-M. Schmidt-Westhausen
2. Gutachter: Prof. Dr. Th. Steinmüller
3. Gutachter: Prof. Dr. Dr. W. Wagner

eingereicht: 10.11.2004
Datum der Promotion: 28.04.2005

Abstrakt

Bei 85 Patienten (61 % Männer, 39 % Frauen, Altersmedian: 49 Jahre) nach Leber- (38), Herz- (34) und Lungentransplantation (13) wurde die orale Besiedlung mit Candida-Spezies und deren Biotypen sowie klinische Manifestationen einer Candidiasis bestimmt. Eine orale Candidiasis wurde bei 21/85 Patienten (24,7 %) diagnostiziert (pseudomembranöse Form: 15,3 %; erythematöse Form: 9,4 %; Cheilitis angularis: 3,5 %). Bei 63/85 Patienten (74,1%) wurden Candida spp. nachgewiesen. Von allen gefundenen Candida-Isolaten war C. albicans die am häufigsten isolierte Spezies (73 %), gefolgt von C. glabrata, C. krusei und C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %). Außerdem wurden C. lusitaniae, C. guilliermondii, C. kefyr, C. magnoliae, Pichia ohmeri und C. dubliniensis, eine Spezies, die anfänglich nur bei HIV-positiven Individuen auftrat, identifiziert. Für C. albicans konnten sieben Biotypen nachgewiesen werden. Eine Korrelation der klinischen Manifestationen der Candidiasis und der identifizierten Spezies bzw. Biotypen konnte nicht gefunden werden.

Während bei Patienten ohne Antimykotikatherapie neben C. albicans (87 %) nur drei verschiedene non-albicans-Spezies (C. glabrata: 8%; C. dubliniensis: 3 % und C. famata 3 %) identifiziert wurden, konnten bei Patienten mit Antimykotikatherapie sieben verschiedene non-albicans-Spezies nachgewiesen werden. C. albicans wurde nur noch zu 50 %, andere Spezies, wie C. krusei und C. glabrata, jedoch vermehrt identifiziert (C. krusei: 17 %; C. glabrata: 13 %; C. famata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae C. magnoliae: 4 %).

Die vorliegende Studie weist darauf hin, dass eine Dauertherapie bzw. notwendig verbreitete prophylaktische Gabe von Antimykotika (Amphotericin B; Fluconazol/Itraconazol) das Auftreten von non-albicans-Spezies fördert. Resistenzentwicklung und das Auftreten bisher apathogener Spezies und Biotypen spielen bei Patienten nach Organtransplantation eine bedeutende Rolle.

Candida
orale Candidiasis
Transplantation
Antimykotika

Abstract

For evaluation of Candida carriage, oral swabs were taken from the tongue of 85 patients after liver- (38), heart- (34) and lung transplantation (13) (61 % men, 39 % women, median age: 49 years). Oral candidiasis was found in 21/85 patients (24,7 %) (pseudomembranous form: 15,3 %; erythematous form: 9,4 %; angular cheilitis: 3,5 %). Candida species were cultured in 63/85 patients (74,1 %). C. albicans was the most common isolate (73 %), followed by C. glabrata, C. krusei and C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %). Other isolated species were C. lusitaniae, C. guilliermondii, C. kefyr, C. magnoliae, Pichia ohmeri and C. dubliniensis, the latter being a species first described in oral cavities of HIV-infected individuals.

According to the API 20C AUX assimilation profiles seven different phenotypes were identified. No correlation was seen between clinical features and isolated species or biotypes.

In patients without antimycotic therapy four different Candida species (C. albicans: 87 %; C. glabrata: 8 %; C. dubliniensis: 3 % and C. famata: 3 %) were identified, whereas, in patients with antifungal therapy eight different Candida species (C. famata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae C. magnoliae: 4 %) were isolated. In only 50 % of the latter group C. albicans was detected, while C. glabrata in 17 % and C. krusei in 13 % were identified

Long-term therapy and prophylaxis with antifungal agents (amphotericin B; fluconazole/itraconazole) to suppress fungal infections in immunosuppressed patients have contributed to a significant increase in non-albicans-infections because of the high incidence of resistance of the species to these drugs. On the other hand, risk of infection caused by less virulent species is increasing.

candida
oral candidiasis
transplantation
resistance

Inhaltsverzeichnis

	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Zeichen	7
1	**Zielstellung**	**9**
2	**Einleitung**	**11**
2.1	Der Hefepilz Candida	11
2.2	Bedeutung einer Candidiasis nach Organtransplantation	21
3	**Material und Methoden**	**24**
3.1	Patienten und Erfassung der Daten	24
3.2	Intraorale Untersuchung und Abstrichnahme mittels Fungi-quick®-System	24
3.3	Anzüchten auf Sabouraud-Glukose-Agar	25
3.4	Anzüchten auf CHROMagar®	26
3.5	Keimschlauchtest	27
3.6	Identifikation der Biotypen durch das API 20 AUX-System	27
3.7	Statistische Analysen	30
4	**Ergebnisse**	**31**
4.1	Basisdaten der untersuchten Patienten	31
4.2	Befunddaten der Patienten	34
4.2.1	Prävalenz aller oralen Läsionen	34
4.2.2	Prävalenz der oralen Candidiasis	34
4.2.3	Candida-Spezies und Biotypen	35
4.2.4	Prävalenz der Candidakolonisation	39
4.2.5	Candidakolonisation und -infektion in Abhängigkeit von der Antimykotikatherapie	40
4.2.6	Keimschlauchbildung und farbiges Wachstum auf CHROMagar®	42
4.3	Korrelationen	42
4.3.1	Einfluss des Geschlechtes auf die Candidakolonisation und -infektion	42
4.3.2	Einfluss des Alters auf die Candidakolonisation und -infektion	43
4.3.3	Einfluss von Prothesen auf die Candidakolonisation und -infektion	43
4.3.4	Einfluss des Tabakkonsums auf die Candidakolonisation und -infektion	44
4.3.5	Einfluss des Zeitraumes zwischen Abstrichnahme und Transplantation auf die Candidakolonisation und -infektion	44

4.3.6 Einfluss der Medikamenteneinnahme auf die Candidakolonisation und -infektion 46
4.3.7 Einfluss der serologischen Parameter auf die Candidakolonisation und -infektion 49
4.3.8 Einfluss der Art der Organtransplantation auf die Candidakolonisation und -infektion 51
4.3.8.1 Patienten nach Lebertransplantation 51
4.3.9 Patienten mit mehrmaliger Abstrichnahme 54

5 Diskussion 55
5.1 Diskussion der angewandten Methoden 55
5.2 Diskussion der Befunde 57
5.3 Diskussion der untersuchten Einflussfaktoren 62

6 Zusammenfassung 71
Literaturverzeichnis 75
Anhang 86
Danksagung 90
Eidesstattliche Erklärung 91
Lebenslauf 92

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Zeichen

AIDS	aquired immune deficiency syndrome
API 20 C AUX	System zur Candida-Spezies-Identifikation
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C.	Candida
ca.	circa
CD 4	Oberflächenmarker von T-Helferzellen
CD 8	Oberflächenmarker zytotoxischer T-Zellen
CMV	Cytomegalievirus
d	Tage
d.h.	das heißt
EBV	Epstein-Barr-Virus
et al.	und andere
F	Frankreich
g	Gramm
h	Stunde
HIV	human immunodeficiency virus
incl.	inklusive
µ	mikro (10^{-6})
m	milli (10^{-3})
l	Liter
n	nano (10^{-9})
p	Wahrscheinlichkeit
P.	Pichia
Pat.	Patient
pH	pondus hydrogenii, Maß für Wasserstoffkonzentration
r	Pearson´scher Korrelationskoeffizient
SDA	Sabouraud-Glukose-Agar
sp.	Spezies
spez.	spezifisch
spp.	Subspezies

SPSS	verwendetes Statistikprogramm
Tx	Transplantation
T-Zellen	thymusabhängige Lymphozyten
u. a.	unter anderem
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

1 Zielstellung

Ziel der Arbeit war, bei Patienten nach Organtransplantation die Besiedlung der Mundhöhle mit Candida-Spezies und damit assoziierter Biotypen sowie klinische Manifestationen zu bestimmen.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass nach Transplantation mit anschließender immunsuppressiver Therapie die Besiedlung und die Infektion der Mundhöhle mit Candida-Spezies zunimmt. Bei Patienten nach Organtransplantation liegt die Mortalitätsrate infolge von systemischen Pilzinfektionen trotz Antimykotika-Prophylaxe bei über 50 %.

Die verschiedenen medizinisch relevanten Candida-Spezies unterscheiden sich u. a. in ihrer Pathogenität und in ihrem Resistenzverhalten gegenüber gebräuchlichen Antimykotika.
In der Regel ist die Behandlung der oralen Candidiasis mit lokal oder systemisch wirksamen Antimykotika sehr effektiv. Jedoch kann die Immunsuppression nach Transplantation zu Rezidiven der oralen Candidiasis führen und infolge der wiederholt erforderlichen antimykotischen Therapie können Resistenzentwicklungen beobachtet werden.
Das Auftreten bisher apathogener Spezies und Biotypen spielt hierbei eine bedeutende Rolle. So werden seltene Candida-Spezies, wie z. B. C. guilliermondii und C. kefyr, bei immunsupprimierten Patienten zunehmend identifiziert und Infektionen durch Spezies, die früher als medizinisch wenig relevante Spezies galten, wie z. B. C. krusei, gewinnen an Bedeutung.
Es kann daher während der antimykotischen Therapie zur Selektion derartiger Spezies kommen.

Auch Antibiotika, Kortikosteroide und andere Immunsuppressiva, die zu einer Verschiebung der mikrobiellen Mundhöhlenflora führen, können ein erhöhtes Risiko für eine orale Mykose darstellen.

Folgende Fragen standen im Mittelpunkt der Untersuchung:

I. Wie hoch ist die Prävalenz der Candidabesiedlung und -infektion bei Patienten nach Organtransplantation? Treten bei den verschiedenen Typen der Organtransplantationen unterschiedliche Prävalenzraten auf?

II. Welche Candida spp. und Biotypen können ermittelt werden? Unterscheiden sich die Candida spp. und Biotypen von denen anderer Patientengruppen oder im Vergleich zur Besiedlung bei Gesunden?

III. Unterscheiden sich die Prävalenzraten einer Candidakolonisation bzw. -infektion bei Patienten mit oder ohne Antimykotikatherapie? Treten bei Antimykotikagabe andere Spezies bzw. Biotypen auf?

IV. Welche Rolle spielen immunsuppressive Medikation, Zeitpunkt der Abstrichnahme nach Transplantation, Geschlecht, Alter und Tabakkonsum? Werden bei Prothesenträgern andere Spezies bzw. Biotypen identifiziert?

V. Korreliert das Auftreten einiger Candida spp. oder Biotypen mit bestimmten klinischen Erscheinungsbildern einer Candidiasis?

2 Einleitung

2.1 Der Hefepilz Candida

Candida gehört zu den nichtsporenbildenden Hefen, er ist ein Sprosspilz der Familie Cryptococcideae (Klasse Blastomycetes). Da Candida-Spezies nicht über sexuelle Fortpflanzungsformen verfügen, werden sie meist als Fungi imperfecti bezeichnet und gehören damit zu den Deuteromyzeten.
Candida ist ein diphasischer Mikroorganismus, die Vermehrung findet wie typisch für Hefen über Sprossung (Blastosporen, Sprosszellen), z. T. aber auch über fadenartige Zellen (Pseudomyzel) statt. Unter Pseudomyzel versteht man die durch Sprossung gebildeten Zellverbände aus langgestreckten fadenförmigen Zellen, die im äußeren Bild Ähnlichkeit mit dem echten Myzel der Pilze aufweisen, jedoch keine nachträglich eingezogenen Querwände haben. Die seitlich ansetzenden, meist rundlichen oder ovalen Sprosszellen werden Blastosporen genannt. Als Chlamydosporen werden fass- oder birnenförmige Pilzsporen, die durch Verdickung der Zellwände entstehen, bezeichnet.

Die Besiedlung der Mundhöhle mit Candida ist bei immunkompetenten gesunden Probanden bei 2-71 % nachzuweisen und Candida albicans die am häufigsten isolierte Spezies. Odds stellte fest, dass im Durchschnitt 26 % aller gesunden Menschen in der Mundhöhle mit Candida kolonisiert sind, während die Zahl bei Patienten mit 47 % deutlich höher liegt (Odds, 1988) (Tab. 26).
Sprosspilze im allgemeinen und C. albicans im besonderen sind normale Kommensale der Mundhöhle und bereiten bei gesunden Menschen keine Probleme (Akpan et al., 2002). Sie sind Teil der normalen mikrobiellen Flora des Menschen und können als klinisch symptomloses Reservoir für spätere Infektionen dienen. Bei Störung des Gleichgewichtes zwischen Wirtsabwehr und Virulenzfaktoren des Keimes kann es zum Übergang von Kommensalismus zur Infektion kommen. So können an der Mundschleimhaut von Patienten, die unter medikamentöser Immunsuppression stehen, besonders Transplantationspatienten, Infektionen durch Pilze als opportunistische Infektionen auftreten.
Orale Pilzinfektionen bei immunsupprimierten Patienten werden durch Candida in selteneren Fällen auch durch andere Spezies wie Aspergillus, Rhizopus, Turolopis, Phycomycetes und Histoplasma ausgelöst (Clift, 1984; Folwaczny et al., 2002).

Die Gattung Candida besteht aus mehr als 150 Spezies (Odds, 1987).
Folgende Candida-Spezies sind von wichtiger medizinischer Bedeutung: C. albicans, C. tropicalis, C. glabrata, C. parapsilosis, C. guilliermondii, C. krusei, C. lusitaniae, C. kefyr, C. famata und C. dubliniensis (Cannon et al., 1995; Lynch, 1994; Odds, 1987; Scully et El-Kabir, 1994; Sullivan et Coleman, 1997).
Die Zusammensetzung der Candida ssp. an verschiedenen Körperstellen ist ähnlich. C. albicans ist die am häufigsten isolierte Spezies (ca. 70 %), gefolgt von C. glabrata (ca. 7 %) und C. tropicalis (ca. 7 %) (Samaranayake et MacFarlane, 1990; Odds, 1988). C. albicans, C. tropicalis und C. glabrata stellen somit mehr als 80 % der Isolate dar.

Für Candida albicans existieren weltweit 166 Synonyme, wie z. B. Moniliasis. Heute wird allerdings die Bezeichnung Candida, die auf die toga candida - die weiße Robe der römischen Senatskandidaten - verweist, bevorzugt (Lynch, 1994).

In den letzten Jahren konnte vielfach festgestellt werden, dass C. albicans durch non-albicans-Spezies wie C. glabrata oder C. krusei ersetzt wird (Abbas et al., 2000; Borg-von Zepelin et al., 1992; Coleman et al., 1998; Fortun et al., 1997; Masia et Gutiérrez, 2002; Nguyen et al., 1996; Rex et al., 1998; Samaranayake et Samaranayake, 1994).
Seltene Candida-Spezies, wie z. B. C. guilliermondii und C. kefyr, werden bei immunsupprimierten Patienten zunehmend identifiziert. Infektionen durch Spezies, die früher als medizinisch wenig relevante Spezies galten, wie z. B. C. krusei, gewinnen ebenfalls an Bedeutung.
Zum einen wird angenommen, dass dies an der zunehmenden Anzahl stark immunsupprimierter Patienten mit höherem Risiko für Infektionen durch weniger virulente Spezies liegt, zum anderen entwickeln sich immer mehr gegen Antimykotika resistente Spezies (Masia et Gutiérrez, 2002; Rex et al., 1998). So sind C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis und C. lusitaniae empfindlich gegenüber Fluconazol, C. glabrata mäßig empfindlich und C. krusei dagegen resistent.
Es wird auch darauf hingewiesen, dass eine nicht unbedeutende Anzahl von C. glabrata und C. krusei-Isolaten gegenüber Amphotericin B resistent sind (Nguyen et al., 1996; Rex et al., 2000). Über Amphotericin B-resistente Isolate von C. albicans, C. guilliermondii, C. krusei, C. lusitaniae, C. parapsilosis und C. tropicalis wurde ebenfalls berichtet (Ellis, 2002; Kovacicova et al., 2001).
Es kann daher während der antimykotischen Therapie zur Selektion derartiger Spezies kommen.

Es existieren jedoch nicht nur unterschiedliche Candida-Spezies, sondern es zeigt sich auch, dass bei immunsupprimierten Patienten verschiedene Biotypen von Candida-Spezies vorkommen. Vor allem eine erneut auftretende Candidiasis bei diesen Patienten ist mit einem Wechsel des Biotypes verbunden (Bruatto et al., 1991).
Neben der sich verschlechternden Immunfunktion bei immunsupprimierten Patienten wurde die Überlegung geäußert, dass ein kommensaler C. albicans-Stamm durch einen virulenten Stamm ersetzt wird, der schließlich ursächlich für eine Soorinfektion verantwortlich ist. Das Vorkommen der Selektion eines besonders virulenten C. albicans-Stamm konnte jedoch bisher noch nicht bewiesen werden. Whelan et al. kamen zu dem Schluss, dass bei Patienten mit AIDS kein hypervirulenter C. albicans-Stamm vorkommt, der andere Eigenschaften habe. Stämme, die bei gesunden Probanden keine Probleme bereiteten, führten bei Patienten mit AIDS demnach allein aufgrund des geschwächten Abwehrsystems zu Infektionen (Whelan et al., 1990).
Korting et al. fanden, dass 21 % der Isolate von HIV-positiven Patienten nicht zu den Biotypen von HIV-negativen Patienten unter Nutzung der Bestimmungsmethode nach Williamson et al. (1987) gehörten (Korting et al., 1988). Ruhnke et al. konnten keinen eindeutigen Wechsel des Biotyps im Verlauf der HIV-Erkrankung einzelner Patienten sehen (Ruhnke et al., 1994).

Während C. albicans vorwiegend am Menschen und anderen Warmblütern und in der menschlichen Umgebung (z. B. auf Zahnbürsten und im vom Menschen kontaminierten Wasser) zu finden ist, können andere Candida ssp. auch natürlich in der Umwelt vorkommen.
Bei gesunden Personen ist Candida gewöhnlich in der Mundhöhle, im übrigen Gastrointestinaltrakt, auf der Haut und vaginal zu finden. Isolationen vom Auge und aus dem Urin sind seltener.
Die Prävalenz und Konzentration von Candida in den verschiedenen Bereichen der Mundhöhle ist sehr unterschiedlich. Während bei gesunden bezahnten Probanden der Sprosspilz meist vom Zungenrücken isoliert werden kann (Arendorf et al., 1980), ist er bei gesunden Prothesenträgern sowohl auf der Zunge als auch auf der von der Prothese bedeckenden Schleimhaut und am Gaumen zu finden. In beiden Gruppen sind Wange, Mundboden und Mundwinkel weniger häufig besiedelt.

Obwohl die Mehrheit der Bevölkerung mit Candida kolonisiert ist, entwickeln nur einige eine Candidiasis. Candida spp. sind opportunistische Pathogene, welche bei immungeschwächten Personen zu Krankheiten führen können.
Die verschiedenen medizinisch relevanten Candida-Spezies unterscheiden sich in ihrer Pathogenität. C. albicans und C. tropicalis zählen zu den virulentesten Candida-Spezies, während

C. glabrata weniger virulent ist und vermehrt bei stärker immunsupprimierten Patienten zu finden ist. Es gibt keinen einzelnen prädominanten Virulenzfaktor, der für das Auftreten einer Candidiasis verantwortlich ist. Es wurde eine enge Korrelation zwischen der Adhäsion verschiedener Candida spp. und ihrer Fähigkeit Infektionen auszulösen, gefunden. Die virulentesten Spezies - C. albicans und C. tropicalis - zeigen die größte Adhärenz und C. tropicalis die höchste Affinität zu Kunststoffartikeln.
Andere Virulenzfaktoren sind: Persorption, Dimorphismus, Bildung von Keimschläuchen, Switching, Wechselwirkung mit dem Komplementsystem und die Produktion von Hydrolasen, Anaphylatoxinen und Killertoxinen (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Im Unterschied zu anderen Infektionskrankheiten ist die Pathogenität jedoch nicht nur von der Virulenz des Mikroorganismus, sondern hauptsächlich auch von anderen Faktoren abhängig.
Odds hat die prädisponierenden Faktoren, die zu einer Candidiasis führen können, in vier Gruppen eingeteilt:

- Infektionen, defektes Immunsystem (AIDS), Diabetes mellitus, maligne Prozesse (besonders Leukämie und Lymphome), veränderte Phagozytosefähigkeit, Schwangerschaft, Alter
- Ernährung (Kohlenhydratreich, Vitaminmangel)
- mechanische Faktoren (Prothesenträger)
- iatrogene Faktoren (Antibiotika, Kortikoide, andere Immunsuppressiva, Kontrazeptiva) (Odds, 1988)

Die orale Candidabesiedlung ist ungefähr zwei Monate nach der Geburt und bei älteren Personen am höchsten (Kleinegger et al., 1996).

Mehrere Studien wiesen eine höhere Prävalenz von Candida bei gesunden Frauen als bei gesunden Männern auf (Arendorf et al., 1980; Bastiaan et Reade, 1982; Masipa et al., 1992).

Es ist bekannt, dass die Besiedlung bei Zahnlosen vor Eingliederung einer Prothese geringer ist als bei Prothesenträgern (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Die normale orale bakterielle Flora hemmt die Kolonisation von Candida spp., wobei diese zunimmt, wenn die Normalflora durch die Behandlung mit Medikamenten wie z. B. Antibiotika unterdrückt wird. Breitspektrumantibiotika werden als einer der führenden iatrogenen Faktoren,

die eine orale Candidiasis verursachen, angesehen (Samaranayake et MacFarlane, 1990).
Im Gegensatz zur Therapie mit lokal wirkendem Steroidaerosol ist die Beziehung zwischen systemischer Steroidtherapie und oraler Besiedlung von Candida spp. nicht eindeutig. Während einige Untersuchungen eine höhere Prävalenzrate fanden, konnten andere dies nicht beweisen (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Auch über die Beziehung zwischen Tabakkonsum und oraler Candidiasis gibt es keine klaren Ergebnisse.
Einige Studien zeigten keine oder nur leichte, nicht signifikante Korrelationen zwischen Candidakolonisation bzw. -infektion und Tabakkonsum (Bastiaan et Reade, 1982; Gergely et al., 1966; King et al., 1994; Oliver et al., 1984; Reichart et al., 2002), andere wiederum fanden Korrelationen (Arendorf et al., 1980; Beasley, 1969).
Eine Studie konnte bei Patienten mit äthyltoxischer Lebererkrankung signifikant höhere Werte für das Auftreten einer ösophagalen Pilzinfektion/-besiedlung nach Abstrichnahme zeigen. Dies könnte auch bei lebertransplantierten Patienten relevant sein (Peter et al., 2000).

Orale Candidiasis - die Krankheit der Kranken - ist seit Hippokrates bekannt (Lynch, 1994).
Die Begriffe Candidiasis und Candidosis werden beide für die Beschreibung von Infektionen mit Candida verwendet.
In vorliegender Arbeit wird die Bezeichnung (orale) Candidiasis verwendet.
Unter einer Candidiasis versteht man die Anwesenheit von Candida spp., vorwiegend C. albicans, C. tropicalis, C. krusei oder C. glabrata, bei gleichzeitig klinischen Zeichen und Symptomen einer Erkrankung.

Die orale Candidiasis kann sich auf verschiedene Weise manifestieren. Die meist benutzte Klassifikation hat Lehner 1966 aufgestellt:

- akute pseudomembranöse Candidiasis
- akute atrophische Candidiasis
- chronisch atrophische Candidiasis
- chronisch hyperplastische Candidiasis und ihre 4 Untergruppen

Da diese Klassifikation sowohl klinische als auch pathologische Kriterien vermischt und es zu Verwechslungen kommen kann, haben Axéll et al. (1997) folgende Klassifikation vorgeschlagen:

1. primäre orale Candidiasis
   - akute Formen
     - pseudomembranös
     - erythematös
   - chronische Formen
     - pseudomembranös
     - erythematös
     - hyperplastisch
       - knotig
       - plaqueartig
   - Candida-assoziierte Läsionen
     - Prothesenstomatitis
     - Cheilitis angularis
     - mediane rhomboide Glossitis
   - keratinisierte Läsionen mit Candida superinfiziert
     - Leukoplakie
     - Lichen planus
     - Lupus erythematosus
2. sekundäre orale Candidiasis
   - orale Manifestationen der systemischen mucocutanösen Candidiasis

Die primäre Form ist auf orale und periorale Bereiche begrenzt, während die sekundäre Form eine orale Candidiasis als Folge einer systemischen mukokutanen Erkrankung, die auf Haut und Schleimhaut ausgedehnt ist, kennzeichnet. Candida-Superinfektionen keratinisierter primärer Veränderungen der oralen Mukosa (Leukoplakie, Lichen planus, Lupus erythematosus) und neue klinische Varianten, die bei HIV-Infektionen auftreten, wurden in der neuen Klassifikation berücksichtigt.

Die akute pseudomembranöse und die chronisch erythematöse Candidiasis sind die am häufigsten vorkommenden Formen.

Die akute pseudomembranöse Form muss nicht immer eine akute Erscheinung sein. Sie kann über Monate bestehen bleiben, wenn keine antimykotische Therapie stattfindet oder sie bei immunsupprimierten Patienten auftritt (Samaranayake et MacFarlane, 1990; Scully et El-Kabir, 1994).

Die pseudomembranösen, weichen Beläge sitzen der Schleimhaut tropfenförmig auf oder konfluieren. Es handelt sich um weiße oder gelbliche Flecken und/oder Plaques (Abb. 1), die abstreifbar sind und eine rote und leicht blutende Oberfläche hinterlassen können. Dieses klinische Zeichen ist zur Abgrenzung gegenüber einer Leukoplakie entscheidend, da bei dieser die Beläge definitionsgemäß nicht entfernt werden können (Lynch, 1994). Die Flecken bestehen aus desquamiertem Epithel, Keratinfibrillen, nekrotischem Gewebe, Speiseresten, Entzündungszellen und Bakterien.

Die Läsion ist oft schmerzlos und wird meist bei normalen Routineuntersuchungen entdeckt. Die umgebende Schleimhaut ist von normaler Textur und Farbe (Reichart et al., 2000).

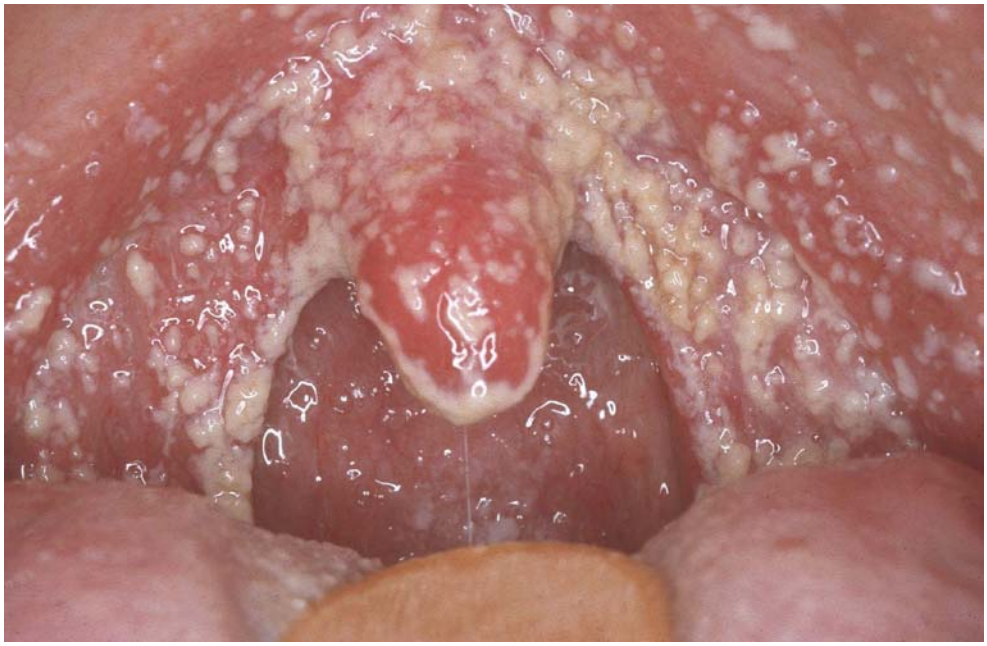

Abb. 1: typisches Erscheinungsbild einer pseudomembranösen Candidiasis

Die akute atrophische Candidiasis ist durch rote Schleimhautgebiete gekennzeichnet. Neben dieser erythematösen Stomatitis findet man am häufigsten eine Atrophie der Zungenpapillen. Streng genommen ist der Terminus “atrophisch“ nur für die Zunge zutreffend, für andere Lokalisationen sollte der Terminus “erythematös“ verwendet werden. Nicht selten findet sich eine erythematöse Candidiasis auf dem Zungenrücken und gleichzeitig spiegelbildlich am Gaumen, bedingt durch den ständigen Kontakt beider Schleimhautoberflächen („kissing lesion“).

Die erythematöse Candidiasis, die öfter bei Antibiotika- oder Kortikoidtherapie auftritt, ist die einzige Form, die schmerzvoll sein kann (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Die chronisch atrophische Candidiasis ist auch als Candida-assoziierte Prothesenstomatitis bekannt. Die von der Prothese bedeckte Schleimhaut ist erythematös. Es können drei Typen unterschieden werden:

- Newton Typ I : eine lokalisierte Entzündung oder eine punktuelle Hyperämie
- Newton Typ II : ein diffuses Erythem
- Newton Typ III : granulärer Typ (Samaranayake et MacFarlane, 1990)

Der Typ I ist charakterisiert durch rote Flecken, die um die Ausführungsgänge der palatinal gelegenen Speicheldrüsen liegen. Der zweite Typ, gekennzeichnet durch diffuse Rötung, erscheint mit diffuser Hyperämie sowie einer glatten, atrophischen Schleimhaut im gesamten Bereich des Prothesenlagers. Der granuläre Typ III der Prothesenstomatitis ist durch eine hyperämische Mukosa mit granulärem oder nodulärem Aussehen gekennzeichnet.

Die hyperplastische Form wird bilateral auf der bukkalen Schleimhaut und retrokommissural beobachtet. Weiße Plaques, die nicht durch Abschaben entfernt werden können, sind charakteristisch. Diese Läsionen sollen im Zusammenhang mit Rauchen stehen (Lynch, 1994). Sie müssen deutlich von der oralen Haarleukoplakie, welcher sie ähneln können, abgegrenzt werden.
Das Risiko einer malignen Umwandlung ist gegeben (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Die Cheilitis angularis (Syn.: Perlèche) wird durch ein multifaktorielles Geschehen hervorgerufen. Bei stärkerer Hautfaltenbildung in dieser Region oder hängenden Mundwinkeln - durch Verlust der vertikalen Kieferrelation als Folge von Prothesen oder Zahnlosigkeit - kommt es zu einer stärkeren Durchfeuchtung der Haut und damit zur Begünstigung der Candidiasis. Weitere Gründe stellen Vitamin B-Komplex- bzw. Eisenmangel dar (Samaranayake, 1986). Da Eisenmangel vermehrt unter Frauen vorkommt, könnte dies eine Ursache für das häufigere Auftreten einer Candidiasis bei Frauen sein (Bastiaan et Reade, 1982). Klinisch manifestiert sich diese Form als rote, fissurale Krusten mit oder ohne Ulzeration, die von den Mundwinkeln ausstrahlen. Neben Candida spp. kann auch Staphylococcus aureus die Infektion auslösen (Samaranayake et MacFarlane, 1990). MacFarlane et al. fanden bei 68 % der Patienten mit Cheilitis angularis eine infektiöse Ätiologie; Staphylococcus aureus wurde in 79 % der Fälle, Candida-Spezies zu 44 % und hämolytische Streptokokken zu 15 % gefunden. Bei 32 % der Patienten konnte allerdings

keine infektiöse Ätiologie nachgewiesen werden (MacFarlane et al., 1976).
Eine Cheilitis angularis wird vermehrt in Assoziation zur chronisch atrophischen Candidiasis beobachtet (Russotto, 1980; Samaranayake, 1986).

Eine andere Candida-assoziierte Manifestation ist die mediane rhomboide Glossitis. Diese Läsion ist durch eine symmetrische, mediane Atrophie der Zungenpapillen am mittleren bis hinteren Zungendrittel gekennzeichnet. Anfangs nahm man an, dass es sich um eine Rückbildungsstörung des Tuberculums impar handelt, heute weiß man, dass auch Candida eine entscheidende Rolle spielt (Lynch, 1994).

Bisher ist nicht geklärt, warum unterschiedliche klinische Manifestationen der oralen Candidiasis entstehen. Alle Formen der oralen Candidiasis können gleichzeitig auftreten.
Es ist auch ungeklärt, ob die erythematöse Candidiasis der pseudomembranösen Candidiasis vorausgeht oder umgekehrt. In einigen Situationen zeigte sich die pseudomembranöse Candidiasis nach mechanischem Abtragen der weißen Plaques als erythematöse Läsion. Eine Reihe von Untersuchern postulierte somit, dass die erythematöse Candidiasis primär und die pseudomembranöse Candidiasis sekundär auftritt (Reichart et al., 2000).
Andere Studien zeigten, dass pseudomembranöse Formen mit niedrigeren $CD4^+$-Zellzahlen, häufig unter 200 Zellen/µl, assoziiert sind (Bruatto et al.,1991; Nielsen et al., 1994; Sangeorzan et al., 1994).
Im Gegensatz dazu ist die erythematöse Candidiasis mit höheren $CD4^+$-Zellzahlen verbunden (Bruatto et al.,1991).

Bei Patienten mit Immunsuppression ist die Prävention der Candidabesiedlung der oropharyngealen Region äußerst wichtig, da von dort eine initiale Kolonisation und eine weiterreichende Infektion erfolgen kann.
Aufgrund der Abwehrschwäche ergeben sich bei Immunsupprimierten häufig Rezidive, die aber auch durch Unterdosierung, falsche Auswahl der Antimykotika, schlechte Compliance oder Veränderungen im Spektrum der Candida-Spezies auftreten können. Candida-Spezies können Resistenzen gegen einzelne Antimykotika aufweisen.
Von besonderer Bedeutung ist zudem die Tatsache, dass die klinische Heilung bzw. das Verschwinden der klinischen Formen nicht mit einer Eradizierung der Pilzflora gleichzusetzen sind (Reichart, 1999).
Zum Therapieerfolg tragen weiterhin die Ausschaltung von prädisponierenden Faktoren, wie

Xerostomie, Rauchen und mangelnde Prothesenhygiene bei.

Topische antifungale Mittel sind erhältlich als Spülungen, Tabletten sowie vaginale Zäpfchen und Cremes.

In der Therapie der Candidiasis stellen Polyene und Azole die weltweit häufigsten genutzten antifungalen Mittel dar.

Die wichtigsten Polyenderivate sind Amphotericin B (Amphotericin B®, Ampho-Moronal®) und Nystatin (Moronal®).

Zur Behandlung einer schweren disseminierten Candida-Infektion gilt die systemische Gabe von Amphotericin B auf Grund seiner ausgeprägten fungiziden Eigenschaften als Therapie der Wahl.

Amphotericin B kann die Plasmaspiegel von Ciclosporin erhöhen (Gerson, 1987) und zeigt schwere Nebenwirkungen wie Nierenschädigung und Blutbildveränderungen.

Zu den Azolderivaten gehören Miconazol (Daktar®), Ketoconazol (Nizoral®), Fluconazol (Fungata®, Diflucan®), Clotrimazol (Canesten®) und Itraconazol (Sempera®).

Fluconazol ist auf Grund der exzellenten pharmakokinetischen Eigenschaften, der geringen Nebenwirkungen und der minimalen Wechselwirkungen mit Ciclosporin ein oft genutztes Antimykotikum nach Transplantation (Paya, 1993). Aber auch hier wurde über erhöhte Plasmaspiegel von Ciclosporin berichtet (Collingnon et al., 1989), was allerdings kein klinisch signifikantes Problem darstellt (Winston et al., 1995). Ein wichtiger Punkt in der Behandlung mit Fluconazol ist die in vitro geringere Empfindlichkeit gegenüber einigen Spezies, z. B. C. krusei (Paya, 1993).

Itraconazol hat ein weiteres Spektrum als Fluconazol und wird deshalb zur Therapie immunkomprimierter Patienten mit Fluconazol-resistenter Candidiasis gewählt (Koks et al., 2002; Rex et al., 2000). Bei Lebererkrankungen ist dieses Medikament jedoch kontraindiziert.

Caspofungin, ein Vertreter der neuen Glukansynthesehemmer, wurde für die Therapie der invasiven Aspergillosen und Candida-Infektionen entwickelt. Zugelassen ist dieses Medikament bisher nur zur Behandlung invasiver Aspergillosen, wenn andere Standardantimykotika nicht ansprechen oder nicht vertragen werden. In vitro Studien haben gezeigt, dass Caspofungin sowohl gegen Azolsensible und -resistente als auch gegen Amphotericin-resistente Candida-Spezies wirksam ist. Klinische Daten und weitere Studien mit resistenten Candida-Spezies werden notwendig sein (Keating et Jarvis, 2001).

2.2 Bedeutung einer Candidiasis nach Organtransplantation

Nach Organtransplantationen erhalten Patienten lebenslang Immunsuppressiva, um eine körpereigene Abstossungsreaktion des Fremdorgans wirksam zu unterbinden. Dadurch wird jedoch gleichzeitig die Kompetenz des Organismus zur Abwehr von pathogenen Erregern deutlich eingeschränkt. In der Mundhöhle kann sich eine mikrobielle Flora aus pathogenen Keimen etablieren, die nach systemischer Ausbreitung im Körper in der Lage ist, schwere Komplikationen hervorzurufen (Colomba et al., 2003; Folwaczny et al., 2002).

Zum einen können diese Infektionen selbst die Morbidität und Mortalität erhöhen (Verweij et al., 2000), zum anderen können Infektionen zur chronischen Abstoßung des Organs führen, was wiederum zur Steigerung der Morbidität und Mortalität führt (Dauber et al., 1990).

Pilzinfektionen stellen bei Patienten nach Transplantation einen Hauptgrund für Morbidität und Mortalität dar. Eine Candiämie bei immunkomprimierten Patienten ist trotz Antimykotika-Prophylaxe mit einer Mortalität von über 50 % verbunden. In einer Studie war die Mortalitätsrate in den ersten acht Wochen nach Lebertransplantation bei Patienten mit Pilzinfektionen mit 69 % deutlich höher als bei Patienten ohne Pilzinfektionen (8 %) (Wajszczuk et al., 1985).

Durch Candida können verschiedenste Infektionen verursacht werden. Möglich sind sowohl oberflächliche als auch disseminierte lebensbedrohende Mykosen, die durch Fieber, Schüttelfrost, Stomatitis, Ösophagitis, Pneumonie, Ophthalmitis, intraabdominale Abszesse, Cholangitis oder Peritonitis gekennzeichnet sind (Emmanouilides et al., 1996; Paya, 2001). Die systemischen Formen können ein Organ betreffen oder aber zu einer Candida-Septikämie führen (Odds, 1988).

Eine oropharyngeale Candidiasis ist nicht der Hauptgrund für die erhöhte Morbidität. Jedoch kann es durch eine Vermehrung der Keime im Gastrointestinaltrakt zu einer lebensbedrohenden Infektion kommen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass es sich bei der systemischen Candidiasis in den meisten Fällen um eine endogene Infektion aus dem Intestinaltrakt des Patienten handelt (Reagan et al., 1990; Voss et al., 1994). Kommt es zu einer massiven Vermehrung humanpathogener Hefen im Darm, können die Erreger über den Weg der Persorption in die Blutbahn und zu anderen Organen gelangen (Rifkind et al., 1967). Das klinische Bild der Pilzsepsis gleicht dem der Sepsis, die durch bakterielle Erreger hervorgerufen wird. DeGregorio et al. konnten bei Patienten mit akuter Leukämie einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer systemischen und einer vorausgegangenen oropharyngealen Candidiasis feststellen (DeGregorio et al., 1982). Eine Behandlung bzw. Prävention oraler Candida-Infektionen ist bei immunsupprimierten Patienten deshalb außerordentlich wichtig.

Unter den verschiedenen Typen der Organtransplantationen variiert das Risiko einer Candida-Infektion. Mehrere Studien gaben für Lebertransplantationen ein höheres Risiko einer invasiven Candidiasis an als für andere Organtransplantationen (Ho et al., 1983; Paya, 1993; Rex et al., 1998; Winston et al., 1995). Das retikuloendotheliale System der Leber ist ein Teil des menschlichen Abwehrsystems. Da dieses physiologische Sieb nach einer Lebertransplantation zunächst nicht adäquat funktioniert, besteht ein höheres Risiko einer Candida-Infektion (Stone et al., 1974). Die höhere Inzidenz wird auch durch die komplexe Operation in der kontaminierten Umgebung der Bauchhöhle erklärt (Winston et al., 1995).
Die Herztransplantation ist der einzige Transplantationstyp bei dem die Pilzinfektion vorrangig nicht durch Candida sp., sondern durch Aspergillus sp. verursacht wird (Paya, 1993).

Die Patienten erhalten in der Regel nach Transplantation folgende Medikamente:

- Immunsuppressiva: Tacrolimus (FK 506, Prograf®), Mycophenolatmofetil (Cellcept®), Ciclosporin A (Sandimmun®, Neoral®), Azathioprin (Imurek®), Rapamycin (Sirolimus®), Kortikosteroide, Interleukin 2-Rezeptor-Antikörper (Simulect®)
- Antivirale Therapie (Acyclovir, Gancyclovir)
- Antimykotika (Amphotericin B, Fluconazol)
- Antibiotika (Trimethoprim-Sulfamethoxazol)
- und andere

Die immunsuppressive Therapie kann einen möglichen Risikofaktor für Infektionen nach Herz- (Baumgartner et al., 1979), Lungen- (Dauber et al., 1990) oder Lebertransplantation (Emmanouilides et al., 1996; Paya, 2001; Winston et al., 1995) darstellen.
Seit der Einführung von Ciclosporin in den 70-er Jahren steigen zwar die Überlebensraten (Hofflin et al., 1987), die Inzidenz von Pilzinfektionen wurde jedoch im Gegensatz zu viralen und bakteriellen Erkrankungen nicht signifikant reduziert (Kim et al., 1989). Ciclosporin wird zudem mit einer hohen Inzidenz der Gingivahyperplasie assoziiert.
Tacrolimus, ein Immunsuppressivum mit ähnlichem Wirkmechanismus wie Ciclosporin A, wurde Ende der 80-er Jahre klinisch eingeführt und gilt als potenteres Mittel. Im Vergleich zu Ciclosporin A wird es mit weniger Abstoßungsreaktionen und Infektionen assoziiert (Hadley et al., 1995; Singh et al., 1997).
Niedrige Dosierungen des Ciclosporins und auch das mit der Einnahme kombinierte Decortin sind wünschenswert, da beide Substanzen u. a. zu Erhöhungen des Blutzuckerspiegels führen können. Höhere Glukosespiegel fördern das Wachstum, die Proliferation und die Adhäsion von

Candida spp. (Samaranayake et MacFarlane, 1990).

Aufgrund des spezifischen Wirkungsmechanismus von Ciclosporin A auf die Aktivität der T-Zell getragenen immunologischen Kompetenz treten bei Patienten nach Organtransplantationen häufig Reaktivierungen viraler Infektionen auf. Besondere Bedeutung kommt der Infektion durch das Cytomegalievirus (CMV) zu. Hierbei kann es sich um eine primäre Infektion oder um eine Reaktivierung einer latenten Infektion handeln. Durch die Infektion mit dem Cytomegalievirus wird die Immunsuppression des befallenen Organismus noch weiter verstärkt (Folwaczny et al., 2002). Die primäre Infektion mit diesem Virus ist in der Regel schwerer als die durch das reaktivierte Virus (Winston et al., 1995).

CMV-Infektionen tragen dazu bei, dass sich bei Patienten nach Transplantation opportunistische Superinfektionen ausbilden können (George et al., 1997; Paulin et al., 1987; Peterson et al., 1980; Schooley et al., 1983). Eine antivirale Therapie kann somit möglicherweise indirekt die Inzidenz von Pilzinfektionen verringern (Wagner et al., 1995).

3 Material und Methoden

3.1 Patienten und Erfassung der Daten

Es wurden 85 Patienten nach Leber-, Herz- und Lungentransplantation in die Untersuchungen eingeschlossen.
Die Patienten suchten die Charité (Campus Virchow-Klinikum) zur regulären Untersuchung in der Transplantationsambulanz auf oder wurden noch stationär betreut.
Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis und wurden über das Vorhaben aufgeklärt (siehe Anhang).

Patientendaten wie Datum, Art und Ursache der Transplantation, Alter, Geschlecht, medikamentöse Therapie, Alkoholabusus, Tabakkonsum sowie das Tragen von Prothesen wurden in einem Erfassungsbogen vermerkt (siehe Anhang). Die notwendigen Blutparameter, in der Regel vom Untersuchungstag, wurden später der Patientenakte entnommen.

3.2 Intraorale Untersuchung und Abstrichnahme mittels Fungi-quick®-System

Bei allen Probanden der Studie wurde die Mundschleimhaut inspiziert sowie Lokalisation, Farbe, Charakter und die klinische Diagnose aller auffälligen Läsionen vermerkt. Prothesen wurden während der Untersuchung aus der Mundhöhle entfernt.

Die Abstrichnahme erfolgte mit Fungi-quick® (Hain Diagnostik, Berlin, Deutschland) nach Herstellervorschrift auf dem hinteren Drittel des Zungenrückens, unabhängig davon, ob eine Candidiasis beobachtet werden konnte oder nicht.
Das Fungi-quick®-System besteht aus zwei sterilen Röhrchen, wobei das eine einen Wattestab enthält und das andere mit ca. 3 ml Sabouraudmedium gefüllt ist.
Der sterile Watteträger wurde mehrmals kräftig auf der Zunge gedreht und dann in das Sabouraudmedium getränkt. Die Aufbewahrung der verschlossenen Röhrchen erfolgte im Dunkeln und bei Raumtemperatur bis zu einigen Monaten. Die Proben wurden in Hong Kong (Prof. L. Samaranayake, University of Hong Kong, Dept. of Oral Science) analysiert.

benötigte Materialien:

- Fungi-quick®-Röhrchen Hain Diagnostik, Berlin, Deutschland
- Mundspiegel
- Diagnostiklampe

Die Proben der Patienten wurden nach folgendem Schema isoliert und identifiziert:

- Anzüchten auf Sabouraud-Agar
- Anzüchten auf CHROMagar®
- Durchführung des Keimschlauchtestes
- Candida-Biotyp-Identifikation durch das API 20 C AUX-System

3.3 Anzüchten auf Sabouraud-Glukose-Agar

Für die primäre Anzucht hat sich das klassische Medium Sabouraud-Glukose-Agar (SDA, pH-Wert= 5,6) bewährt.
Die Abstriche wurden auf Sabouraud-Glukose-Agar ausgestrichen und 7 Tage lang bei 37 °C aerob inkubiert. Der Agar enthält zur Unterdrückung der bakteriellen Flora Chloramphenicol (0,5 g/l) und Gentamicin (0,04 g/l). Das Patientenmaterial wurde auf eine konventionelle Petrischale mit SDA aufgetupft und mit einer Impföse ausgestrichen.
Die Kulturen wurden jeden Tag inspiziert; die Identifizierung erfolgte nach Farbe und Morphologie der Einzelkolonien und Existenz eines Halo.
Die Kultur und die Identifizierung der Spezies erfolgte nach Herstellervorschrift.
Einzelkolonien wurden in Glyzerin bei –70 °C bis zur Spezifikation durch den Keimschlauchtest und das API 20C AUX-System aufbewahrt.

benötigte Materialien:

- Petrischale
- Sabouraud-Glukose-Agar
- Impföse
- Brutschrank 37 °C

3.4 Anzüchten auf CHROMagar®

Die Proben wurden zusätzlich auf CHROMagar® (Chromagar, Paris, Frankreich), ein Differentialnährmedium, das eine Differenzierung unterschiedlicher Candida-Spezies gestattet, ausgestrichen. Auf CHROM-Agar-Platten können C. albicans/C. dubliniensis, C. krusei, C. glabrata und C. tropicalis aufgrund ihrer Pigmentbildung voneinander unterschieden werden. Die Hefen wachsen durch Reaktion von speziesspezifischen Enzymen mit einem Chrom-Substrat mit unterschiedlicher Farbe (Abb. 2). Chromagar setzt sich aus Pepton (10 g/l), Glukose (20 g/l), Agar (15 g/l), Chloramphenicol (0,5 g/l) und einem chromogenem Mix (2 g/l) zusammen (pH-Wert=6,1).
Nach 48 h Inkubation bei 37 °C wurden die Kolonien je nach Morphologie und Pigmentierung nach Odds et Bernaerts (1994) beurteilt.

benötigte Materialien:

- Petrischale
- Chromagar® Chromagar, Paris, Frankreich
- Impföse
- Brutschrank 37 °C

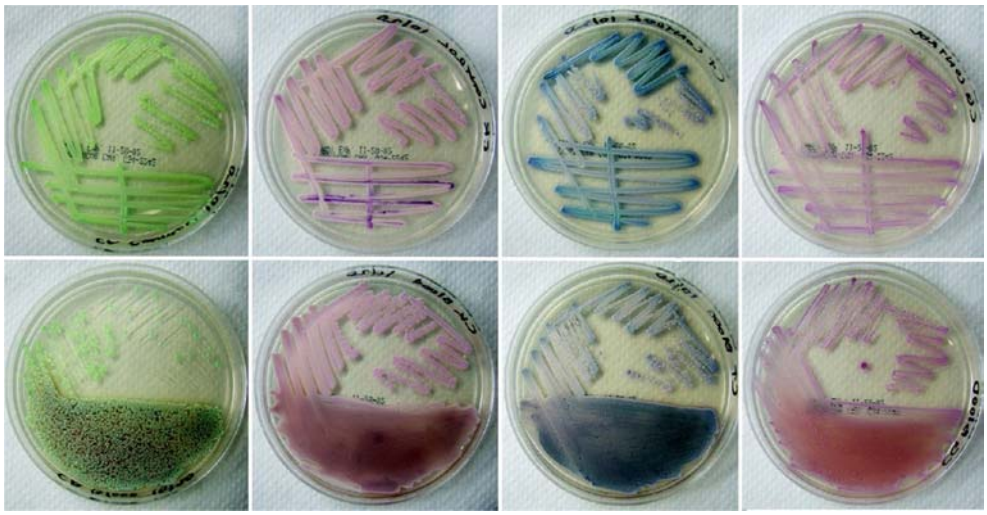

Abb. 2: Chromagar® zur Differenzierung von Candida spp.; zu sehen sind unterschiedliche Farbreaktionen der Hefen: A) C. albicans (grün) B) C. glabrata (hellviolett) C) C. tropicalis (blau) D) C. krusei (blass rosa)

3.5 Keimschlauchtest

Als „Schnelltest“ dient der Keimschlauchtest. Keimschläuche sind schlanke, zylindrische Fäden, die ohne Verengung von der Pilzbasis wachsen. Sie stellen eine Übergangsphase zwischen der Hefe- und Myzelform dar. Die Bildung wird als diagnostisches Kriterium von C. albicans genutzt. C. albicans und C. dubliniensis sind als einzige Spezies in der Lage, sehr schnell Keimschläuche zu bilden. Durch die Fähigkeit zur Ausbildung von Keimschläuchen wird die Adhärenz und damit die Virulenz der Spezies erhöht.
Eine Hefesuspension des zu prüfenden Hefestammes wurde in Serum eingeimpft. Nach 2-3 h Inkubation bei 37 °C wurde die Suspension auf ein Deckglas geschichtet und mikroskopiert (Vergrößerung 450).

benötigte Materialien:

- Serum
- Brutschrank 37 °C
- Mikroskop

3.6 Identifikation der Biotypen durch das API 20 AUX-System

Die biochemische Identifizierung von Candida-Spezies beruht auf der unterschiedlichen Assimilation von Kohlenhydratsubstraten. Die Assimilation ist die Fähigkeit eines Organismus bestimmte Komponenten als einzige Energiequelle für das Wachstum in Anwesenheit von Sauerstoff zu nutzen. Mittels API 20 C AUX-System (Analytical Profile Index; Bio Merieux SA, Frankreich) können die folgenden 19 Substrate als Kohlenstoffquelle genutzt werden: Glukose, Glycerin, 2-Keto-D-Gluconat, L-Arabinose, D-Xylose, Adonit, Xylit, Galaktose, Inosit, Sorbit, α-Methyl-D-Glucosid, N-Acetyl-D-Glucosamin, Celiobiose, Lactose, Maltose, Saccharose, Trehalose, Melezitose und Raffinose.
Die 19 Assimilationsreaktionen und eine Negativkontrolle wurden entsprechend der Methode nach Williamson et al. zur Unterscheidung von Candida-Biotypen verwendet. Die verschiedenen Spezies wachsen nur dann, wenn sie das entsprechende Substrat verwerten können (Williamson et al., 1987).

benötigte Reagenzien und Materialien:

- Ampullen C Medium: (7 ml, End-pH-Wert:6,4-6,8)	Ammoniumsulfat	5,000 g	Bio Merieux SA, F
	Kaliumhydrogenphosphat	0,310 g	
	Dikaliumhydrogenphosphat	0,450 g	
	Dinatriumphosphat	0,920 g	
	Natriumchlorid	0,100 g	
	Calciumchlorid	0,050 g	
	Magnesiumsulfat	0,200 g	
	Histidin	0,005 g	
	Tryptophan	0,020 g	
	Methionin	0,020 g	
	Agar	0,500 g	
	Vitamin-Lösung	1 ml	
	Spurenelemente-Lösung	10 ml	
	Wasser	ad 1000 ml	
- Ampulle Suspensionsmedium 2 ml: oder	demineralisiertes Wasser		Bio Merieux SA, F
NaCl 0,85 % Medium, 2 ml:	Natriumchlorid	8,5 g	
	demineralisiertes Wasser	1000ml	
- RAT Medium (Reis-Agar-Tween)			Bio Merieux SA, F
- Sabouraud Medium			Bio Merieux SA, F
- McFarland Standard Nr.2			Bio Merieux SA, F
- Analytischer Profil-Index API 20 C AUX oder Identifizierungssoftware			Bio Merieux SA, F
- API 20 C AUX Streifen			Bio Merieux SA, F
- Ampullenständer			
- Pipetten			
- Inkubationswanne			
- Brutschrank (30 °C)			
- Kühlschrank			
- Markierstift			
- Ergebnisblätter			

Der Streifen API 20 C AUX besteht aus 20 Mikroröhrchen, in denen sich die dehydrierten Substrate zum Nachweis der Reaktionen befinden. Die Streifen und Medien wurden bei 2-8 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Einige Stunden vor Gebrauch wurden diese aus dem Kühlschrank entnommen, um die Medien auf Raumtemperatur (20-30 °C) zu temperieren.

1. Vorbereiten des Streifens
   - Inkubationswanne zur Herstellung einer feuchten Kammer mit ca. 5 ml destilliertem oder demineralisiertem Wasser füllen; seitlich die Probenummern markieren
   - API 20 C AUX Streifen in die Wanne legen

2. Vorbereiten des Inokulums

- Hefesuspension herstellen, deren Trübung dem McFarland Standard 2 entspricht: einen Teil der Hefekolonien in eine 2 ml Ampulle Suspensionsmedium oder NaCl 0,85 % geben
- 1 Tropfen dieser Hefesuspension auf das RAT Medium geben
- 100 µl Suspensionslösung (2-4 Tropfen) in das Medium C geben

3. Beimpfung des Streifens

- die Mikroröhrchen des Streifens mit der Medium C-Suspensionslösung füllen
- geschlossene Wanne 48-72 h bei 30 °C inkubieren

Nach 48 h Inkubation erfolgte die Ablesung durch Vergleich mit der negativen Wachstumskontrolle im 1. Röhrchen. Oft war eine Inkubationszeit von 48 h bis 72 h notwendig, da einige Tests, vor allem die Glukose-Reaktion, noch nicht klar ablesbar waren. Wurden stärkere Trübungen als die der Kontrolle beobachtet, galt dies als positive Reaktion.

Die Identifizierung wurde anhand des Analytischen Profil-Indexes vorgenommen:

- die 21 Tests (19 Assimilationsreaktionen; eine Negativkontrolle; der 21. Test bezog sich auf den Nachweis von Hyphen oder Pseudohyphen) wurden in sieben Gruppen a 3 Teilreaktionen eingeteilt
- jede negative Reaktion wurde mit 0 bewertet
- jede positive Reaktion erhielt 1, 2 oder 4 Punkte (je nach Position innerhalb der Gruppe, d. h. ob es sich um die 1., 2. oder 3. Reaktion handelte)
- die Zahlenwerte in jeder Gruppe wurden addiert - maximal waren 1+2+4=7 Punkte erreichbar
- für jede Gruppe wurde der Zahlenwert notiert - da sieben Gruppen vorhanden waren, ergab sich eine siebenstellige Biotypnummer

Die Identifizierung kann auch mit der Identifizierungssoftware erfolgen.

3.7 Statistische Analysen

Die statistische Verarbeitung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS® für Windows, Version 11.0. Für den Vergleich von Gruppen mit oder ohne Kolonisation bzw. Infektion bezüglich des Alters, der Blutwerte, der Zeitdifferenz nach Transplantation und der Medikamenteneinnahme wurden der U-Test nach Mann-Whitney oder der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Beim Vergleich von Gruppen mit oder ohne Kolonisation bzw. Infektion bezüglich Geschlecht, Tabakkonsum, Prothesen und der Medikamenteneinnahme kam der Chi-Quadrat-Test zum Einsatz. Aussagen zur Korrelation wurden mit Hilfe des Pearson´schen Koeffizienten getroffen.
Unterschiede galten als signifikant, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ war.

4 Ergebnisse

4.1 Basisdaten der untersuchten Patienten

Insgesamt wurden 85 Patienten (38 Pat. nach Leber-, 34 Pat. nach Herz- und 13 Pat. nach Lungentransplantation) beurteilt.
Die untersuchte Gruppe setzte sich aus 33 (38,8 %) weiblichen und 52 (61,2 %) männlichen Patienten zusammen (Tab. 1). Lungentransplantierte wiesen in ihrer Gruppe ein signifikant größeres Verhältnis von weiblichen zu männlichen Probanden auf als Herz- oder Lebertransplantierte (Chi-Quadrat-Test, p=0,041).

Das Alter der Patienten lag bei 5 bis 69 Jahren (im Mittel 46 Jahre). Das Alter der Probanden war in allen drei Transplantationsgruppen ähnlich. Weibliche Probanden waren durchschnittlich 42 Jahre, männliche Probanden 48 Jahre alt. Das Alter von Prothesenträgern ist mit 56 Jahren signifikant höher als das Alter von Patienten ohne Prothesen (42 Jahre) (Mann-Whitney-U-Test, p=0,001).

23/85 (27,1 %) Probanden waren mit Prothesen versorgt. Die Zahl der Prothesenträger ist bei Frauen mit 12/33 (36 %) höher als bei 11/52 Männern (21 %).
Beim Tragen von Prothesen ergab sich in der Häufigkeit kein signifikanter Unterschied zwischen den Transplantationsgruppen.

12/85 (14,1 %) Probanden gaben Tabakkonsum an, 70/85 Probanden waren Nichtraucher und drei Patienten konnten keine Auskunft über den Tabakkonsum geben.
Nur Patienten nach Lebertransplantation berichteten über Tabakkonsum. Unter den Lungen- und Herztransplantierten kamen ehemalige Raucher vor.

Bei keinem der Patienten lag eine HIV-Infektion vor.

Die Untersuchung fand im Mittel 118 Tage nach Transplantation statt (Minimum 4 Tage, Maximum 259 Tage, Median 125 Tage).
Bei Patienten nach Herz- oder Lungentransplantation erfolgte die Abstrichnahme nach einem signifikant kürzeren Zeitraum nach der Transplantation als bei Patienten nach Lebertransplantation (Chi-Quadrat-Test, p=0,023).

Tab. 1: Basisdaten der Patienten

	Pat. nach Herztransplantation, n = 34	Pat. nach Lebertransplantation, n = 38	Pat. nach Lungentransplantation, n = 13
Geschlecht	24 männl./10 weibl.	24 männl./14 weibl.	4 männl./9 weibl.
Alter (Jahre, Mittel)	43	49	44
Pat. mit Prothesen	6	13	4
Pat. mit Tabakkonsum	0	12	0
Zeitraum nach Tx (d)	78	181	73

Bei neun Patienten wurde ein zweiter Abstrich genommen, bei einem Patienten ein dritter.

Die Grundkrankheiten, die eine Transplantation notwendig machten, wurden nachfolgend ermittelt (Tab. 2).

Tab. 2: Aufzählung der Erkrankungen, die eine Organtransplantation notwendig machten (angegeben wurde die Anzahl der Patientenfälle, wobei Mehrfacherkrankungen möglich sind)

Herztransplantation	n=34	Lebertransplantation	n=38	Lungentransplantation	n=13
dilatative Kardiomyopathie (dKMP)	18	Leberzirrhose		Mukoviscidose	3
		- nutritiv toxische	11		
		- nach Hepatitis C	13		
		- nach Hepatitis D	1		
		- unbekannter Ursache	3		
		- Autoimmunzirrhose	2		
		- bei Morbus Osler	1		
		- nach Hämochromatose	1		
koronare Herzkrankheit (KHK)	9	Hepatitis		Lungenfibrose	3
		- B	2		
		- A und B	1		
		- granulomatöse bei Yersiniosen	1		
restriktive Kardiomyopathie (rKMP)	2	- hepatozelluläres Karzinom	8	Lungenemphysem	3
		- malignes Hämangioendotheliom	1		
		- cholangiocelluläres Karzinom	1		
Marfan-Syndrom	2	Budd-Chiari-Syndrom	1	pulmonale Hypertonie	2
angeborene Herzfehler	2	primär sklerosierende Cholangitis	1	Sarkoidose	1
Herzklappenfehler	1	subfulminantes Leberversagen unklarer Genese	1	Bronchiolitis obliterans	1
		akutes Leberversagen durch Kava-Kava-Intoxikation	1		

Die Patienten erhielten je nach Typ der Organtransplantation u. a. nachfolgend genannte Medikamente (Tab. 3).

Tab. 3: medikamentöse Therapie der Patienten

Medikament	Pat. nach Herz-Tx (n = 34)		Pat. nach Leber-Tx (n = 38)		Pat. nach Lungen-Tx (n = 13)		alle Patienten (n = 85)	
Ciclosporin	34	100 %	3	8 %	11	85 %	48	56 %
Tacrolimus	0	0 %	35	92 %	2	16 %	37	44 %
Mycophenolatmofetil	31	91 %	15	39 %	12	92 %	58	68 %
Rapamycin	0	0 %	4	11 %	0	0 %	4	5 %
Kortikosteroide	33	97 %	22	58 %	13	100 %	68	80 %
Antibiotika	20	59 %	8	21 %	13	100 %	41	48 %
Antimykotika	21	62 %	0	0 %	10	77 %	31	36 %

Die immunsuppressive Therapie unterschied sich in Abhängigkeit von der Transplantationsgruppe: während Patienten nach Lebertransplantation vorrangig Tacrolimus als Immunsuppressivum bekamen, erhielten Herz- und Lungentransplantierte in der Regel Ciclosporin und Mycophenolatmofetil.

Eine antivirale Therapie erhielten 47/85 Patienten (55 %).

31/85 Patienten (36 %) wurden mit Antimykotika therapiert.
Als Antimykotika kamen zum Einsatz:

- Polyenderivat	Amphotericin B:	31/85 Patienten	(36 %)
- Azolderivate	Itraconazol:	4/85 Patienten	(4,7 %)
	Fluconazol:	2/85 Patienten	(2,3 %)
- Glukansynthesehemmer	Caspofungin:	2/85 Patienten	(2,3 %)

Itraconazol, Fluconazol und Caspofungin wurden nur in Verbindung mit Amphotericin B gegeben.
Von allen Patienten, die Antimykotika erhielten (n = 31), wurden 30 Patienten zusätzlich mit Kortikosteroiden und 28 Patienten mit Antibiotika therapiert.

4.2 Befunddaten der Patienten

4.2.1 Prävalenz aller oralen Läsionen

Orale Läsionen traten bei 36/85 (42,4 %) Patienten auf (Tab. 4).

Tab. 4: Prävalenz aller oralen Läsionen (Mehrfacherkrankung möglich); n = 85

orale Läsion	Anzahl der Patienten	prozentualer Anteil (%)
Candidiasis	21	24,7
braune Haarzunge	4	4,7
ektope Talgdrüsen	4	4,7
Schleimhautverletzung durch Wangenbeißen	2	2,4
Landkartenzunge	2	2,4
nekrotisierende Gingivitis	1	1,2
nekrotisierende Parodontitis	1	1,2
Gingivahyperplasie	1	1,2
Rauchergaumen	1	1,2

4.2.2 Prävalenz der oralen Candidiasis

Eine orale Candida-Kolonisation wurde als solche definiert, sobald Candida spp. nach Kultivierung auf Sabouraud-Glukose-Agar identifiziert wurden. Eine orale Candidiasis war definiert als orale Kolonisation bei gleichzeitig vorhandenen klinischen Zeichen einer pseudomembranösen bzw. erythematösen Läsion, einer Cheilitis angularis oder einer medianen rhomboiden Glossitis. Die Prävalenz der oralen Candidiasis ist in Tab. 5 angegeben.

Tab. 5: Prävalenz der oralen Candidiasis (Mehrfacherkrankung möglich); n = 85

klin. Manifestation der Candidiasis	Anzahl der Patienten	prozentualer Anteil (%)
orale Candidiasis gesamt	21	24,7
pseudomembranöse Candidiasis	13	15,3
erythematöse Candidiasis	8	9,4
Cheilitis angularis	1 (3)	1,2 (3,5)
mediane rhomboide Glossitis	2	2,4

Eine orale Candidiasis wurde bei 21/85 Patienten (24,7 %) diagnostiziert, wobei die pseudomembranöse Form am häufigsten auftrat (15,3 %), gefolgt von der erythematösen Form (9,4 %) sowie der Cheilitis angularis (1,2 %).

Ein Patient wies neben der pseudomembranösen Candidiasis auch eine erythematöse Candidiasis auf.
Bei beiden Patienten mit medianer rhomboiden Glossitis konnte neben dieser eine erythematöse Candidiasis beobachtet werden.
Bei zwei Patienten, bei denen eine Cheilitis angularis festgestellt wurde, konnte kein Pilz nachgewiesen werden. Da bei Patienten mit einer Cheilitis angularis auch andere Keime wie z. B. Staphylococcus aureus identifiziert wurden oder eine infektiöse Ätiologie nicht gefunden werden konnte (MacFarlane et al., 1976), wurden diese Fälle nicht als Candidiasis gewertet.

4.2.3 Candida-Spezies und Biotypen

In Tab. 6 werden alle identifizierten Keime und die entsprechenden Biotypen der Patienten in Abhängigkeit zum Transplantationstyp, Prothesentragen, zur medikamentösen Therapie und klinischen Manifestation genannt. Zuerst wurden alle Patienten ohne Hefepilz, dann alle Patienten, bei denen C. albicans-Spezies identifiziert wurden und später Patienten mit non-albicans-Spezies aufgelistet. Ein zweiter Abstrich wurde mit „*A*“ gekennzeichnet, ein dritter mit „*B*“. Diese Abstriche wurden direkt nach dem ersten Abstrich eingeordnet, um eventuelle Spezies-Wechsel zu erkennen.
Nur der erste Abstrich ging in die statistische Auswertung ein. Weitere Abstriche vom gleichen Patienten wurden gesondert betrachtet. Eine statistische Auswertung aller weiteren Abstriche konnte auf Grund der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt werden.

Tab. 6: identifizierte Candida-Spezies und entsprechende Biotypen der Patienten in Abhängigkeit zum Organtyp, Tragen von Prothesen, zur medikamentösen Therapie und klinischen Manifestation; der zweite Abstrich wurde mit „*A*“, ein dritter Abstrich mit „*B*“ gekennzeichnet

Patientennummer	Spezies	Biotyp	Organtyp	Prothese	klinische Manifestation der Candidiasis			Immunsuppressiva					Virustatika	Antibiotika	Antimykotika			
					pseudomembranös	erythematös	Cheilitis angularis	Ciclosporin	Tacrolimus	Mycophenolatmofetil	Rapamycin	Kortikoide			Amphotericin B	Diflucan	Itraconazol	Caspofungin
1	-		Leber				(x)		x			x	x					
2	-	-	Leber						x	x								
3	-	-	Leber						x									
4	-	-	Leber	x					x			x	x	x				
5	-	-	Leber						x		x	x						
6	-	-	Leber						x	x								
7	-	-	Leber						x									
8	-	-	Leber						x									
9	-	-	Herz	x				x		x		x		x	x			
9A	-	-	*Herz*	*x*				*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*			
9B	*C. albicans 1*	*2576174*	*Herz*	*x*				*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*			
10	-	-	Herz					x		x		x	x	x	x			
10A	-	-	*Herz*					*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*			
11	-	-	Herz					x		x		x		x	x			x
11A	-	-	*Herz*					*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*		*x*	
12	-	-	Herz					x		x		x	x		x			
13	-	-	Herz					x		x		x	x	x	x			
14	-	-	Herz					x				x	x					
15	-	-	Herz	x				x		x		x	x					
16	-	-	Herz					x				x	x					
17	-	-	Herz					x		x		x	x	x	x			
18	-	-	Herz					x		x		x	x					
19	-	-	Lunge						x			x	x	x	x		x	
19A	*C. albicans 2*	*2540134*	*Lunge*						*x*	*x*		*x*	*x*	*x*	*x*		*x*	
20	-	-	Lunge					x		x		x	x	x				
21	-	-	Herz				(x)	x		x		x	x					
22	C. albicans	2556134	Lunge	x		x		x		x		x	x	x	x			
23	C. albicans 1	2176174	Herz	x				x		x		x	x	x				
24	C. albicans 1	2576174	Leber						x	x	x	x						
25	C. albicans 1	2576174	Leber						x	x								
26	C. albicans 1	2576174	Leber	x	x			x				x						
27	C. albicans 1	2576174	Leber						x	x		x						
28	C. albicans 1	2576174	Leber	x	x				x			x	x					

Patientennummer	Spezies	Biotyp	Organtyp	Prothese	klinische Manifestation der Candidiasis			Immunsuppressiva							Antimykotika			
					pseudomembranös	erythematös	Cheilitis angularis	Ciclosporin	Tacrolimus	Mycophenolatmofetil	Rapamycin	Kortikoide	Virustatika	Antibiotika	Amphotericin B	Diflucan	Itraconazol	Caspofungin
29	C. albicans 1	2576174	Leber		x				x	x								
30	C. albicans 1	2576174	Leber	x					x	x								
31	C. albicans 1	2576174	Leber	x		x			x	x		x		x				
32	C. albicans 1	2576174	Leber						x		x	x	x					
33	C. albicans 1	2576174	Leber						x			x						
34	C. albicans 1	2576174	Leber						x			x						
35	C. albicans 1	2576174	Leber						x				x	x				
36	C. albicans 1	2576174	Leber						x	x								
36A	*C. albicans 1*	*2776174*	*Leber*						*x*	*x*								
37	C. albicans 1	2576174	Leber			x			x			x	x	x				
38	C. albicans 1	2576174	Leber	x					x			x						
39	C. albicans 1	2576174	Leber					x		x		x						
40	C. albicans 1	2576174	Leber						x			x	x	x				
41	C. albicans 1	2576174	Leber						x		x							
42	C. albicans 1	2576174	Herz		x			x		x		x	x	x	x			
42A	*C. albicans 1*	*2576174*	*Herz*					*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*			
43	C. albicans 1	2576174	Herz	?				x		x		x		x	x	x		
44	C. albicans 1	2576174	Lunge	x	x			x		x		x	x	x	x			
44A	*C. albicans 1*	*2576174*	*Lunge*	*x*	*x*			*x*	*x*	*x*		*x*	*x*	*x*	*x*		*x*	
45	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x		x	x	x		
46	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x	x	x	x			
47	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x		x				
48	C. albicans 1	2576174	Herz	x		x		x		x		x						
49	C. albicans 1	2576174	Herz		x			x				x	x	x	x			
50	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x	x	x	x			
51	C. albicans 1	2576174	Herz		x			x		x		x	x		x			
51A	*C. famata*	*6776563*	*Herz*		*x*	*x*		*x*		*x*		*x*			*x*	*x*	*x*	
52	C. albicans 1	2576174	Herz	x				x		x		x	x	x	x			
53	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x						
54	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x	x					
55	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x	x					
56	C. albicans 1	2576174	Lunge					x		x		x	x	x				
57	C. albicans 1	2576174	Herz				x	x		x		x	x	x	x			
58	C. albicans 1	2576174	Herz					x		x		x	x					
59	C. albicans 1	2576174	Herz		x			x		x		x						
60	C. albicans 1	2576174	Lunge	x				x		x		x		x	x			

Patientennummer	Spezies	Biotyp	Organtyp	Prothese	klinische Manifestation der Candidiasis			Immunsuppressiva							Antimykotika			
					pseudomembranös	erythematös	Cheilitis angularis	Ciclosporin	Tacrolimus	Mycophenolatmofetil	Rapamycin	Kortikoide	Virustatika	Antibiotika	Amphotericin B	Diflucan	Itraconazol	Caspofungin
61	C. albicans 1	2576175	Lunge					x		x		x	x	x				
62	C. albicans 1	2776174	Leber	x					x	x								
63	C. albicans 1	2776174	Leber						x	x		x						
64	C. albicans 1	2776174	Leber						x				x	x				
65	C. albicans 1	2776174	Leber		x	x			x			x	x					
66/1	C. albicans 1	6566174	Leber	x					x									
66/2	C. albicans 1	6576174	Leber	x					x									
67	C. albicans 1	6576174	Leber	x				x		x			x					
68	C. dubliniensis	6172130	Leber						x	x								
69	C. famata	6376170	Leber	x					x			x						
70	C. famata	6576771	Lunge					x		x		x	x	x	x			
71	C. glabrata	2000040	Leber	x		x			x			x	x	x				
72	C. glabrata	2000040	Leber	x		x			x			x		x				
73	C. glabrata	2000040	Leber	x		x			x			x						
74	C. glabrata	2000040	Lunge	?				x		x		x		x	x		x	
75	C. glabrata	2000040	Lunge	?				x		x		x	x	x	x			x
76	C. glabrata	2000040	Herz	x				x		x		x			x		x	
77	C. guilliermondii	6776373	Herz		x			x		x			x	x	x			
78	C. kefyr	2042420	Herz					x		x		x	x	x	x			
79	C. krusei	6000000	Lunge					x		x		x	x	x	x			
80	C. krusei	6000100	Herz		x			x		x		x	x	x	x			
80A	*C. krusei*	*6000100*	*Herz*		*x*			*x*		*x*		*x*	*x*	*x*	*x*			
81	C. krusei	6000100	Herz		x			x		x		x	x	x	x			
82	C. krusei	6000100	Lunge		x			x		x		x	x	x	x		x	
83	C. lusitaniae	6516371	Herz					x		x		x	x	x	x			
84	C. magnoliae	6000020	Lunge	x					x	x		x	x	x	x			
85	P. ohmeri	6156172	Leber						x	x		x						

Bei den Patienten erfolgte die Identifizierung der Candida spp. mit einer Genauigkeit von 33,9 % bis 99,9 %.

4.2.4 Prävalenz der Candidakolonisation

Bei 63/85 Patienten (74,1 %) konnten Candida-Spezies nachgewiesen werden.
Von allen gefundenen Candida-Isolaten war C. albicans die am häufigsten isolierte Spezies (73,0 %), gefolgt von C. glabrata, C. krusei und C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %) (Tab. 7).
Außerdem wurden identifiziert: C. dubliniensis, C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae, C. magnoliae (jeweils 1,6 %) und in einem Fall Pichia ohmeri, ein anderer Hefepilz.
Bei 42/63 Patienten (66,7 %) zeigten sich bei positivem Laborbefund keine klinischen Zeichen einer oralen Candidiasis. Bei 21/63 Patienten konnte auch klinisch eine Candidiasis beobachtet werden (Tab. 5).

Tab. 7: identifizierte Candida-Spezies

Spezies	Anzahl der Pat. n = 85	Anteil (%) von allen Candida spp.; n = 63
C. albicans	46	73,0
C. glabrata	6	9,5
C. krusei	4	6,3
C. famata	2	3,2
C. dubliniensis	1	1,6
C. guilliermondii	1	1,6
C. kefyr	1	1,6
C. lusitaniae	1	1,6
C. magnoliae	1	1,6
keine Candida-Spezies	22	-

Die identifizierten Candida-Spezies setzten sich zu 73 % (46/63 Spezies) aus C. albicans-Isolaten und zu 27 % (17/63 Spezies) aus non-albicans-Spezies zusammen.

C. tropicalis konnte in keinem der Fälle nachgewiesen werden.

Biotypen von C. albicans

Für C. albicans konnten sieben verschiedene Phänotypen gefunden werden. 37/47 (78,8 %) der Biotypen von C. albicans gehörten zum klassischen Phänotyp 2576174 (Tab. 8). Alle Isolate waren positiv für Glukose (sieben-stellige Biotypnummer beginnend mit 2 oder 6).
Nur ein Patient wies eine Kombination zweier Biotypen auf. Bei ihm konnten gleichzeitig der Biotyp 6566174 sowie der Biotyp 6576174 von C. albicans gefunden werden. Eine Candidiasis wurde jedoch nicht beobachtet.

Tab. 8: Biotypen von C. albicans; n = 47

Biotypen von C. albicans	Anzahl der Fälle	prozentualer Anteil (%)
2576174	37	78,8
2776174	4	8,5
6576174	2	4,3
2176174	1	2,1
2556134	1	2,1
2576175	1	2,1
6566174	1	2,1

In Tab. 9 wird die Candidakolonisation und -infektion in Abhängigkeit vom Geschlecht, Tragen von Prothesen und dem Tabakkonsum dargestellt.

Tab. 9: Candidakolonisation und -infektion in Abhängigkeit vom Ge
schlecht, Tragen von Prothesen und dem Tabakkonsum

		C.-kolonisation (%)	C.-infektion (%)
Geschlecht			
weiblich	(n=33)	76	30
männlich	(n=52)	73	21
Prothesen			
Prothesenträger	(n=23)	87	39
Pat. ohne Prothese	(n=59)	68	20
Tabakkonsum			
Raucher	(n=12)	75	17
Nichtraucher	(n=70)	73	27

4.2.5 Candidakolonisation und -infektion in Abhängigkeit von der Antimykotikatherapie

In Tab. 10 bzw. Tab. 11 werden die Prävalenzen der Candidainfektion und -kolonisation der Patienten ohne bzw. mit Antimykotikatherapie gezeigt.

Tab. 10: Prävalenz der Candidainfektion und -kolonisation bei Patienten
ohne Antimykotikatherapie (n = 54)

	Anzahl der Patienten	prozentualer Anteil
orale Candidiasis	11/54	20,4 %
Candida spp.	39/54	72,2 %
C. albicans	34/39	87,2 %
C. glabrata	3/39	7,7 %
C. dubliniensis	1/39	2,6 %
C. famata	1/39	2,6 %
(Pichia ohmeri)	(1/54)	(1,9 %)

Tab. 11: Prävalenz der Candidainfektion und –kolonisation bei Patienten mit Antimykotikatherapie (n = 31)

	Anzahl der Patienten	prozentualer Anteil
orale Candidiasis	10/31	32,3 %
Candida spp.	24/31	77,4 %
C. albicans	12/24	50,0 %
C. krusei	4/24	16,6 %
C. glabrata	3/24	12,5 %
C. famata	1/24	4,2 %
C. guilliermondii	1/24	4,2 %
C. kefyr	1/24	4,2 %
C. lusitaniae	1/24	4,2 %
C. magnoliae	1/24	4,2 %

Bei Patienten ohne antimykotischer Therapie konnten drei, bei Patienten mit Antimykotikatherapie sieben verschiedene non-albicans-Spezies isoliert werden.

C. krusei wurde nur bei Patienten mit Antimykotikagabe (3 Patienten Amphotericin B; 1 Patient Amphotericin B und Itraconazol) nachgewiesen, bei 3/4 Patienten konnte der Biotyp 6000100 identifiziert und eine pseudomembranöse Candidiasis beobachtet werden. Der Patient ohne Candidiasis hatte den Biotyp 6000000 von C. krusei.

Häufigkeit der Biotypen in Abhängigkeit von der Antimykotikatherapie

Aufgrund der höheren Speziesvielfalt bei Patienten mit Antimykotikatherapie wurde bei diesen Patienten auch eine höhere Anzahl verschiedener Biotypen gefunden. Bei Patienten mit Antimykotikatherapie konnten zehn, bei Patienten ohne Antimykotikatherapie nur neun verschiedene Biotypen identifiziert werden. Bei Patienten ohne Antimykotikatherapie wurden jedoch sechs, bei Patienten mit Antimykotikatherapie nur zwei verschiedene Biotypen von C. albicans nachgewiesen (Tab. 12 und Tab. 13).

Tab. 12: Häufigkeit der Biotypen von C. albicans bei Patienten ohne Antimykotikatherapie

Biotyp	Anzahl	prozentualer Anteil (%)
2576174	26	74
6566174	1	3
6576174	2	6
2776174	4	11
2176174	1	3
2176174	1	3
2576175	1	3
2576175	1	3

Tab. 13: Häufigkeit der Biotypen von C. albicans
bei Patienten mit Antimykotikatherapie

Biotyp	Anzahl	prozentualer Anteil (%)
2576174	11	92
2556134	1	8

4.2.6 Keimschlauchbildung und farbiges Wachstum auf CHROMagar®

Alle C. albicans-Isolate (100 %) haben Keimschläuche gebildet. Bei allen anderen Candida-Spezies fiel der Keimschlauchtest negativ aus.

Das Anzüchten auf CHROMagar® zeigte farbiges Wachstum wie folgt:

C. albicans	hellgrün, dunkelgrün, blau-grün
C. dubliniensis	grün
C. famata	hellviolett, grün
C. glabrata	hellviolett, violett
C. guilliermondii	violett
C. kefyr	hellviolett
C. krusei	hellviolett
C. lusitaniae	weiß
C. magnoliae	hellviolett
P. ohmeri	hellviolett

Bei 10,9 % wurden atypische dunkelgrüne Kolonien von C. albicans auf CHROMagar® beobachtet, wogegen 87,7 % die typisch hellgrüne Farbe zeigten.

4.3 Korrelationen

4.3.1 Einfluss des Geschlechtes auf die Candidakolonisation und -infektion

In die Untersuchung wurden 33 (38,8 %) weibliche und 52 (61,2 %) männliche Personen einbezogen.

Die Candidakolonisation bzw. -infektion weiblicher Probanden war ähnlich derer männlicher Probanden (76 % vs. 73 %, Chi-Quadrat-Test, p=0,78 bzw. 30 % vs. 21 %, Chi-Quadrat-Test,

p=0,44) (Tab. 9).

Ebenfalls statistisch nicht signifikant ist, dass weibliche Patienten mehr non-albicans-Spezies (40 % vs. 18 %), jedoch weniger C. albicans (60 % vs. 82 %) (Chi-Quadrat-Test, p=0,06) aufwiesen, als männliche Patienten.

4.3.2 Einfluss des Alters auf die Candidakolonisation und -infektion

Das Alter der Probanden hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Candidakolonisation bzw. –infektion (Mann-Whitney-U-Test, p>0,05). Das Alter der Patienten lag im Durchschnitt bei 46 Jahren (Minimum 5 Jahre, Maximum 69 Jahre, Median 49 Jahre). Teilt man die Patienten entsprechend dem Alter in zwei Gruppen gleicher Personenzahl, so konnten in der ersten Gruppe (5 bis 49 Jahre) zu 79 % Candida spp. nachgewiesen werden, in der zweiten Gruppe (ab 50 Jahre) zu 69 %. Diese Differenz ist jedoch nicht signifikant (Chi-Quadrat-Test, p=0,29).

4.3.3 Einfluss von Prothesen auf die Candidakolonisation und -infektion

23/ 85 Patienten (27,1 %) trugen eine Prothese. 59 Probanden trugen keine Prothese, bei drei Probanden war hierzu keine Aussage möglich.

Das Tragen von Prothesen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Candidakolonisation.

Nur das Auftreten einer erythematösen Candidiasis war bei Prothesenträgern statistisch signifikant höher als bei Patienten ohne Prothese (Chi-Quadrat-Test, p=0,005) (Tab. 14). Bei 6/23 (26 %) Prothesenträgern konnte eine erythematöse Candidiasis beobachtet werden, wogegen diese nur bei 2/59 (3 %) Patienten ohne Prothesen auftrat.

Tab. 14: Candidakolonisation und -infektion bei Patienten mit/ohne Prothese

	Pat. ohne Prothese n=59		Prothesenträger n=23		p (Chi-Quadrat-Test)
Candidakolonisation	68 %	40 Pat.	87 %	20 Pat.	0,08
Candidiasis	20 %	12 Pat.	39 %	9 Pat.	0,08
pseudomembranös	17 %	10 Pat.	13 %	3 Pat.	0,7
erythematös	3 %	2 Pat.	26 %	6 Pat.	0,005

In dieser Studie wurde bei sechs Patienten C. glabrata nachgewiesen (Tab. 7).
Vier dieser Patienten trugen eine Prothese, wobei drei dieser vier Patienten eine erythematöse Candidiasis entwickelten, der vierte Patient stand unter Antimykotikatherapie (Tab. 6). Bei ihm wurde keine Candidiasis beobachtet. Bei Prothesenträgern stieg die Prävalenz von C. glabrata auf 20 % (4/20 Patienten) an.
Die zwei anderen Patienten, bei denen C. glabrata identifiziert wurde, konnten auf Grund des Krankheitszustandes keine Angaben zum Tragen von Prothesen machen. Eine Candidiasis wurde hier nicht beobachtet. Bei diesen Patienten erfolgte ebenfalls eine Antimykotikatherapie.

4.3.4 Einfluss des Tabakkonsums auf die Candidakolonisation und -infektion

70/85 Probanden waren Nichtraucher. Bei drei Patienten konnte der Tabakkonsum nicht ermittelt werden. 12 Patienten (alle nach Lebertransplantation) waren Raucher.
Zwischen Tabakkonsum und Candidakolonisation bzw. -infektion konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden (Tab. 9).

4.3.5 Einfluss des Zeitraumes zwischen Abstrichnahme und Transplantation auf die Candidakolonisation und -infektion

Die Untersuchung fand nach mindestens 4 bis höchstens 259 Tagen statt (Median 125 Tage).
Bei Patienten, die non-albicans-Spezies aufwiesen, lag zwischen Transplantation und Abstrichnahme ein signifikant kürzerer Zeitraum (Median 21 Tage) als bei Patienten mit C. albicans-Isolaten oder bei Patienten ohne Pilznachweis (Median 147 Tage bzw. 152 Tage) (Kruskal-Wallis-Test, p=0,027).
Der Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme spielte keine signifikante Rolle für das Auftreten einer Candidiasis. Bei Patienten ohne Candidiasis betrug der Zeitraum 150 Tage (Medianwert), Patienten mit Candidiasis wiesen einen Zeitraum von 63 Tagen auf (Medianwert) (Mann-Whitney-U-Test, p=0,064).

In Tab. 15 werden die Patienten, bei denen die Candida-Untersuchung höchstens 125 Tage nach Transplantation erfolgte, mit denen, die später untersucht wurden, verglichen.
Die Zahl der Patienten mit non-albicans-Spezies ist in der ersten Gruppe größer als in der zweiten Gruppe (13/43 vs. 4/42 Patienten). Dagegen ist die Zahl der Patienten mit C. albicans und mit

keiner nachgewiesenen Candida-Spezies in der ersten Gruppe geringer als in der zweiten (21/43 vs. 25/42 Patienten; 9/43 vs. 13/42 Patienten; Chi-Quadrat-Test, p=0,054).

Signifikante Korrelationen gab es bezüglich der Leukozyten- bzw. Lymphozytenzahl, der Anzahl neutrophiler Zellen und dem Hämoglobinwert (r=0,417,p=0,000; r=0,331 Spearman, p=0,013; r=0,54, p=0,000; r=0,46, p=0,000) (Tab. 15).
Bei Patienten, die einen kürzeren Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme aufwiesen, ist die Leukozytenzahl und die Anzahl neutrophiler Granulozyten höher und die Lymphozytenzahl sowie der Hämoglobinwert (Medianwerte) geringer als bei Patienten mit späterer Abstrichnahme.
Auch die Einnahme von immunsuppressiven, antimykotischen und antibiotischen Medikamenten unterscheidet sich signifikant.

Tab. 15: Candidakolonisation, Medikamenteneinnahme und serologische Parameter bei Patienten nach Tx je nach Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme

	Zeitraum zwischen Tx und Abstrichnahme ≤ 125 Tage (n= 43)		Zeitraum zwischen Tx und Abstrichnahme > 125 Tage (n = 42)		Chi-Quadrat-Test; Pearson
Candidakolonisation	79 %	(34 Pat.)	69 %	(29 Pat.)	p = 0,29
C. albicans keine Candida spp. non-albicans-Spezies	49 % 21 % 30 %	(21 Pat.) (9 Pat.) (13 Pat.)	60 % 31 % 9 %	(25 Pat.) (13 Pat.) (4 Pat.)	p = 0,054
Ciclosporin	67 %	(29 Pat.)	45 %	(19 Pat.)	p = 0,039
Tacrolimus	33 %	(14 Pat.)	55 %	(23 Pat.)	p = 0,039
Kortikoide	91 %	(39 Pat.)	69 %	(29 Pat.)	p = 0,013
Antimykotika	53 %	(23 Pat.)	19 %	(8 Pat.)	p = 0,001
Antibiotika	74 %	(32 Pat.)	21 %	(9 Pat.)	p = 0,000
Leukozytenzahl K/µl (Median)	8,2		5,5		r = 0,417 p = 0,000
Lymphozytenzahl Zellen/µl (Median)	593		1015		r = 0,331 Spearman, p = 0,013
Anzahl neutrophiler Granulozyten K/µl (Median)	6,9		3,1		r = 0,54 p = 0,000
Hämoglobinwert g/dl (Median)	10,9		11,9		r=0,46 p=0,000

In der ersten Gruppe lag die Lymphozytenzahl unter dem Normbereich (864-5110 Zellen/µl) und die Zahl der neutrophilen Granulozyten war zu hoch (Normbereich 1,4-6,5 K/µl). Der Hämoglobinwert lag in beiden Gruppen unter dem Normbereich (12-17,5 g/dl).

Patienten, bei denen die Abstrichnahme eher erfolgte, bekamen signifikant häufiger Antimykotika (Mann-Whitney-U-Test, p=0,001).

4.3.6 Einfluss der Medikamenteneinnahme auf die Candidakolonisation und -infektion

In Tab. 16 werden die Prävalenzen einer Candidakolonisation bzw. -infektion in Abhängigkeit von ausgewählter medikamentöser Therapie gegenübergestellt.

Tab. 16: Gegenüberstellung der Patienten mit/ ohne immunsuppressiver sowie antiviraler, antibiotischer oder antimykotischer Therapie bezüglich einer Candidiasis bzw. im Nachweis von Candida spp.

Medikament	Candidakolonisation (%)	p (Chi-Quadrat-Test)	orale Candidiasis (%)	p (Chi-Quadrat-Test)
Ciclosporin keine Therapie Therapie	 73 75	0,8	 22 27	0,6
Tacrolimus keine Therapie Therapie	 75 73	0,8	 27 22	0,6
Mycophenolatmofetil keine Therapie Therapie	 67 78	0,3	 30 22	0,5
Rapamycin keine Therapie Therapie	 74 75	1.0	 26 0	0,6
Kortikosteroide keine Therapie Therapie	 71 75	0,8	 12 28	0,2
Virustatika keine Therapie Therapie	 76 72	0,7	 18 30	0,2
Antibiotika keine Therapie Therapie	 68 80	0,2	 18 32	0,1
Antimykotika keine Therapie Therapie	 72 77	0,6	 20 32	0,2

Alle genannten Medikamente hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Candidakolonisation bzw. -infektion.

Immunsuppressiva

Zwischen Patienten mit bzw. ohne immunsuppressiver Therapie mittels Ciclosporin, Tacrolimus, Mycophenolatmofetil, Rapamycin oder Kortikosteroiden konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich einer Candidiasis bzw. im Nachweis von Candida spp. gefunden werden (Tab. 16).
Auch unterscheiden sich die Patienten, die Ciclosporin als Immunsuppressivum erhielten, in ihrer Candidakolonisation bzw. -infektion nicht signifikant von den Patienten, die mit Tacrolimus therapiert wurden. Die Prävalenz der Candidakolonisation liegt bei allen Immunsuppressiva im Bereich von 73-78 %, eine Candidiasis konnte je nach Immunsuppressivum bei 22-28 % aller Patienten beobachtet werden. Eine Ausnahme bildet dabei Rapamycin. Dieses Medikament erhielten nur vier Patienten, von denen keiner eine orale Candidiasis entwickelte.

Antimykotika

Zwischen Patienten mit bzw. ohne Antimykotikatherapie zeigten sich bezüglich einer Candidiasis bzw. im Nachweis von Candida spp. keine signifikanten Unterschiede (Tab. 16).
Jedoch ist die Speziesvielfalt bei Patienten mit Antimykotikatherapie signifikant höher als bei Patienten ohne diese (Chi-Quadrat-Test; p=0,004). Während bei Patienten ohne Antimykotikatherapie nur vier verschiedene Spezies, darunter zu 87 % (34/39) C. albicans, identifiziert wurden, konnten bei Patienten mit Antimykotikatherapie acht verschiedene Candida-Spezies nachgewiesen werden. C. albicans wurde nur noch zu 50 % (12/24), andere Spezies wie C. krusei und C. glabrata jedoch vermehrt nachgewiesen (Tab. 10 und Tab. 11).
Der Unterschied zwischen Patienten mit oder ohne Antimykotikatherapie bezüglich des Nachweises von non-albicans-Spezies ist signifikant (Tab. 17).

Tab. 17: Unterschiede zwischen Patienten mit oder ohne Antimykotikatherapie bezüglich des Nachweises von non-albicans-Spezies (nur Patienten betrachtet, bei denen Candida spp. identifiziert wurden)

Candida spp.	Pat. mit Antimykotikatherapie (n = 24)		Pat. ohne Antimykotikatherapie (n = 39)		p (Chi-Quadrat-Test)
C. albicans	50 %	(12 Pat.)	87 %	(34 Pat.)	0,002
non-albicans-Spezies	50 %	(12 Pat.)	13 %	(5 Pat.)	

Nur zwei Patienten wurden neben Amphotericin B mit Fluconazol therapiert. Bei diesen beiden Patienten konnte C. albicans (Biotyp 2576174) identifiziert werden. Eine Candidiasis wurde nicht beobachtet.

Vier andere Patienten erhielten neben Amphotericin B noch ein anderes Azolderivat: Itraconazol. Bei diesen Patienten wurde in einem Fall kein Pilz nachgewiesen, dreimal jedoch non-albicans-Spezies. Bei zwei Patienten konnte C. glabrata, bei einem anderen Patienten C. krusei identifiziert werden. Bei Letzterem wurde eine pseudomembranöse Candidiasis beobachtet.

Zwei Patienten erhielten neben Amphotericin B den neu eingeführten Glukansynthesehemmer Caspofungin. Es konnte keine Candidiasis nachgewiesen werden. Bei einem Patienten wurden keine Candida spp. nachgewiesen, bei dem anderen Patienten konnte C. glabrata identifiziert werden.

C. krusei konnte bei vier Patienten isoliert werden. Alle vier Patienten standen unter Antimykotikatherapie. Bei drei dieser Patienten konnte eine pseudomembranöse Candidiasis beobachtet werden.

Patienten mit Antimykotikatherapie zeigten signifikant höhere Leukozytenzahlen und niedrigere Hämoglobinwerte. Der Zeitraum, der zwischen Transplantation und Abstrichnahme lag, war bei Patienten mit Antimykotikatherapie ebenfalls signifikant kürzer (Tab. 18).

Tab. 18: Leukozytenzahlen, Hämoglobinwert und Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme bei Patienten mit und ohne Antimykotikatherapie (Medianwerte)

Parameter	Patienten mit Antimykotikatherapie (n = 31)	Patienten ohne Antimykotikatherapie (n = 54)	p (Mann-Whitney-U-Test)
Anzahl der Leukozyten (K/µl)	8,6	5,7	0,002
Hämoglobinwert (g/dl)	9,8	12,1	0,000
Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme (d)	21	181	0,000

Virustatika

Es zeigte sich folgender Trend: Patienten, die eine antivirale Therapie erhielten, zeigten eine größere Prävalenz für das Auftreten einer pseudomembranösen Candidiasis (Chi-Quadrat-Test, p=0,088) als Patienten ohne antivirale Therapie.

Antibiotika

Zwischen Patienten mit und ohne Antibiotikatherapie zeigten sich bezüglich einer Candidiasis bzw. im Nachweis von Candida spp. keine signifikanten Unterschiede.

Bei 33/41 (80,5 %) Patienten mit Antibiotikatherapie konnten Candida spp. nachgewiesen werden.

Patienten, die Antibiotika erhielten, zeigten jedoch signifikant mehr non-albicans-Spezies als Patienten ohne Antibiotikatherapie (Tab. 19). Nur 13 % der Patienten, die keine Antibiotika erhielten, waren mit non-albicans-Spezies kolonisiert, jedoch konnten bei 39 % der Patienten mit Antibiotikatherapie non-albicans-Spezies identifiziert werden (Chi-Quadrat-Test, p=0,02).

Tab. 19: Unterschiede zwischen Patienten mit oder ohne Antibiotikatherapie bezüglich des Nachweises von non-albicans-Spezies

Candida spp.	Pat. mit Antibiotikatherapie (n = 33)		Pat. ohne Antibiotikatherapie (n = 30)		p (Chi-Quadrat-Test)
C. albicans	61 %	(20 Pat.)	87 %	(26 Pat.)	0,02
non-albicans-Spezies	39 %	(13 Pat.)	13 %	(4 Pat.)	

4.3.7 Einfluss der serologischen Parameter auf die Candidakolonisation und -infektion

Bei Patienten ohne Pilznachweis und bei Patienten mit C. albicans ist die Zahl der Leukozyten signifikant geringer (Median 5,4 K/µl bzw. 6,0 K/µl) als bei Patienten mit non-albicans-Spezies (Median 8,6 K/µl) (Kruskal-Wallis-Test, p=0,024).

Es konnte folgender Trend beobachtet werden: Patienten ohne Pilznachweis und Patienten mit C. albicans zeigten höhere Hämoglobinwerte (Median 11,4 g/dl bzw. 11,9 g/dl) als Patienten mit non-albicans-Spezies (Median 10,4 g/dl) (Kruskal-Wallis-Test, p=0,069).

Weibliche Probanden wiesen geringfügig höhere Hämoglobinwerte auf als männliche Probanden (Median 11,6 g/dl vs. 11,4 g/dl). Der Hämoglobinwert lag dabei bei 21/31 weiblichen Patienten (68 %) und bei 47/52 männlichen Patienten (90 %) unter dem Normbereich (weiblich: 12-15,7 g/dl; männlich: 14-17,5 g/dl).

In unserer Untersuchung konnte bei 21/85 Patienten auf die Daten der CD 4-Helfer-Zellzahlen und das CD4/CD8-Verhältnis zurückgegriffen werden. Es wurde keine Signifikanz bezüglich der Kolonisation, der ermittelten Candida-Spezies oder der klinischen Ausprägung einer Candidiasis

beobachtet, obwohl auch sehr geringe Zellzahlen bzw. Verhältnisse zu verzeichnen waren (CD 4-Helfer-Zellzahl: Minimum 5 Zellen/µ, Maximum 734 Zellen/µ; CD4/CD8-Verhältnis: Minimum 0,2, Maximum 5,0).

Bei einigen Probanden standen aktuelle Untersuchungsergebnisse zum Vorliegen einer CMV-Infektion zur Verfügung. Diese Patienten zeigten keine signifikant höhere Candidakolonisation oder -infektion.
Eine aktive CMV-Infektion konnte nur bei sechs Patienten über CMV-IgM-Antikörper oder über CMVpp65-Antigen nachgewiesen werden.
Bei drei Patienten mit aktiver CMV-Infektion, d. h. bei 50 % der Patienten mit aktueller CMV-Infektion, wurde eine pseudomembranöse Candidiasis diagnostiziert. Bei Patienten ohne aktive CMV-Infektion konnte diese nur in 13 % der Fälle (4/29 Patienten) beobachtet werden (Chi-Quadrat-Test, p=0,059).

Zwischen Leber- und Lungen- bzw. Leber- und Herztransplantierten gab es signifikante Unterschiede bezüglich der Höhe des Tacrolimus- und spezifischen Ciclosporin-Spiegels, der Leukozyten- bzw. Lymphozytenzahl, der Anzahl neutrophiler Zellen und des Hämoglobinwertes. Patienten nach Lungen- und Herztransplantation unterschieden sich in diesen Angaben nicht signifikant voneinander (Tab. 20).

Tab. 20: serologische Unterschiede zwischen den Transplantationstypen(Medianwerte)

Parameter	Pat. nach Herztransplantation n = 34	Pat. nach Lebertransplantation n = 38	Pat. nach Lungentransplantation n = 13	p (Kruskal-Wallis-Test)
Tacrolimus-Spiegel	kein Patient	6,1	13,5 (nur 2 Pat.)	p=0,019
spez. Ciclosporin-Spiegel (ng/ml)	314	180 (nur 3 Pat.)	347	p=0,02
Leukozyten (K/µl)	7,15	5,5	8,61	p=0,002
Lymphozyten (Zellen/ µl)	672	1493	567	p=0,000
neutrophile Zellen (K/µl)	6,29	2,42	6,89	p=0,000
Hämoglobinwert (g/dl)	11,0	12,9	10,0	p=0,000

4.3.8 Einfluss der Art der Organtransplantation auf die Candidakolonisation und -infektion

In Tab. 21 werden die Prävalenzen einer Candidakolonisation bzw. -infektion und die Candida-Spezies bei Patienten nach Herz-, Leber- und Lungentransplantation gegenübergestellt.

Tab. 21: Prävalenz der Candidainfektion und -kolonisation bei Patienten nach Herz-, Leber- und Lungentransplantation

	Pat. nach Herztransplantation n = 34		Pat. nach Lebertransplantation n = 38		Pat. nach Lungentransplantation n = 13		p (Chi-Quadrat-Test)
orale Candidiasis	9	27 %	9	24 %	3	23 %	0,95
Candida spp.	23	68 %	29	76 %	11	85 %	0,45
C. albicans	17	74 %	24	83 %	5	45 %	0,059
non-albicans-Spezies	6	26 %	5	17 %	6	55 %	
C. glabrata	1		3		2		
C. famata			1		1		
C. krusei	2				2		
C. dubliniensis			1				
C. guilliermondii	1						
C. kefyr	1						
C. lusitaniae	1						
C. magnoliae					1		

Patienten nach Herz-, Leber- oder Lungentransplantation wiesen bezüglich einer oralen Candidiasis bzw. einer Candidakolonisation keine signifikant unterschiedlichen Prävalenzraten auf.
Bei Patienten nach Lungentransplantation konnten mehr non-albicans-Spezies als C. albicans-Isolate nachgewiesen werden. Bei Patienten nach Leber- oder Herztransplantation traten weniger non-albicans-Spezies als C. albicans-Isolate auf. Dies ist nicht signifikant (Chi-Quadrat-Test, p=0,059).

4.3.8.1 Patienten nach Lebertransplantation

Da bei Patienten nach Lebertransplantation die Abstrichnahme deutlich später erfolgte als bei Patienten nach Herz- und Lungentransplantation (181 Tage vs. 78 bzw. 73 Tage nach Transplantation, Medianwerte), standen diese Patienten nicht mehr unter antimykotischer Therapie.
Es wurde deshalb eine separate Betrachtung der Patienten nach Lebertransplantation vorgenommen.

Bei 5/38 Patienten nach Lebertransplantation, alle weiblichen Geschlechtes (Chi-Quadrat-Test, p=0,005) konnten non-albicans-Spezies nachgewiesen werden. Die ermittelten non-albicans-Spezies wurden in Bezug zu auffälligen Parametern in Tab. 22 zusammengefasst.

Tab. 22: non-albicans-Spezies bei Patienten nach Lebertransplantation in Bezug zu auffälligen Parametern (unauffällige Parameter in Klammern gesetzt)

Spezies	Prothese	Anzahl der Tage nach Tx	Leukozytenzahl (K/µl)	Kortikosteroide	Antibiotika
C. dubliniensis		(184)	3,8		
C. famata	x	77	13,5	x	
C. glabrata	x	21	(6,7)	x	x
C. glabrata	x	45	(7,4)	x	x
C. glabrata	x	68	(5,6)	x	

Bei Patienten nach Lebertransplantation zeigte sich ein signifikanter bzw. tendenziell signifikanter Zusammenhang zwischen einer Candidakolonisation bzw. -infektion und der Anzahl der Leukozyten.

Der Median für die Zahl der Leukozyten ist bei Lebertransplantierten mit einer Candidakolonisation bzw. -infektion stets höher als bei Lebertransplantierten ohne diese (Tab. 23).

Bei gesunden Personen liegt der Normwert der Leukozytenzahl bei 4,3-10 K/µl.

Tab. 23: Zusammenhang zwischen Leukozytenzahl und Candidakolonisation bzw. -infektion bei Patienten nach Lebertransplantation, n= 38

	Anzahl der Pat.	Leukozytenzahl (Median, K/µl)	p (Mann-Whitney-U-Test)
Candidakolonisation			
negativ	9	4,2	p=0,029
positiv	29	5,7	
Candida-Spezies			
C. albicans	24	5,7	p=0,32
non-albicans-Spezies	5	6,7	
pseudomembranöse Candidiasis			
negativ	34	5,3	p=0,125
positiv	4	6,1	
erythematöse Candidiasis			
negativ	32	5,2	p=0,056
positiv	6	6,3	

Die geringste Zahl der Leukozyten zeigten Probanden ohne Candida in der Mundhöhle (Median 4,2 K/µl), die höchste Zahl an Leukozyten zeigten dagegen Probanden mit non-albicans-Spezies (Median 6,7 K/µl).

Sechs Patienten nach Lebertransplantation entwickelten eine erythematöse Candidiasis.
Alle sechs Patienten erhielten Kortikosteroide, 4/6 Patienten wurden gleichzeitig mit Antibiotika therapiert und 4/6 Patienten trugen eine Prothese.

Zwischen der Therapie mit Antibiotika und Kortikosteroiden und der Prävalenz einer erythematösen Candidiasis konnte ein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden.
4/8 Patienten, die Antibiotika und 6/22 Patienten, die Kortikosteroide erhielten, entwickelten eine erythematöse Candidiasis. Dagegen wurde nur bei 2/30 Patienten ohne Antibiotikatherapie (Chi-Quadrat-Test, p=0,012) und bei keinem Patienten ohne Kortikoidtherapie (Chi-Quadrat-Test, p=0,03) eine erythematöse Candidiasis beobachtet (Tab. 24).

Tab. 24: Einfluss der Antibiotika- und Kortikoidtherapie auf die Prävalenz einer erythematösen Candidiasis bei Patienten nach Lebertransplantation

	Pat. mit erythematöser Candidiasis	p (Chi-Quadrat-Test)
Antibiotika		
Therapie (n = 8)	4	0,012
keine Therapie (n = 30)	2	
Kortikoide		
Therapie (n = 22)	6	0,03
keine Therapie (n = 16)	0	

Klinisch zeigten lebertransplantierte Prothesenträger eine höhere Prävalenz einer Candidiasis (46 %) als Lebertransplantierte ohne Prothese (12 %) (Chi-Quadrat-Test, p=0,04) (Tab. 25).
Die Zahl der non-albicans-Spezies war bei Prothesenträgern größer (4/12 Lebertransplantierte) als bei Lebertransplantierten ohne Prothese (1/17 Lebertransplantierte) (Chi-Quadrat-Test, p=0,054).

Tab. 25: Prävalenz einer Candidiasis bei Patienten nach Lebertransplantation mit /ohne Prothese

	Pat. mit Prothese n=13		Pat. ohne Prothese n=25		p (Chi-Quadrat-Test)
orale Candidiasis	6	46 %	3	12 %	0,04
Candida spp.	12	92 %	17	68 %	0,13
C. albicans	8	67 %	16	94 %	0,054
non-albicans-Spezies	4	33 %	1	6 %	
C. famata	1				
C. glabrata	3				
C. dubliniensis			1		

4.3.9 Patienten mit mehrmaliger Abstrichnahme

Bei neun Patienten wurde ein zweiter, bei einem Patienten auch ein dritter Abstrich genommen (Tab. 6).

Bei zwei Patienten nach Herztransplantation konnte weder beim ersten noch beim zweiten Abstrich ein Pilz nachgewiesen werden.
Bei vier Patienten fand kein Spezies-Wechsel statt (je ein Patient nach Herz-, Leber- und Lungentransplantation: C. albicans und ein Patient nach Herztransplantation: C. krusei). Bei dem Patienten nach Lebertransplantation wurde von C. albicans erst der Biotyp 2576174, einen Tag später jedoch der Biotyp 2776174 nachgewiesen.
Bei zwei anderen Patienten nach Herz- bzw. Lungentransplantation konnte zuerst kein Pilz identifiziert werden, später jedoch C. albicans.
Bei einem Patienten nach Herztransplantation fand ein Spezies-Wechsel statt. Zuerst wurde C. albicans, sechs Wochen später C. famata identifiziert. Bei der ersten Abstrichnahme hatte der Patient lediglich 16 ml Amphotericin B per os, zum Zeitpunkt der zweiten Abstrichnahme 3 ml Amphotericin B, 100 mg Fluconazol sowie 100 mg Itraconazol per os eingenommen. Beide Male wurde eine pseudomembranöse Candidiasis diagnostiziert, erstere auf dem Zungenrücken und am Gaumen, die zweite am Gaumen und Rachen. Bei der zweiten Abstrichnahme wurde auf der Zunge zusätzlich eine erythematöse Candidiasis diagnostiziert. Die Leukozytenzahl war bei der ersten Abstrichnahme mit 17,5 K/µl erhöht, bei der zweiten Abstrichnahme der Hämoglobinwert mit 12,1 g/dl erniedrigt, die Zahl der neutrophilen Granulozyten mit 81 % zu hoch und die Lymphozytenzahl mit 0,5 K/µl zu niedrig.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der angewandten Methoden

Die Technik der Abstrichnahme mittels einen sterilen Wattebausches wurde wegen der guten Aufbewahrungsmöglichkeit gewählt. Diese Methode ist aufgrund der einfachen Durchführung eine gängige Methode in Studien und hat sich gut etabliert (Samaranayake et MacFarlane, 1990; Williams et al., 2000).
Der posteriore Zungenrücken wurde als Abstrichort gewählt, da er mit seinen großflächigen Zungenpapillen die häufigste Besiedlungsfläche darstellt, während andere Regionen des Mundes erst sekundär bewohnt werden (Arendorf et al., 1980; Oliver et al., 1984).

Es stellt sich die Frage, ob Abstriche in der Mundhöhle geeignet sind, Pilzkolonisationen an anderen Regionen außerhalb des Mundes zu zeigen. Über die klinische Bedeutung der Candida-Kolonisation an den unterschiedlichsten Körperstellen gibt es kontroverse Meinungen.
Sziegoleit et al. fanden einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Candidabesiedlung der Mundhöhle und des Magen-Darm-Traktes. Der alleinige Nachweis von Hefen im Orointestinaltrakt sollte allerdings noch nicht überbewertet und als Candidainfektion interpretiert werden (Sziegoleit et al., 2002).
Voss et al. meinten, dass z. B. Stämme, die im Urin oder Stuhl Kolonien gebildet haben, später zur Candiämie führen. Sie konnten einen identischen Stamm bei 84 % der Patienten an kolonisierten oder infizierten Körperstellen und den späteren Isolaten im Blut feststellen (Voss et al., 1994).
Kusne et al. fanden keine Korrelation zwischen Candidakolonisationen an verschiedenen anatomischen Orten des Gastrointestinaltraktes, mit Ausnahme des Magens und Duodenums. Mundabstriche sind deshalb ihrer Meinung nach nicht geeignet, eine Candidakolonisation außerhalb des Mundes zu zeigen (Kusne et al., 1994). Auch Tollemar et al. konnten in ihrer Studie nicht zeigen, dass bei Patienten nach Lebertransplantation die Kolonisation mit Candida an drei oder mehr Stellen mit einer tiefen Infektion korrelierte (Tollemar et al., 1990).
Da in vorliegender Studie die Candidabesiedlung der Mundhöhle untersucht wurde, können keine genauen Aussagen über tiefe Candida-Infektionen der Patienten getroffen werden.
Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die meisten Patienten, die eine tiefe Candidainfektion entwickelt haben, vorher mit Candida kolonisiert waren (DeGregorio et al., 1982), nicht alle kolonisierten Patienten aber eine tiefe Candidainfektion entwickeln. Das Risiko einer sy-

stemischen Candidiasis erhöht sich, wenn Candida vermehrt in der Mundhöhle oder im übrigen Teil des Verdauungstraktes gefunden wird (Paya, 1993).

Sabouraud-Dextrose-Agar (SDA) ist das meist genutzte Medium zur Kultivierung von Candida, da es einerseits das Wachstum von Candida erlaubt und andererseits das Wachstum vieler Bakterienspezies durch den geringen pH-Wert hemmt (Williams et al., 2000).
Allerdings ist eine Differenzierung der Spezies nicht immer möglich. Deshalb wird empfohlen, die Kultivierung auf einem zweiten Differentialmedium, wie z. B. einem chromogenen Agar (CHROMagar®), vorzunehmen (Williams et al., 2000; Odds et Bernaerts, 1994).

Die Kultivierung auf CHROMagar® ist eine gute Methode, unter den meist vorkommenden Hefespezies zu unterscheiden (Iyampillai et al., 2004; Odds et Bernaerts, 1994; Willinger et Manafi, 1999).
Die Spezifität von CHROMagar® gaben Pfaller et al. mit 95 % an (Pfaller et al., 1996). CHROM-agar® erlaubt die Differenzierung zwischen C. albicans und dem kürzlich neu beschriebenem C. dubliniensis (Sullivan et Coleman, 1998), der mit dunkleren grünen Kolonien erscheint als C. albicans, obwohl diese Charakteristik durch Lagerung bei –70 °C oder wiederholte Anzüchtung verloren gehen kann (Schoofs et al., 1997). Mariano et al. fanden unter elf gelagerten C. dubliniensis-Isolaten nur zwei mit dunkelgrüner Koloniefärbung (Mariano et al., 2003).
Die in dieser Untersuchung gefundenen Koloniefarben entsprechen denen nach Odds et Bernaerts (siehe 4.2.6) (Odds et Bernaerts, 1994).
Fraglich ist, warum 10,9 % der C. albicans-Isolate nicht die typisch hellgrüne, sondern eine dunkelgrüne Färbung aufwiesen. Da aber auch bei diesen Isolaten die typischen Assimilationsprofile von C. albicans gefunden wurden, handelt es sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 97,3 % um C. albicans.

Das API 20 C AUX-System wird weltweit in klinischen Laboratorien zur Biotypisierung von C. albicans genutzt und dient als gut reproduzierbares System hoher Sensitivität und Spezifität für die Identifikation von neuen Hefen, obwohl seine Unterscheidungskraft teilweise auch limitiert ist (Williamson et al.,1986). Gündes et al. identifizierten 87 % der Hefespezies ohne zusätzliche Tests korrekt. Für die Identifikation von 12 % der Pilzisolate waren zusätzliche Tests notwendig. 0,8 % wurden durch das API 20 C AUX-System falsch identifiziert (Gündes et al., 2001).

Andere Untersucher stellten bei C. dubliniensis atypische Assimilationsprofile fest, die nicht zu dem analytischen Profilindex des API-Systems passten (Salkin et al., 1998).
Sullivan et Coleman bescheinigten dem API 20C AUX-System eine relativ geringe Unterscheidungskraft. So ist C. krusei bekannt dafür, dass nur schwache Reaktionen mit den Standardchemikalien des Systems gezeigt werden. Weiterhin ist die Methode relativ fehlerhaft, da sie Phänotypen vergleicht und so das Risiko steigt, dass Stämme getrennt betrachtet werden, die genetisch gleich, aber phänotypisch unterschiedlich sind oder umgekehrt (Sullivan et Coleman, 2002).

Der durchgeführte Keimschlauchtest ist eine sehr schnelle Methode, die zur Identifizierung von C. albicans genutzt werden kann. Dabei muss berücksichtigt werden, dass 5 % von C. albicans keine Keimschläuche produzieren (Odds, 1988), während C. dubliniensis auch Keimschläuche bildet (Sullivan et Coleman, 1998).
Der in dieser Studie nachgewiesene C. dubliniensis zeigte keine Keimschlauchbildung, obwohl diese in anderen Untersuchungen beschrieben wurde. Jedoch konnten auch Lees et al. unter neun C. dubliniensis-Isolaten nur vier Isolate mit Keimschlauchbildung nachweisen. Fünf Isolate bildeten keine Keimschläuche (Lees et al., 2003).

Bei der Erfassung der serologischen Parameter wurde auf ein bereits vorhandenes Datenmaterial bzw. auf die am Tag der Abstrichnahme routinemäßig durchgeführten Kontrollblutwerte zurückgegriffen. Die Informationen sind deshalb nicht immer vollständig.

5.2 Diskussion der Befunde

Bei 63/85 Patienten (74,1 %) wurde Candida in der Mundhöhle identifiziert, wobei 21/85 Patienten (24,7 %) auch klinische Symptome einer oralen Candidiasis aufwiesen. Bei 42/63 Patienten (66,7 %) zeigten sich bei positivem Laborbefund keine klinischen Zeichen einer oralen Candidiasis.
Die orale Candidabesiedlung der transplantierten Patienten von 74,1 % entspricht denen anderer Literaturangaben, wobei die Rate in der Mundhöhle gesunder Personen zwischen 2 und 71 % schwankt, bei hospitalisierten Patienten auf 13-76 % ansteigt (Odds, 1988) und sich bei immunsupprimierten Patienten, wie HIV-Patienten, auf 95 % erhöht (Samaranayake, 1992). Odds (1988) fasste die Ergebnisse mehrerer Studien zusammen (Tab. 26). Als hauptsächliche Ursa-

chen für die stark schwankenden Werte gab er fehlende Informationen über den Gesundheitsstatus und die unterschiedlichen Techniken der Probeentnahme, Isolation und Identifikation an. Auch fallen die Definitionen von Candidakolonisation, -infektion und disseminierter Candidainfektion in den meisten Studien unterschiedlich aus.
Daten über eine reine Besiedlung der Mundhöhle mit Candida spp. können erst dann als gesichert gelten, wenn mikrobiologische Befunde mit klinischen Angaben korreliert werden. Ergebnisse der Studien können somit nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden.

Tab. 26: Candida-Kolonisation in der Mundhöhle (Odds, 1988)

	Zahl der Publikationen	Kolonisation (%)	Mittel (%)	Median (%)
Candida: „normale Probanden“				
Abstrich (oral/ pharyngeal)	20	2-69	17	28
andere Methoden (incl. Abstrichmethode)	32	2-71	26	34
Candida: Patienten				
Abstrich (oral/ pharyngeal)	23	13-76	42	48
andere Methoden (incl. Abstrichmethode)	34	13-76	47	55
C. albicans: „normale Probanden“				
Abstrich (oral/ pharyngeal)	16	2-41	16	18
andere Methoden (incl. Abstrichmethode)	20	2-62	18	17
C. albicans: Patienten				
Abstrich (oral/ pharyngeal)	21	6-70	36	37
andere Methoden (incl. Abstrichmethode)	32	6-70	41	38

Es konnten nur wenige Studien gefunden werden, die die orale Candidakolonisation bzw. -infektion bei Patienten nach Organtransplantation ermittelt haben. Al-Mohaya et al. fanden bei Patienten nach Nierentransplantation ebenfalls eine Candidabesiedlung von 74,1 %. Diese mittels Mundspülung ermittelte Prävalenz war dabei nicht signifikant größer als bei der gesunden Kontrollgruppe (59,6 % der Probanden). Allerdings konnte bei der gesunden Kontrollgruppe eine signifikant niedrigere Dichte der Candidabesiedlung ermittelt werden (Al-Mohaya et al., 2002).

Von allen gefundenen Candida-Isolaten war C. albicans die am häufigsten isolierte Spezies (73,0 %), gefolgt von C. glabrata, C. krusei und C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %).
Es war zu erwarten, dass auch bei Patienten nach Organtransplantation C. albicans die häufigste identifizierte Spezies darstellt. C. albicans gehört zur normalen Flora in der Mundhöhle und ist

auch die häufigste und pathogenste Spezies bei anderen Personengruppen (Akpan et al., 2002; Odds, 1988).

C. glabrata war, wie auch in anderen Studien, die zweithäufigst isolierte Spezies (Samaranayake et MacFarlane, 1990).
In unserer Untersuchung stieg die Prävalenz von C. glabrata unter Prothesenträgern auf 20 % an. 4/6 Patienten, bei denen C. glabrata nachgewiesen wurde, trugen Prothesen. Die zwei anderen Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Abstrichnahme auf der Intensivstation und konnten nicht über das Tragen von Prothesen befragt werden. Luo et Samaranayake fanden bei C. glabrata eine vierfach höhere Oberflächenhydrophobie und eine zweifach höhere Tendenz an Prothesenkunststoffoberflächen zu adhärieren als bei C. albicans. Diese beiden Parameter korrelierten auch signifikant, d.h. bei C. glabrata führte die erhöhte Hydrophobie auch noch zu einer Erhöhung der sowieso schon verstärkten Adhärenz an Prothesen (Luo et Samaranayake, 2002).

Besonderes Interesse gilt dem einzigen C. dubliniensis-Isolat bei einem Patienten nach Lebertransplantation.
Dieser Hefepilz wurde erstmals in der Mundhöhle HIV-positiver Patienten beschrieben (Sullivan et al., 1997) und nach der Stadt Dublin, wo er das erste Mal identifiziert wurde, benannt. Später konnte gezeigt werden, dass er sowohl bei gesunden als auch bei erkrankten Personen zu finden ist (Sullivan et Coleman, 1997). Die Schwierigkeit besteht in der Differenzierung von C. albicans, da sich beide Spezies phänotypisch und genotypisch ähneln (Sullivan et Coleman, 1998). Coleman et al. wiesen darauf hin, dass deshalb C. dubliniensis in früheren Studien möglicherweise als C. albicans interpretiert wurde (Coleman et al., 1997). In einer Untersuchung wurden unter Hefeisolaten, die vorerst als C. albicans identifiziert worden waren, 2 % C. dubliniensis-Isolate gefunden (Mariano et al., 2003).
Sullivan et Coleman berichteten, dass C. dubliniensis nicht in der Lage ist, mittels API 20 C AUX-System Xylose und α-Methyl-D-Glucosid zu verstoffwechseln (Sullivan et Coleman, 1998). Allerdings können auch einige wenige Stämme von C. albicans diese Kohlenhydrate nicht verwerten (Gales et al., 1999). Genauere Untersuchungstechniken zur Differenzierung dieser beiden Spezies sind deshalb notwendig.
Auffällig bei dem Patienten mit C. dubliniensis ist die geringe Zahl an Leuko- und Lymphozyten (3,77/nl; 1,03/nl). Es konnte keine Candidiasis beobachtet werden. Der Patient wurde mit Tacrolimus und Mycophenolatmofetil therapiert, eine Antimykotikagabe erfolgte nicht.

Bei HIV-infizierten Patienten wird C. dubliniensis in 2-3 % der Fälle ohne erkennbare Symptome einer oralen Entzündung isoliert (Ponton et al., 2000). Bei Patienten mit einer oralen Candidiasis ist diese Spezies meist mit der erythematösen Form assoziiert (Coleman et al., 1997).
Obwohl durch C. dubliniensis verursachte Infektionen in gesunden immunkompetenten Individuen relativ selten sind, konnten sie dennoch beobachtet werden (Coleman et al., 1997). Auch Sullivan et al. (1997) wiesen darauf hin, dass C. dubliniensis sowohl Teil der normalen oralen Flora als auch ein signifikanter Verursacher oraler Infektionen sein kann.

Es wurde postuliert, dass die meisten Menschen normalerweise nur mit einem einzelnen Candida-Stamm an verschiedenen Körperstellen über einen längeren Zeitraum hinweg kolonisiert sind. Einige Individuen zeigten aber auch, dass sie verschiedene Stämme oder Candida-Spezies zur gleichen Zeit beherbergen. Vor allem unter hospitalisierten oder immunkomprimierten Patienten ist dies vorrangig zu beobachten (Odds, 1987).
In vorliegender Studie wies ein Patient eine Kombination zweier Biotypen auf. Bei ihm konnten sowohl der Biotyp 6566174 als auch der Biotyp 6576174 von C. albicans gefunden werden. Bei allen anderen Patienten konnte jeweils nur eine Spezies bzw. ein Biotyp identifiziert werden.
Gergely et al. verfolgten die Pilzbesiedlung in der Zahnplaque bei zehn jungen Erwachsenen über einen Zeitraum von acht Tagen und stellten dabei fest, dass bei ein und denselben Personen an manchen Tagen positive Kulturen vorlagen, an anderen Tagen wiederum negative. An einigen Tagen konnten auch zwei verschiedene Pilze nachgewiesen werden, während am nächsten Tag bei demselben Probanden kein Pilz gefunden werden konnte. Nur bei zwei Patienten, die offene kariöse Zahnläsionen aufwiesen, konnte C. albicans kontinuierlich jeden Tag kultiviert werden. Es wurde deshalb angenommen, dass die Pilzbesiedlung von der Präsenz und dem Zerfall von Kohlenhydraten in der Mundhöhle abhängen könnte (Gergely et al., 1966).
In vorliegender Studie wurde bei einem Patienten der Biotyp 2576174 (C. albicans), ein Tag später jedoch der Biotyp 2776174 (C. albicans) identifiziert. Bei zwei anderen Patienten konnte beim ersten Abstrich kein Pilz nachgewiesen werden, später jedoch C. albicans. Es lagen keine auffälligen Veränderungen der serologischen Parameter bzw. der Medikamenteneinnahme vor.

In der hier vorgestellten Untersuchung konnte bei 24,7 % der Patienten eine orale Candidiasis festgestellt werden. Gulec et al. kommen zu ähnlichem Ergebnis: sie konnten bei Patienten nach Nierentransplantation signifikant häufiger eine orale Candidiasis diagnostizieren als bei einer gesunden Kontrollgruppe. Eine orale Candidiasis wurde bei 25,5 % der Patienten nach Nierentransplantation beobachtet (Gulec et al., 2003). Al-Mohaya et al. konnten bei 15,5 % der Patien-

ten nach Nierentransplantation eine orale Candidiasis identifizieren, wobei in der gesunden Kontrollgruppe bei keinem der Probanden eine orale Candidiasis diagnostiziert wurde (Al-Mohaya et al., 2002). Beide Studien zeigten, dass Patienten nach Nierentransplantation ein signifikant höheres Risiko haben, eine orale Candidiasis zu entwickeln als gesunde Probanden.
In vorliegender Studie zeigten die verschiedenen Arten der Organtransplantationen bezüglich der Prävalenz von Candidakolonisation und -infektion keine signifikanten Unterschiede. Eine Candidiasis wurde unter Herztransplantierten bei 26,5 %, unter Lebertransplantierten bei 23,7 % und unter Lungentransplantierten bei 23,1 % der Patienten festgestellt. Lungentransplantierte waren zu 84,6 %, Lebertransplantierte zu 76,3 % und Herztransplantierte zu 67,6 % mit Candida spp. in der Mundhöhle kolonisiert.
Andere gaben für Lebertransplantationen ein höheres Risiko an als für andere Organtransplantationen (Ho et al., 1983; Paya, 1993; Rex et al., 1998; Winston et al., 1995). Diese Studien beschäftigten sich allerdings mit invasiven Candida-Infektionen bei Patienten nach Transplantationen.

Die pseudomembranöse Candidiasis konnte bei 13/85 Patienten (15,3 %) diagnostiziert werden und war damit die häufigste klinische Erscheinung in der Mundhöhle. Auch in anderen Studien ist die pseudomembranöse Candidiasis die am häufigsten vorkommende Form einer Candidiasis. Odds konnte bei debilen, älteren Personen eine Prävalenz von 10-15 % feststellen (Odds, 1988).

Bei einer Patientin mit zweifacher Abstrichnahme wurde beim ersten eine pseudomembranöse Candidiasis auf dem Zungenrücken und am Gaumen, beim zweiten eine pseudomembranöse Candidiasis am Gaumen und Rachen sowie eine erythematöse Candidiasis auf der Zunge diagnostiziert. Wie von anderen schon postuliert wurde (Reichart et al., 2000), könnte dies dafür sprechen, dass die pseudomembranöse Form auf der Zunge der erythematösen Form vorausgegangen ist.
Andere Studien zeigten, dass die pseudomembranöse Candidiasis mit niedrigeren $CD4^+$-Zellzahlen, häufig unter 200 Zellen/µl und erythematöse Formen mit höheren $CD4^+$-Zellzahlen, assoziiert sind (Bruatto et al.,1991; Nielsen et al., 1994; Sangeorzan et al., 1994).
Dies konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden. Patienten mit einer pseudomembranösen bzw. erythematösen Candidiasis wiesen sehr ähnliche $CD4^+$-Zellzahlen auf. Der Medianwert der $CD4^+$-Zellzahl lag bei der pseudomembranösen Candidiasis bei 243 Zellen/µl und bei der erythematösen Form bei 258 Zellen/µl.

Eine Korrelation der klinischen Manifestationen der Candidiasis und der identifizierten Spezies bzw. Biotypen konnte nicht gefunden werden. Auch Bruatto et al. fanden diesbezüglich keine Signifikanzen (Bruatto et al., 1991).

5.3 Diskussion der untersuchten Einflussfaktoren

In vorliegender Studie ist die Speziesvielfalt bei Patienten mit Antimykotikatherapie signifikant höher als bei Patienten ohne Antimykotikatherapie (Tab. 17). Die Häufigkeit einer Candidakolonisation bzw. -infektion unterschied sich bei Patienten mit Antimykotikatherapie oder ohne Therapie dabei nicht (72 % vs. 77 % bzw. 20 % vs. 32 %) (Tab. 10 und Tab. 11). Bei Patienten mit Antimykotikatherapie wurden allerdings signifikant häufiger non-albicans-Spezies identifiziert. Während bei Patienten ohne Antimykotikatherapie nur vier verschiedene Spezies, darunter zu 87 % (34/39) C. albicans, identifiziert wurden, konnten bei Patienten mit Antimykotikatherapie acht verschiedene Candida-Spezies nachgewiesen werden. C. albicans wurde nur noch zu 50 % (12/24), jedoch andere Spezies wie C. krusei und C. glabrata vermehrt nachgewiesen (C. krusei 17 % vs. 0 %; C. glabrata 13 % vs. 8 %). Spezies, wie C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae und C. magnoliae, traten nur bei Patienten mit Antimykotikatherapie auf.

In vorliegender Studie wurde bei einem Patienten C. lusitaniae identifiziert. Der Patient wurde mit dem Antimykotikum Amphotericin B sowie Ciclosporin A, Mycophenolatmofetil, Prednison, einem Virustatikum und Antibiotika therapiert. Dies ist insofern von klinischer Bedeutung, da C. lusitaniae bekannt dafür ist, Resistenzen gegenüber Amphotericin B zu entwickeln (Guinet et al., 1983; Pappagianis et al., 1979; Rex et al., 2000). Eine Candidiasis konnte nicht diagnostiziert werden.

Bei 3/4 Patienten, die neben Amphotericin B mit Itraconazol therapiert wurden, konnten non-albicans-Spezies nachgewiesen werden (2 C. glabrata, 1 C. krusei). Rex et al. gaben an, dass 46 % aller C. glabrata-Isolate und 31 % aller C. krusei-Isolate resistent gegenüber Itraconazol sind (Rex et al., 2000).

Bei einem Patienten konnte ein Spezies-Shift von C. albicans zu C. famata nach sechswöchiger Einnahme von Amphotericin B, Fluconazol und Itraconazol bei persistierender Candidiasis beobachtet werden.

Vorliegende Studie weist somit auf eine Selektion von non-albicans-Spezies nach Therapie bzw. Prophylaxe mit Antimykotika, insbesondere von Amphotericin B (Polyen) und Fluconazol/Itraconazol (Azole) hin. Sogenannte apathogene Spezies wie C. krusei und C. guilliermondii führen dabei zur Erkrankung.

In den letzten Jahren wurde vermehrt ein Spezies-Wechsel zu non-albicans-Spezies wie C. glabrata oder C. krusei festgestellt (Coleman et al., 1998; Fortun et al., 1997; Nguyen et al., 1996; Rex et al., 1998; Samaranayake et Samaranayake, 1994). Zum einen wird angenommen, dass dies an der zunehmenden Zahl stark immunsupprimierter Patienten mit höherem Risiko für Infektionen durch weniger virulente Spezies liegt. Zum anderen entwickeln sich immer mehr resistente Spezies aufgrund der Antimykotikatherapie (Masia et Gutiérrez, 2002; Rex et al., 1998).

Borg-von Zepelin et al. stellten eine Zunahme von C. glabrata und C. krusei sowie seltener Candida-Spezies, wie C. guilliermondii und C. kefyr, fest, indem sie das Spektrum von Pilzarten in klinischen Untersuchungsmaterialien aus Respirationstrakt, Bronchialsystem und Urin vor und nach der Einführung von Fluconazol untersuchten. Die Zunahme dieser Spezies wurde auf den breiten therapeutischen und prophylaktischen Einsatz von Azolen zurückgeführt (Borg-von Zepelin et al., 1992). C. glabrata ist gegenüber Fluconazol nur mäßig empfindlich, C. krusei dagegen resistent (Rex et al., 1998).

Auch andere Untersuchungen stellten fest, dass es seit dem breiten Einsatz von Azolen bei immunsupprimierten Patienten zunehmend zu Infektionen durch C. krusei, eine Spezies, die früher als medizinisch wenig relevant galt, kommt. Eine Studie stellte fest, dass von 1989-1996 die durch C. krusei verursachten Fungämien von 5 % auf 10 % anstiegen. Die mit der Fungämie verbundene Mortalität betrug bei Infektionen durch C. krusei 49 %, bei Infektionen durch C. albicans nur 28 % (Abbas et al., 2000).

C. tropicalis, neben C. glabrata in der Mundhöhle die zweithäufigst nachgewiesene Spezies (Odds, 1988; Samaranayake et MacFarlane, 1990), und C. parapsilosis konnten in keinem der Fälle nachgewiesen werden. Dies könnte daran liegen, dass C. tropicalis und C. parapsilosis gegenüber üblichen Dosen von Fluconazol und Itraconazol empfindlich sind (Rex et al., 1998).
Es wird vermutet, dass in vorliegender Studie die antimykotische Therapie zwar die Kolonisation mit C. tropicalis und C. parapsilosis, nicht aber die von C. glabrata oder C. krusei, die nur mäßig

empfindlich bzw. resistent gegenüber Azolen sind, reduziert (Rex et al., 2000).

Es wurde auch darauf hingewiesen, dass eine nicht unbedeutende Anzahl von C. glabrata und C. krusei-Isolaten gegenüber Amphotericin B resistent sind (Nguyen et al., 1996; Rex et al., 2000). Über Amphotericin B-resistente Isolate von C. albicans, C. guilliermondii, C. krusei C. lusitaniae, C. parapsilosis und C. tropicalis wurde ebenfalls berichtet (Ellis, 2002; Kovacicova et al., 2001).

Dennoch sieht Ellis das größere Problem von Amphotericin B in der Toxizität und schlechten Löslichkeit als in der Entwicklung von Resistenzen. Es gilt als „Gold-Standard“ zur Behandlung disseminierter lebensbedrohender Pilzinfektionen (Ellis, 2002).

Zwei Doppelblindstudien beschäftigten sich mit dem Vergleich von Amphotericin B und dem neu eingeführten Glukansynthesehemmer Caspofungin in der Behandlung einer oropharyngealen Candidiasis bzw. einer Ösophagus-Candidiasis. Sie zeigten, dass Caspofungin genauso wirksam, aber besser toleriert wird als Amphotericin B (Arathoon et al., 2002; Villanueva et al., 2001).
In vitro und in vivo Studien haben gezeigt, dass Caspofungin sowohl gegen Azolsensible und -resistente als auch gegen Amphotericin-resistente Candida-Spezies wirksam ist (Garbino et al., 2003; Garbino, 2004; Keating et Jarvis, 2001). In vorliegender Studie wurden nur zwei Patienten neben Amphotericin B auch mit Caspofungin antimykotisch therapiert. Bei einem Patienten wurden keine Candida spp. nachgewiesen, bei dem anderen Patienten konnte C. glabrata identifiziert werden. In beiden Fällen wurde keine Candidiasis beobachtet. Weitere klinische Studien mit resistenten Candida-Spezies sind erforderlich, um die Wirksamkeit von Caspofungin auch in vivo festzustellen. Bisher ist Caspofungin in Deutschland nur zur Behandlung invasiver Aspergillosen zugelassen.

Eine signifikante Korrelation bestand zwischen dem Nachweis von non-albicans-Spezies und Antibiotika sowie Antimykotikatherapie. Patienten, die Antibiotika erhielten, zeigten signifikant mehr non-albicans-Spezies als Patienten ohne Antibiotikatherapie (Chi-Quadrat-Test, p=0,029). 11/13 Patienten, die mit Antibiotika therapiert wurden und bei denen non-albicans-Spezies identifiziert wurden, bekamen auch eine antimykotische Therapie.
Bei allen weiteren Medikamenten, wie Ciclosporin, Tacrolimus, Mycophenolatmofetil, Rapamycin, Kortikosteroide und Virustatika, konnten bezüglich des Nachweises von non-albicans-Spezies keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt werden.

Bei Patienten nach Lungentransplantation konnten mehr non-albicans-Spezies (55 %) als C. albicans (45 %) nachgewiesen werden. Bei Patienten nach Leber- oder Herztransplantation traten deutlich weniger non-albicans-Spezies (17 % bzw. 26 %) als C. albicans (83 % bzw. 74 %) auf (Chi-Quadrat-Test, p=0,059). Die Speziesvielfalt ist bei Patienten nach Lebertransplantation am geringsten, bei Patienten nach Lungentransplantation am höchsten. Das kann mit der häufigeren Antimykotikatherapie der Patienten nach Lungentransplantation begründet werden (10/13 Patienten; 77 %); auch erhielten alle Patienten nach Lungentransplantation Antibiotika, wogegen nur 59 % der Herztransplantierten und nur 21 % der Lebertransplantierten diese bekamen.

Patienten mit Antimykotikatherapie zeigten signifikant höhere Leukozytenzahlen sowie niedrigere Hämoglobinwerte (Tab. 18); bei ihnen konnten signifikant häufiger non-albicans-Spezies nachgewiesen werden als bei Patienten ohne Therapie.
Somit ist erklärbar, dass Patienten mit höheren Leukozytenzahlen bzw. niedrigeren Hämoglobinwerten ebenfalls signifikant bzw. tendenziell signifikant mehr non-albicans-Spezies aufwiesen (siehe 4.3.7).
Unabhängig von der Art der Organtransplantation zeigten Patienten mit non-albicans-Spezies einen tendenziell signifikant niedrigeren Hämoglobinwert (Median 10,4 g/dl) als Patienten ohne Pilznachweis und Patienten mit C. albicans (Median 11,4 g/dl bzw. 11,9 g/dl) (Kruskal-Wallis-Test, p=0,069).

Patienten nach Lebertransplantation zeigten, dass die geringste Zahl der Leukozyten bei Probanden ohne Candida in der Mundhöhle (Median 4,2 K/µl), die höchste Zahl an Leukozyten bei Probanden mit non-albicans-Spezies (Median 6,7 K/µl) zu finden war. Bei diesen Patienten ist eine Candidabesiedlung mit signifikant höheren Leukozytenzahlen verbunden. Diese Werte liegen jedoch im Normbereich (Normwert der Leukozytenzahl: 4,3-10 K/µl).
Mit Ausnahme von C. dubliniensis wurden non-albicans-Spezies bei Patienten nach Lebertransplantation nur bei weiblichen Patienten mit Prothesen und bei Kortikosteroidgabe identifiziert (Tab. 22). Bei Patienten nach Lebertransplantation mit non-albicans-Spezies wurde deutlich früher ein Zungenabstrich genommen als bei anderen Patienten nach Lebertransplantation (Ausnahme C. dubliniensis).

In vorliegender Studie hatte der Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme auf die Prävalenz einer Candidakolonisation bzw. einer Candidiasis keine signifikante Auswirkung. Nur

für den Nachweis von non-albicans-Spezies spielte er eine wesentliche Rolle, was mit der häufigeren Antimykotikagabe kurz nach der Transplantation begründet werden kann (Tab. 15 und Tab. 18).
Andere Untersuchungen haben festgestellt, dass Pilzinfektionen meist zwei bis drei Monate nach der Transplantation beobachtet werden (Castaldo et al., 1991; Emmanouilides et al., 1996; Paya, 1993; Winston et al., 1995).
Werden die Patienten aus vorliegender Studie, bei denen die Candida-Untersuchung höchstens 125 Tage nach Transplantation erfolgte, mit denen, die später untersucht wurden, verglichen, so ist die Candidabesiedlung nicht signifikant unterschiedlich (79 % vs. 69 %; Chi-Quadrat-Test, p=0,29).

Die Einnahme der Immunsuppressiva variierte: Lungen- und Herztransplantierte bekamen vorrangig Ciclosporin und Mycophenolatmofetil, Lebertransplantierte dagegen Tacrolimus. Auch die Einnahme von Kortikosteroiden, Virustatika, Antibiotika und Antimykotika war bei Patienten nach Herz- und Lungentransplantation häufiger als bei Patienten nach Lebertransplantation.
Zwischen Patienten mit und ohne Therapie der jeweiligen immunsuppressiven Medikamente konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich einer Candidiasis bzw. im Nachweis von Candida spp. gefunden werden (Tab. 16).
Die Patienten, die Ciclosporin als Immunsuppressivum erhielten, unterschieden sich in der Prävalenz der Candidakolonisation bzw. -infektion nicht signifikant von den Patienten, die mit Tacrolimus therapiert wurden.
Bei einer Patientin, die als Immunsuppressivum Ciclosporin bekam, wurde eine Gingivahyperplasie diagnostiziert. Ciclosporin wird aufgrund des stimulierenden Effekts auf die Kollagenproduktion für eine erhöhte Inzidenz von Gingivahyperplasien verantwortlich gemacht (Ziccardi et al., 1991).
Bei Patienten nach Lebertransplantation ist die Therapie mit Antibiotika und Kortikoiden mit einer signifikant höheren Prävalenz einer erythematösen Candidiasis verbunden. 67 % dieser Patienten trugen eine Prothese. Auch andere Untersuchungen stellten fest, dass die erythematöse Candidiasis öfter bei Antibiotika- oder Kortikoidtherapie auftritt (Samaranayake et MacFarlane, 1990). Generell gilt die prä- und postoperative Gabe von Steroiden und Antibiotika als Risikofaktor für eine Candidainfektion (Gladdy et al., 1999; Wajszczuk et al., 1985; Winston et al., 1995).
McCarthy räumte ein, dass Antibiotika erkrankten Personen gegeben werden und diese Krank-

heiten vorrangig zur Entwicklung einer Candidiasis beitragen. Er konnte in seiner Studie keine Korrelation zwischen oraler Candidiasis und Antibiotikagabe feststellen (McCarthy, 1992). Samonis et al. fanden jedoch bei Mäusen nach Gabe von Breitspektrumantibiotika eine höhere Candida-Kolonisation im Gastrointestinaltrakt im Vergleich zu Mäusen, denen physiologische Kochsalzlösung gegeben wurde (Samonis et al., 1994).

Weibliche und männliche Probanden wiesen keine signifikant unterschiedlichen Prävalenzraten einer Candidakolonisation bzw. -infektion auf, sie waren bei weiblichen Probanden ähnlich derer männlicher Probanden (76 % vs. 73 %, Chi-Quadrat-Test, p=0,78; 30 % vs. 21 %, Chi-Quadrat-Test, p=0,44).
Auch andere Studien konnten keine signifikant unterschiedlichen Infektionsraten bezüglich der Geschlechter feststellen (Castaldo et al., 1991; Gladdy et al., 1999; Gulec et al., 2003; Kusne et al., 1988; Masipa et al., 1992; Ruskin et al., 1992; Wajszczuk et al., 1985), wobei einige Untersuchungen eine höhere Prävalenz von Candida bei gesunden Frauen als bei gesunden Männern nachwiesen (Arendorf et al., 1980; Bastiaan et Reade, 1982; Masipa et al., 1992). Arendorf et al. (1980) machten einen hormonellen Faktor verantwortlich.
Bastiaan et Reade (1982) meinten, der Eisenmangel, der signifikant häufiger bei Frauen als bei Männern anzutreffen ist, könnte der Grund für die unterschiedlichen Prävalenzen der Geschlechter sein.
In dieser Studie sind jedoch die Hämoglobinwerte bei Frauen (Median 11,6 g/dl) sogar geringfügig höher als bei männlichen Personen (Median 11,4 g/dl).
Andere wiederum fanden eine erhöhte orale Prävalenz des kommensalen Hefepilzes bei Frauen mit einer chronischen vaginalen Candidiasis (Pumpianski et al., 1968; Soll et al., 1989).

Die orale Candidabesiedlung ist ungefähr zwei Monate nach der Geburt und bei älteren Personen am höchsten. In einer Studie konnte bei über 40 % der Kleinkinder oder älteren, gesunden Personen, jedoch nur bei 24 % der 5-7 Jahre alten Kinder Candida in der Mundhöhle nachgewiesen werden (Kleinegger et al., 1996). Allerdings ist bei älteren Personen nicht das Alter der ausschlaggebende Punkt, sondern Erkrankungen (z. B. Diabetes mellitus), Medikation (Antibiotika, Kortikosteroide) und andere Faktoren (z. B. Prothesen), die zu einer erhöhten Besiedlung von Candida spp. führen (Odds, 1988).
In vorliegender Studie hatte das Alter der Probanden keinen signifikanten Einfluss auf die Can-

didakolonisation bzw. –infektion (Mann-Whitney-U-Test, p>0,05).
Teilt man die Patienten entsprechend dem Alter in zwei Gruppen, so konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Prävalenzraten einer Candidakolonisation ermittelt werden (1. Gruppe 5 bis 49 Jahre: 79 % vs. 2. Gruppe ab 50 Jahre: 69 %).
Auch andere Untersuchungen konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Candidakolonisation bzw. -infektion und dem Alter der Probanden feststellen (Gulec et al., 2003; King et al., 1994; Kusne et al., 1988; Reichart et al., 2002; Ruskin et al., 1992).

Zwischen Tabakkonsum und Candidakolonisation bzw. -infektion konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden.
In vorliegender Studie sind Raucher zu 75 % der Fälle mit Candida kolonisiert, während Nichtraucher dies in 73 % der Fälle sind (Chi-Quadrat-Test, p=0,87). Auch eine Candidiasis ist bei Rauchern nicht signifikant häufiger zu beobachten als bei Nichtrauchern (17 % vs. 27 %, Chi-Quadrat-Test, p=0,44).
Über den Einfluss des Tabakkonsums gibt es kontroverse Meinungen.
Die einen zeigten Fälle, in denen es unterschiedliche Candidaprävalenzen bei Rauchern und Nichtrauchern gab (Abu-Elteen et al., 1998; Arendorf et al., 1980; Beasley, 1969), andere Studien zeigten keine oder nur geringe, nicht signifikante Korrelationen (Bastiaan et Reade, 1982; Gergely et al., 1966; King et al., 1994; Oliver et al., 1984; Reichart et al., 2002, Sangeorzan et al., 1994).
In der Studie von King et al. konnten bei Patienten nach Nierentransplantation bezüglich der Prävalenz oraler Läsionen, inklusive Candidiasis, keine signifikanten Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern sowie im Alkoholkonsumverhalten festgestellt werden (King et al., 1994).
In einer Studie von Masipa et al. zeigte sich keine signifikante Differenz der Candida-Prävalenz zwischen Rauchern und Nichtrauchern; sie konnten jedoch feststellen, dass rauchende Männer eine signifikant höhere Prävalenz aufwiesen als nichtrauchende Männer. Die fehlende Signifikanz bei Frauen wurde mit der geringen Anzahl rauchender Frauen erklärt (Masipa et al., 1992).
In unserer Studie konnte eine signifikant höhere Prävalenz bei männlichen bzw. weiblichen Rauchern gegenüber Nichtrauchern gleichen Geschlechtes nicht bestätigt werden.
In einer Studie wurde festgestellt, dass sich unter prothesentragenden Patienten mit erythematöser Candidiasis mehr Raucher befanden als unter prothesentragenden Patienten ohne Candidiasis (Crockett et al., 1992). Dies konnten wir in unserer Untersuchung ebenfalls nicht feststellen.

Rauchen soll die Invasion der Keime in das Mundschleimhautepithel erleichtern und ist mit erniedrigtem IgA im Speichel verbunden. IgA wird für eine hemmende Adhäsion von C. albicans an die Schleimhaut verantwortlich gemacht (McCarthy, 1992). Eine alternative Hypothese wird von Takagi et al. aufgestellt: Rauchen dient der Ernährung von C. albicans, indem polyzyklische aromatische Kohlenhydrate als Energiequelle genutzt werden (Takagi et al., 1980).

Bei Prothesenträgern wurde eine Candidakolonisation bzw. Candidiasis nicht signifikant häufiger beobachtet als bei Patienten ohne Prothese (87 % vs. 68 %; Chi-Quadrat-Test, p=0,08 bzw. 39 % vs. 20 %; Chi-Quadrat-Test, p=0,08). Jedoch ist das Auftreten einer erythematösen Candidiasis bei Prothesenträgern statistisch signifikant höher als bei Patienten ohne Prothesen (Chi-Quadrat-Test, p=0,005). Bei 26 % der Prothesenträger konnte eine erythematöse Candidiasis beobachtet werden, wogegen diese nur bei 3 % der Patienten ohne Prothese auftrat (Tab. 14).
Das Tragen von Prothesen führt zu geringen Sauerstoffkonzentrationen bis hin zu anaeroben Verhältnissen, niedrigen pH-Werten, reduziertem Speichelfluß und bei verminderter Mundhygiene zu der Ansammlung von Speiseresten unter der Prothese (Akpan et al., 2002). Auch Cannon et al. beschrieben die an Kunststoffprothesen anhaftende Plaque als weiteres Candida-Reservoir in der Mundhöhle, von dem eine Streuung des Keimes entweder durch Aspiration in die Lunge oder durch Verschlucken in den Gastrointestinaltrakt ausgehen könne (Cannon et al., 1995). In einer anderen Studie wurde bei Patienten mit protheseninduzierter Stomatitis eine zehnfach höhere Hefezahl in der Plaque als bei gesunden Personen gefunden (Samaranayake et MacFarlane, 1990).
Auch Abu-Elteen et al. fanden bei gesunden Prothesenträgern eine erhöhte Frequenz und eine höhere Dichte der Candidabesiedlung (Abu-Elteen et al., 1998).
Candida ist jedoch bei der Prothesenstomatitis nicht der einzige auslösende Faktor. Bakterielle Infektionen, mechanische Irritation und allergische Reaktionen können ebenfalls zur Prothesenstomatitis führen (Samaranayake et MacFarlane, 1990).
Die Prävalenz der Candida-assoziierten Prothesenstomatitis bei Prothesenträgern liegt in vorliegender Studie mit 26 % im Bereich derer anderer Studien. Samaranayake et MacFarlane (1990) gaben eine Prävalenz von 25-65 % an, wobei in mehreren Studien gezeigt wurde, dass Frauen häufiger betroffen sind als Männer (Samaranayake et MacFarlane, 1990). Dorey et al. machten die höhere Zahnlosigkeit unter Frauen und der größere Wunsch nach zahnärztlicher Behandlung der Frauen dafür verantwortlich (Dorey et al., 1985).
Dies kann in dieser Studie bestätigt werden, da 4/33 (12 %) weibliche Probanden, jedoch 4/52

(8 %) männliche Probanden eine erythematöse Candidiasis aufwiesen. Dieser Unterschied ist nicht signifikant. Die Zahl der Prothesenträger ist bei Frauen mit 12/33 (36 %) höher als bei 11/52 Männern (21 %).

Zusätzlich zu den von Odds (1988) aufgestellten prädisponierenden Faktoren, die zu einer Candidiasis führen können, haben mehrere Untersuchungen verschiedenste Risikofaktoren für eine tiefe Candida-Infektion nach Organtransplantation festgestellt. Neben der prä- und postoperativen Gabe von Steroiden und Antibiotika, bakteriellen Infektionen und CMV-Infektionen spielen auch andere Faktoren wie z. B. längere Operationsdauer sowie eine erforderliche Retransplantation, Reintubation oder Transfusion eine Rolle (Paya, 1993; Paya, 2001; Singh et al., 1997).

6 Zusammenfassung

Bei Patienten nach Organtransplantation liegt die Mortalitätsrate durch Pilzinfektionen trotz Antimykotika-Prophylaxe bei über 50 %. Resistenzentwicklung und das Auftreten bisher apathogener Spezies und Biotypen spielen hierbei eine bedeutende Rolle.

Ziel der Untersuchung war, die Prävalenz einer Besiedlung mit Candida spp., deren klinische Manifestation einer oralen Candidiasis sowie die damit assoziierten Biotypen zu bestimmen.

Patienten und Methode: In einer prospektiven Studie wurden bei 85 Patienten (61 % Männer, 39 % Frauen, Altersmedian: 49 Jahre) nach Leber- (38), Herz- (34) und Lungentransplantation (13) mit dem Fungi-quick®-System Zungenabstriche entnommen sowie Mundschleimhautveränderungen protokolliert. Die Anzucht erfolgte auf Sabouraud-Glukose-Agar und CHROMagar®, Candida spp. wurden mit dem API20 C AUX-System identifiziert. Ein Keimschlauchtest diente der Identifizierung von C. albicans/C. dubliniensis.

Ergebnisse: Eine orale Candidiasis wurde bei 21/85 Patienten (24,7 %) diagnostiziert, wobei die pseudomembranöse Form am häufigsten auftrat (15,3 %), gefolgt von der erythematösen Form (9,4 %) sowie der Cheilitis angularis (3,5 %). Bei 63/85 Patienten (74,1%) wurden Candida spp. nachgewiesen. Von allen gefundenen Candida-Isolaten war C. albicans die am häufigsten isolierte Spezies (73 %), gefolgt von C. glabrata, C. krusei und C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %). Außerdem wurden C. lusitaniae, C. guilliermondii, C. kefyr, C. magnoliae, Pichia ohmeri und C. dubliniensis, eine Spezies, die anfänglich nur bei HIV-positiven Individuen auftrat, identifiziert. Für C. albicans konnten, abgesehen von dem verbreiteten Biotyp 2576174, noch sechs weitere Biotypen nachgewiesen werden.

Eine Korrelation der klinischen Manifestationen der Candidiasis und der identifizierten Spezies bzw. Biotypen konnte nicht gefunden werden.

Patienten nach Herz-, Leber- oder Lungentransplantation wiesen bezüglich der oralen Candidiasis bzw. Candidabesiedlung keine signifikant unterschiedlichen Prävalenzraten auf.

Vorliegende Untersuchung hat gezeigt, dass die Speziesvielfalt bei Patienten mit Antimykotikatherapie signifikant höher ist als bei Patienten ohne Therapie. Während bei Patienten ohne Antimykotikatherapie neben C. albicans (87 %, 34/39 Pat.) nur drei verschiedene non-albicans-Spezies (C. glabrata: 8%, C. dubliniensis: 3 % und C. famata 3 %) identifiziert wurden, konnten bei Patienten mit Antimykotikatherapie sieben verschiedene non-albicans-Spezies nachgewiesen werden. C. albicans wurde nur noch zu 50 % (12/24), andere Spezies, wie C. krusei und C. glabrata, jedoch vermehrt identifiziert (C. krusei: 17 %; C. glabrata: 13 %; C. famata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae, C. magnoliae: 4 %).

Bei Patienten, die eine Kombination mit dem neu eingeführten Glukansynthesehemmer Caspofungin erhielten, konnte keine Candidiasis nachgewiesen werden.
Eine signifikante Korrelation bestand zwischen dem Nachweis von non-albicans-Spezies und Antibiotika sowie Antimykotikatherapie, wobei 90 % der Patienten, die antimykotisch behandelt wurden, gleichzeitig auch unter Antibiotikatherapie standen.
Bei allen weiteren Medikamenten, wie Ciclosporin, Tacrolimus, Mycophenolatmofetil, Rapamycin, Kortikosteroide und Virustatika, konnten bezüglich des Nachweises von non-albicans-Spezies keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt werden.
In vorliegender Studie hatte der Zeitraum zwischen Transplantation und Abstrichnahme auf die Prävalenz einer Candidakolonisation bzw. einer Candidiasis keine signifikante Auswirkung. Nur für den Nachweis von non-albicans-Spezies spielte er eine wesentliche Rolle, was mit der häufigeren Antimykotikagabe kurz nach der Transplantation begründet werden kann.
Alter, Geschlecht und Tabakkonsum der Probanden hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Candidakolonisation bzw. -infektion.
Auch bei Prothesenträgern wurde eine Candidabesiedlung bzw. Candidiasis nicht signifikant häufiger beobachtet als bei Patienten ohne Prothese. Jedoch war das Auftreten einer erythematösen Candidiasis bei Prothesenträgern statistisch signifikant höher als bei Patienten ohne Prothesen. Die Prävalenz von C. glabrata war bei Prothesenträgern und bei Patienten unter Antimykotikatherapie erhöht.
Diskussion: Als zunehmendes Problem konnte in den letzten Jahren vielfach festgestellt werden, dass bei immungeschwächten Patienten C. albicans durch weniger virulente non-albicans-Spezies und durch Antimykotika resistente Spezies, wie C. glabrata oder C. krusei, ersetzt wird.
Die vorliegende Studie weist darauf hin, dass eine Dauertherapie bzw. notwendig verbreitete prophylaktische Gabe von Antimykotika (Amphotericin B; Fluconazol/Itraconazol) das Auftreten von non-albicans-Spezies fördert. Vor allem wurde eine Selektion von Spezies, wie z. B. von C. lusitaniae, nach Therapie mit Amphotericin B (Polyen) beobachtet. Sogenannte apathogene Spezies wie C. krusei und C. guilliermondii führen dabei zur Erkrankung.
Schlussfolgerung: Der klinische Verlauf und die Wirksamkeit der antimykotischen Behandlung müssen bei immunsupprimierten Patienten stetig überprüft werden, da die wiederholte und langfristige Anwendung von Antimykotika zur Resistenzentwicklung führen kann. Weitere klinische Studien sind erforderlich, um die Wirksamkeit neuer Antimykotika, wie z. B. Caspofungin, festzustellen.

Summary

Despite antifungal prophylaxis fungal infections after organ transplantation are associated with a mortality rate above 50 %. There is evidence for the development of resistance and infection caused by less virulent species and biotypes.

Aims: The aim of the present study was to determine the prevalence and clinical features of Candida carriage and infection in patients after organ transplantation and compare these parameters in patients with and without antimycotic treatment.

Patients and methods: For evaluation of Candida carriage, oral swabs (Fungi-quick®) were taken from the tongue of 85 patients after liver- (38), heart- (34) and lung transplantation (13) (61 % men, 39 % women, median age: 49 years). The samples were cultured on Sabouraud dextrose agar and CHROMagar®, Candida organisms were identified by API 20C AUX assimilation tests. C. albicans and C. dubliniensis were identified on the basis of germ-tube production.

Results: Oral candidiasis was found in 21/85 patients (24,7 %), pseudomembranous candidiasis being the most frequent variant (15,3 %), followed by the erythematous form (9,4 %) and angular cheilitis (3,5 %). Candida species were cultured in 63/85 patients (74,1 %). C. albicans was the most common isolate (73 %), followed by C. glabrata, C. krusei and C. famata (9,5 %; 6,3 %; 3,2 %). Other isolated species were C. lusitaniae, C. guilliermondii, C. kefyr, C. magnoliae, Pichia ohmeri and C. dubliniensis, the latter being a species first described in oral cavities of HIV-infected individuals.

According to the API 20C AUX assimilation profiles, 6 different phenotypes were evident aside from the common biotype 2576174.

No correlation was seen between clinical features and isolated species or biotypes. No significant difference was observed regarding the type of transplantation and associated Candida species or infection.

In patients without antimycotic therapy four different Candida species (C. albicans: 87 %, 34/39 of the patients; C. glabrata: 8 %; C. dubliniensis: 3 % and C. famata: 3 %) were identified, whereas, in patients with antifungal therapy eight different Candida species (C. famata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. lusitaniae C. magnoliae: 4 %) were isolated. In only 50 % of the latter group (12/24 of the patients) C. albicans was detected, while C. glabrata in 17 % and C. krusei in 13 % were identified

A significant correlation was found between antibiotic and antifungal therapy and the identification of non-albicans-species. All other drugs have not been correlated with non-albicans-species. Interestingly, the new antifungal drug caspofungin was not associated with oral candidiasis.

The period between sampling and transplantation had no significant implication on the prevalence of Candida carriage and infection. It was only correlated to the presence of non-albicans-species, which may be induced by the more frequent application of antifungals at early stages after transplantation.

Statistical analyses showed that age, sex and smoking did not significantly effect the prevalence of Candida carriage and infection.

No significant difference in Candida carriage was found between denture wearers and patient without dentures. However, the rate of erythematous candidiasis was significantly more frequent in denture wearers than in patients without denture. Carriage of C. glabrata was more frequent in denture wearers and in patients with antifungal therapy.

Discussion: Long-term therapy and prophylaxis with antifungal agents (amphotericin B; fluconazole/itraconazole) to suppress fungal infections in immunosuppressed patients have contributed to a significant increase in non-albicans-infections because of the high incidence of resistance of the species to these drugs. On the other hand, risk of infection caused by less virulent species is increasing.

Conclusion: Due to resistant Candida species, antifungal control programmes may be necessary to prevent extensive and inappropriate use of antifungals. Further studies are necessary to determine the effectiveness of new antifungal drugs like caspofungin in patients after organ transplantation.

Literaturverzeichnis

Abbas J, Bodey GP, Hanna Ha, Mardani M, Girgawy E, Abi-Said D, Whinmey E, Hachem R, Raad I. Candida krusei fungemia. An escalating serious infection in immunocompromised patients. Arch Intern Med 2000;160:2659-64

Abu-Elteen KH, Abu-Elteen RM. The prevalence of Candida albicans populations in the mouth of complete denture wearers. Microbiol 1998;21:41-8

Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. Postgrad Med J 2002;78:455-9

Al-Mohaya MA, Darwazeh A, Al-Khudair W. Oral fungal colonization and oral candidosis in renal transplant patients: the relationship to Miswak use. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod 2002;93:455-60

Arathoon EG, Gotuzzo E, Noriega M, Berman RS, DiNubile MJ, Sable CA. Randomized, double-blind, multicenter study of caspofungin versus amphotericin for treatment of oropharyngeal and esphageal candidiases. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:451-7

Arendorf TM, Walker DM. Prevalence and intra-oral distribution of Candida albicans in man. Arch Oral Biol 1980;25:1-10

Axéll T, Samaranayake LP, Reichart PA, Olsen I. Guest editorial- a proposal for reclassification of oral candidosis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997;84:111-2

Bastiaan RJ, Reade PC. The prevalence of Candida albicans in the mouth of tobacco smokers with and without oral mucous membrane keratoses. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982;53:148-51

Baumgartner WA, Reitz BA, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE. Cardiac Homotransplantation. Curr Probl Surg 1979;16:1-61

Beasley JD. Smoking and oral moniliasis. J Oral Med 1969;24:83-6

Borg-von Zepelin H, Eiffert M, Kann M, Rüchel R. Changes in the spectrum of fungal isolates:

results from clinical specimens gathered in 1987/88 compared with those in 1991/92 in the university hospital göttingen, germany. Mycoses 1992;36:247-53

Bruatto M, Vidotto V, Marinuzzi G, Raiteri R, Sinicco A. Candida albicans biotypes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with oral candidiasis before and after antifungal therapy. J Clin Microbiol 1991;29:726-30

Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral Candida: Clearance, colonization, or Candidiasis?. J Dent Res 1995;74:1152-61

Castaldo P, Stratta RJ, Wood P, Markin RS, Patil KD, Shaefer MS, Langnas AN, Reed EC, Li S, Pillen TJ, Shaw BW. Clinical spectrum of fungal infections after orthotopic liver transplantation. Arch Surg 1991;126:149-56

Clift RA. Candidiasis in the transplant patient. Am J Med 1984;77:34-8

Coleman DC, Rinaldi MG, Haynes KA, Rex JH, Summerbell RC, Anaissie EJ, Sullivan AL, Sullivan DJ. Importance of Candida species other than Candida albicans as opportunistic pathogens. Med Mycol 1998;36:156-65

Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis:the emergence of a novel species, Candida dubliniensis. AIDS 1997;11:557-67

Collignon P, Hurley B. Interaction between fluconazole and cyclosporin. Lancet 1989;2:867-8

Colomba C, Antinori S. Fungal infections in transplantation patients. Recenti Prog Med 2003;94:516-28

Crockett DN, O´Grady JF, Reade PC. Candida species and Candida albicans morphotypes in erythematous candidiasis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;73:559-63

Dauber JH, Paradis IL, Dummer JS. Infectious complications in pulmonary allograft recipients. Clin Chest Med 1990;11:291-308

DeGregorio MW, Lee WMF, Ries CA. Candida infections in patients with akute leukemia: inef-

fectivness of nystatin prophylaxis and relationship between oropharyngeal and systemic candidiasis. Cancer 1982;50:2780-4

Dorey J, Blasberg B, MacEntee MI, Conklin RJ. Oral mucosal disorders in denture wearers. J Prosthet Dent 1985;53:210-3

Ellis D. Amphotericin B: spectrum and resistance. J Antimicrob Chemother 2002;49 (suppl):7-10

Emmanouilides C, Holt CD, Winston DJ. Infections after liver transplantation. In:Busuttil RW, Klintmalm GB, eds. Transplantation of the Liver. Philadelphia: WB Saunders; 1996:633-47

Folwaczny M, Hickel R. Orale Infektionen bei Patienten mit Immunsuppression. Dtsch Zahnärztl Z 2002;57:455-61

Fortun J, López-San Roman A, Velasco JJ, Sánchez-Sousa A, De Vicente E, Nuño J, Quereda C, Bárcena R, Monge G, Candela A, Honrubia A, Guerrero A. Selection of Candida glabrata strains with reduced susceptibility to azoles in four liver transplant patients with invasive candidiasis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997;16:314-7

Gales AC, Pfaller MA, Houston AK, Joly S, Sullivan DJ, Coleman DC, Soll DR. Identification of Candida dubliniensis based on temperature and utilization of Xylose and α-Methyl-D-Glucosid as determined with the API 20 C AUX and Vitek YBC Systems. J Clin Microbiol 1999;37:3804-8

Garbino J. Caspofungin- a new therapeutic option for oropharyngeal candidiasis. Clin Microbiol Infect 2004;10:187-9

Garbino J, Lew D, Hirschel B, Rohner P. Caspofungin in the treatment of oropharyngeal candidiasis. J Clin Pract 2003;57:143-4

George MJ, Snydman DR, Werner BG, Griffith J, Falagas ME, Dougherty NN, Rubin RH. The independent role of Cytomegalovirus as a risk factor for invasive fungal disease in orthotopic liver transplant recipients. Am J Med 1997;103:106-13

Gergely L, Uri J. Day by day variation in the mycotic flora of the mouth. Arch Oral Biol 1966;11:15-9

Gerson B. Cyclosporin controversies. Clin Lab Med 1987;7:669-86

Gladdy RA, Richardson SE, Davies D, Superina RA. Candida infection in pediatric liver transplant recipients. Liver Transplant Surg 1999;5:16-24

Gündes SG, Gulenc S, Bingol R. Comparative performance of Fungichrom I, Candifast and API 20 C AUX systems in the identification of clinically significant yeasts. J Med Microbiol 2001;50:1105-10

Guinet R, Chanas J, Goullier A, Bonnefoy G, Ambroise-Thomas P. Fatal septicemia due to amphotericin B- resistant Candida lusitaniae. J Clin Microbiol 1983;18:433-44

Gulec AT, Demirbilek M, Seckin D, Can F, Saray Y, Sarafakioglu E, Haberal M. Superficial fungal infections in 102 renal transplant recipients: a case control study. J Am Acad Dermatol 2003;49:187-92

Hadley S, Samore MH, Lewis WD, Jenkins RL, Karchmer AW, Hammer SM. Major infectious complications after orthotopic liver transplantation and comparison of outcomes in patients receiving cyclosporine or FK 506 as primery immunosupression. Transplantation 1995;59:851-9

Ho M, Wajszczuk CP, Hardy A, Dummer JS, Starzl TE, Hakala TR, Bahnson HT. Infections in kidney, heart, and liver transplant recipients on cyclosporine. Transplant Proc 1983;15:2768-72

Hofflin JM, Potasman I, Baldwin JC, Oyer PE, Stinson EB, Remington JS. Infectious complications in heart transplant recipients receiving cyclosporin and corticosteroids. Ann Intern Med 1987;106:209-16

Iyampillai T, Michael JS, Mathai E, Mathews MS. Use of Chromagar medium in the differentiation of candida species: is it costeffective in developing countries? Trop Med Parasitol 2004;98:279-82

Keating GM, Jarvis B. Caspofungin. Drugs 2001;61:1121-9

Kim JH, Perfect JR. Infection and cyclosporine. Rev Infect Dis 1989;11:677-90

King GN, Glover MT, Kwan JTC, Williams DM, Thornhill MH. Prevalence and risk faktors associated with leukoplakia, hairy leukoplakia, erythematous candidiasis, and gingival hyperplasia in renal transplant recipients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1994;78:718-26

Kleinegger CL, Lockhart SR, Vargas K, Soll DR. Frequency, intensity, species, and strains of oral Candida vary as a function of host age. J Clin Microbiol 1996;34:2246-54

Koks CH, Meenhorst PL, Bult A, Beijnen JH. Itraconazole solution: summary of pharmacokinetic features and review of activity in the treatment of fluconazole-resistant oral candidosis in HIV-infected persons. Pharmacol Res 2002;46:195-201

Korting HC, Ollert M, Georgii A, Fröschl M. In vitro susceptibilities and biotypes of Candida albicans isolates from the oral cavities of patients infected with Human Immunodeficiency Virus. J Clin Microbiol 1988;26:2626-31

Kovacicova G, Hanzen J, Pisarcikova M, Sejnova D, Horn J, Babela R, Svetlansky I, Lovaszova M, Gogova M, Krcmery V. Nosocomial fungemia due to amphotericin B-resistant Candida spp. in three pediatric patients after previous neurosurgery for brain tumors. J Infect Chemother 2001;7:45-8

Kusne S, Dummer JS, Singh N, Makowka L, Esquivel C, Starzl TE, Ho M. Fungal infections after liver transplantation. Transplant Proc 1988;1 (Suppl 1):650-1

Kusne S, Tobin D, Pasculle W, Van Thiel DH, Ho M, Starzl TE. Candida carriage in the alimentary tract of liver transplant candidates. Transplantation 1994;57:398-402

Lees E, Barton RC. The use of Niger seed agar to screen for Candida dubliniensis in the clinical microbiology laboratory. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;46:13-7

Luo G, Samaranayake LP. Candida glabrata, an emerging fungal pathogen, exibits superior cell

surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared with Candida albicans. APMIS 2002;110:601-10

Lynch DP. Oral Candidiasis. History, classification, and clinical presentation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1994;78:189-93

MacFarlane TW, Helnarska SJ. The microbiology of angular cheilitis. Brit Dent J 1976;140:403-6

Mariano P de L, Milan EP, da Matta DA, Colombo AL. Candida dubliniensis identification in Brazilian yeast stock collection. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003;98:533-8

Masia CM, Gutiérrez RF. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. Lancet Infect Dis 2002;2:550-63

Masipa JN, Hauman CHJ, Raubenheimer EJ. Oral carriage of candida species in patients visiting the Medunsa Dental Clinic. J Dent Assoc S-Afr 1992;47:407-9

McCarthy GM. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;73:181-6

Nguyen MH, Peacock JE, Morris AJ, Tanner DC, Nguyen ML, Snydman DR, Wagener MM, Rinaldi MG, Yu VL. The changing face of candidemia: emergence of non-candida albicans species and antifungal resistance. Am J Med 1996;100:617-23

Nielsen H, Bentsen KD, Hojtved L, Willemoes EH, Scheutz F, Schiodt M, Stoltze K, Pindborg JJ. Oral candidiasis and immune status of HIV-infected patients. J Oral Pathol Med 1994;23:140-3

Odds FC. Candida infections: an overview. Crit Rev Microbiol 1987;15:1-5

Odds FC. Candida and Candidosis: A review and bibliography, Bailliere and Tindcell, London 1988

Odds FC, Bernaerts R. Chromagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. J Clin Microbiol 1994;32:1923-9

Oliver DE, Shillitoe EJ. Effects of smoking on the prevalence and intraoral distribution of Candida albicans. J Oral Path 1984;13:265-70

Pappagianis D, Collins MS, Hector R, Remington J. Development of resistance to amphotericin B in Candida lusitaniae infecting a human. Antimicrob Agents Chemother 1979;16:123-6

Paulin T, Ringdén O, Nilsson B, Lönnqvist B, Gahrton G. Variables predicting bacterial and fungal infections after allogeneic marrow engraftment. Transplantation 1987;43:393-8

Paya CV. Fungal infections in solid-organ transplantation. Clin Infect Dis 1993;16:677-88

Paya CV. Prevention of fungal and Hepatitis Virus Infections in liver transplantation. Clin Infect Dis 2001;33 (Suppl 1):47-52

Peter Z, Zala J, Szabo O, Telegdy L, Horvath Z, Makara M, Schuller J. Fungal colonization of the esophagus in alcoholic liver disease. Z Gastroenterol 2000;38:821-5

Peterson PK, Balfour HH Jr, Marker SC, Fryd DS, Howard RJ, Simmons, RL. Cytomegalovirus disease in renal allograft recipients: a prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation. Medicine (Baltimore) 1980;59:283-300

Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of Chromagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata. J Clin Microbiol 1996;34:58-61

Ponton J, Ruchel R, Clemons KV, Coleman DC, Grillot R, Guarro J, Aldebert D, Ambroise-Thomas P, Cano J, Carillo-Munoz AJ, Gene J, Pinel C, Stevens DA, Sullivan DJ. Emerging pathogens. Med Mycol 2000;38 (suppl.1):225-36

Pumpianski R, Ganor S. Epidemiological significance of oral Candida in recurrent candidal vaginitis. Isr J Med Sci 1968;4:1268-9

Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP. Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and DNA probe. J Clin Microbiol 1990;28:2733-8

Reichart PA. Infektionen der Mundschleimhaut. Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 1999;3:298-308

Reichart PA, Samaranayake LP, Philipsen HP. Pathology and clinical correlates in oral candidiasis and its variants: a review. Oral Dis 2000;6:85-91

Reichart PA, Schmidtberg W, Samaranayake LP, Scheifele C. Betel quid-associated oral lesions and oral Candida species in a female Cambodian cohort. J Oral Path Med 2002;31:468-72

Rex JH, Walsh TJ, Anaissie EJ. Fungal infection in iatrogenically compromised hosts. Adv Int Med 1998;43:321-71

Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, Edwards JE. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Clin Infect Dis 2000;30:662-78

Rifkind D, Marchioro TL, Schneck SA, Hill RB. Systemic fungal infections complicating renal transplantation and imunosuppressive therapy. Am J Med 1967;43:28-38

Ruhnke M, Tennagen I, Engelmann E. Korrelation zwischen Resistenztestung und Typisierung von Candida albicans- Isolaten bei AIDS-Patienten und chronisch rezidivierender oraler Candidose. Mycoses 1994;37(Suppl. 1):60-3

Ruskin JD, Wood RP, Bailey MR, Whitmore CK, Shaw BW. Comparative trial of oral clotrimazole and nystatin for oropharyngeal candidiasis prophylaxis in orthotopic liver transplant patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;74:567-71

Russotto SB. The role of Candida albicans in the pathogenesis of angular cheilosis. J Prosthet Dent 1980;44:243-6

Salkin IF, Pruitt WR, Padhye AA, Sullivan D, Coleman D, Pincus DH. Distinctive Carbohydrate assimilation profiles used to identify the first clinical isolates of Candida dubliniensis recovered in the United States. J Clin Microbiol 1998;36:1467

Samaranayake LP. Nutritional factors and oral candidosis. J Oral Pathol Med 1986;15:61-5

Samaranayake LP. Oral mycoses in HIV infection. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;73:171-80

Samaranayake LP, MacFarlane TW, eds. Oral candidosis. 1990;Wright, Bristol, United Kingdom

Samaranayake YH, Samaranayake LP. Candida krusei:biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. J Med Microbiol 1994;41:295-310

Samonis G, Anastassiadou H, Dassiou M, Tselentis Y, Bodey GP. Effects of broad-spectrum antibiotics on colonization of gastrointestinal tracts of mice by Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:602-3

Sangeorzan JA, Bradley SF, Xiaogang HE, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, Kauffman CA. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. Am J Med 1994;97:339-46

Schoofs A, Odds FC, Colebunders R, Ieven M, Goossens H. Use of specialized isolation media for recognition and identification of Candida dubliniensis isolates from HIV-infected patients. Eur J Clin Infect Dis 1997;16:296-300

Schooley RT, Hirsch MS, Colvin RB, Cosimi B, Tolkoff-Rubin NE, McCluskey RT, Burton RC, Russel PS, Herrin JT, Delmonico FL, Giorgi JV, Henle W, Rubin RH. Association of herpesvirus infections with T-lymphocyte-subset alterations, glomerulopathy, and opportunistic infections after renal transplantation. N Engl J Med 1983;308:307-13

Scully C, El-Kabir M. Candida and oral candidosis: a review. Crit Rev Oral Biol Med 1994;5:125-57

Singh N, Gayowski T, Wagener MM, Doyle H, Marino IR. Invasive fungal infections in liver transplant recipients receiving tacrolimus as the primary immunosuppressive agent. Clin Infect Dis 1997;24:179-84

Soll DR, Galask R, Isley S, Rao TVG, Stone D, Hicks J, Schmid J, Mac K, Hanna C. High frequency switching of Candida albicans during successive episodes of recurrent vaginitis. J

Clin Microbiol 1989;27:681-90

Stone HH, Kolb LD, Currie CA, Geheber CE, Cuzzell JZ. Candida sepsis. Pathogenesis and principles of treatment. Ann Surg 1974;179:697-711

Sullivan D, Coleman D. Candida dubliniensis: an emerging opportunistic pathogen. Curr Topics Med Mycol 1997;8:15-25

Sullivan D, Coleman D. Candida dubliniensis: characteristics and identification. J Clin Microbiol 1998;36:329-34

Sullivan D, Coleman D. Molecular approaches to identification and typing of Candida species In: Candida and Candidiasis. Calderone RA, editor. Washington ASM Press, 2001:427-41

Sullivan D, Haynes K, Bille J, Boerlin P, Rodero L, Lloyd S, Henman M, Coleman D. Widespread geographic distribution of oral Candida dubliniensis strains in human immunodeficiency virus-infected individuals. J Clin Microbiol 1997;35:960-4

Sziegoleit F, Weidner N, Sziegoleit A, Wetzel WE. Candidabesiedlung der Mundhöhle und des Magen-Darm-Traktes. Dtsch Zahnärztl Z 2002;57:349-52

Takagi M, Moriya K, Yano K. Induction of cytochrome P450 in petroleum-assimilating yeast - I. Selection of a strain and basic characterization of cytochrome P450 induction in the strain. Cell Mol Biol 1980;25:363-9

Tollemar J, Ericzon BG, Holmberg K, Andersson J. The incidence and diagnosis of invasive fungal infections in liver transplant recipients. Transplant Proc 1990;22:242-4

Verweij PE, Meis JFGM. Microbiological diagnosis of invasive fungal infections in transplant recipients. Transplant Inf Dis 2000;2:80-7

Villanueva A, Arathoon EG, Gotuzzo E, Berman RS, DiNubile MJ, Sable CA. A randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin for the treatment of candidal esophagitis. Clin Infect Dis 2001;33:1529-35

Voss A, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, Doebbeling BN. Investigation of the sequence of colonization and candidemia in nonneutropenic patients. J Clin Microbiol 1994;32:975-80

Wagner JA, Ross H, Hunt S, Gamberg P, Valantine H, Merigan TC, Stinson EB. Prophylactic ganciclovir treatment reduces fungal as well as cytomegalovirus infections after heart transplantation. Transplantation 1995;60:1473-7

Wajszczuk CP, Dummer JS, Ho M, Van Thiel DH, Starzl TE, Iwatsuki S, Shaw B. Fungal infections in liver transplant recipients. Transplantation 1985;40:347-53

Whelan WL, Kirsch DR, Kwon-Chung KJ, Wahl SM, Smith PD. Candida albicans in patients with the acquired immunodeficiency syndrome:abscence of a novel or hypervirulent strain. J Infect Dis 1990;162:513-8

Williams DW, Lewis MAO. Isolation and identification of candida from the oral cavity. Oral Dis 2000;6:3-11

Williamson MI, Samaranayake LP, MacFarlane TW. Biotypes of Candida albicans using the API 20 C system. FEMS Microbiol Lett 1986;37:27-9

Williamson MI, Samaranayake LP, MacFarlane TW. A new simple method for biotyping Candida albicans. Microbios 1987;51:159-67

Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida species. Mycoses 1999;42:61-5

Winston DJ, Emmanouilides C, Busuttil RW. Infections in liver transplant recipients. Clin Infect Dis 1995;21:1077-91

Ziccardi VB, Abubaker AO, Sotereanos GC, Patterson GT. Maxillofacial considerations in orthotopic liver transplantation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1991;71:21-6

Anhang

Patientenaufklärung zur Untersuchung „Qualitative Bestimmung von Candida Spezies in der Mundhöhle bei Patienten nach Herz-, Leber- und Lungentransplantation“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Die Bedeutung der Pilzerkrankungen hat in den letzten Jahrzehnten in vielen Bereichen der Medizin erheblich zugenommen.

In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass vor allem immungeschwächte Patienten für eine Besiedlung mit dem Hefepilz Candida anfällig sind.
Bislang existieren aber leider nur wenige Studien, die den Einfluss einer medikamentösen Therapie auf alle Candida Spezies untersuchen.

Ziel dieser Untersuchung ist es, die Art der Candida-Spezies sowie klinische Formen der oralen Candidiasis nach Organtransplantation festzustellen.

Dazu werden Veränderungen ihrer Mundschleimhaut dokumentiert und ein Abstrich mittels Fungi- quick® auf dem hinteren Zungendrittel genommen.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können die Untersuchungen jederzeit abbrechen. Sollten Sie noch Fragen haben, stehe ich ihnen gern zur Verfügung.

Vielen Dank für Ihr Mitwirken bei der wissenschaftlichen Studie.

Berlin, 25. Januar 2002 Cornelia Kießling

Einwilligung zur Teilnahme und zur Datenerfassung

Frau Cornelia Kießling hat mit mir heute ein Aufklärungsgespräch über die Teilnahme an der wissenschaftlichen Untersuchung zu

Candida Spezies in der Mundhöhle bei Patienten nach Lebertransplantation

geführt, bei dem ich alle mich interessierenden Fragen stellen konnte.

Ich bin über Wesen und Bedeutung dieser Untersuchung, die allein Forschungszwecken dient, aufgeklärt worden. Ich hatte genügend Zeit für meine Entscheidung und bin mit der Teilnahme an der Untersuchung und der *anonymisierten* Aufzeichnung von Krankheitsdaten sowie deren Auswertung und Speicherung in anonymisierter Form einverstanden.

Hiermit gebe ich meine Einwilligung zur Teilnahme an dieser Untersuchung.

.....

Patientenname

.....

Datum und Unterschrift des Patienten

.....

Datum und Unterschrift des Untersuchers

.....

Name des Untersuchers in Großbuchstaben – Telephonnummer – Klinikstempel

Datenerfassungsbogen

Oral Candida carriage in TX patients

study no.: ..... file-no.: ..... date .....
gender m □ f □ age .....yrs date of Tx .....
name ……..... type of TX …….....….....
reason for TX …….....…….....

GENERAL HEALTH STATUS date .....

FK 506 (Tacrolimus) level ……..... EBV ……..
Mycophen. (Cellcept®) level ……... CMV …….
Cyclosporin A level ……..... Hb .....……....
leukocytes ..... granulocytes ……..…
lymphocytes ……..... others .....
CD4/ CD8 ratio ……...
CD4+- lymphocytes ……

smoke no □ yes □ sort ……..... number ……since ……....
alcohol no □ yes □ sort ……..... quantity …….…….....
denture no □ OK □ UK □

ORAL EXAMINATION photos yes □ no □
smear taken yes □ no □

a) Oropharyngeal candidiasis
□ pseudomembranous localisation ……..
□ erythematous localisation ……..……....
□ angular cheilitis localisation ……..……....

b) Periodontal diseases
□ necrotizing gingivitis .....
□ necrotizing periodontitis .....
□ necrotizing stomatitis .....

c) Herpes simplex infection .....

d) Aphthous ulcers .....

e) Oral hairy leukoplakia unilateral left □ right □ bilateral □

f) others ……..

THERAPY date .....

a) Immunosuppressive therapy

- ☐ Tacrolimus (Prograf®) Fk 506 ..... mg/ d
- ☐ Mycophenolatmofetil (CellCept®) ..... g/ d
- ☐ Prednison, Methylprednison (Decortin H®) ..... mg/ d
- ☐ Azathioprin (Imurek®) ..... mg/ d
- ☐ Cs A (Sandimmun®) ..... mg/ d
- ☐ Rapamycin (Sirolimus®) (Rapamune®) ..... ml/ d
- ☐ others…….....

b) Antiviral therapy

- ☐ Aciclovir (Zovirax®) ..... mg/ d
- ☐ others……....

c) Antibiotics

- ☐ Ciprofloxazin (Ciprobay®) ..... mg/ d
- ☐ Cotrimoxazol (Cotrim forte®) ..... mg/ d
- ☐ others…….....

d) Antifungal treatment

- ☐ Amphotericin B
  - ☐ Ampho-Moronal® ..... ml p.os/ d
  - ☐ Amphotericin B® ..... mg Inhalation/ d
- ☐ Fluconazole (Diflucan®) ..... mg/ d
- ☐ Itraconazole (Sempera®) ..... mg/ d
- ☐ Glukansynthesehemmer (Caspofungin®) ..... mg/ d
- ☐ others…….....

f) other medication .....

Danksagung

Frau Prof. Dr. Schmidt-Westhausen möchte ich für die Initiation dieser Doktorarbeit danken, für die stets gewährte Unterstützung, hilfreiche Anregungen und die kritische Durchsicht des Entwurfes der Dissertationsschrift. Frau Dr. Neuhaus danke ich herzlich für die Betreuung in der Ambulanz für Patienten nach Lebertransplantation. Herr Dr. Lehmkuhl ermöglichte mir den Kontakt zu den Patienten nach Herz- und Lungentransplantation, wofür ich ihm herzlich danke.
Besonderer Dank gebührt der Universität von Hong Kong und allen Mitarbeitern, durch die die Laboruntersuchungen durchgeführt werden konnten.
Frau Dr. Küchler möchte ich für die Einarbeitung in das SPSS-Programm und für die Hilfe bei der statistischen Auswertung danken.
Einen großen Anteil an der Entstehung dieser Dissertation haben weiterhin meine Eltern, meine Schwester sowie zahlreiche Freunde, ohne deren Hilfe und Zuspruch diese Arbeit nicht hätte entstehen können.
Ganz besonderer Dank gilt den Patienten, die sich für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt haben.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass diese Dissertation von mir selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben wurden.

Bremen, den 31.03.2005

Lebenslauf

Name	Cornelia Kießling
Geburtsdatum	23. März 1975
Geburtsort	Halberstadt, Sachsen-Anhalt
Anschrift	Fleetrade 26, 28207 Bremen
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch
Konfession	evangelisch

Schulausbildung

1981 – 1983	Besuch der Käthe-Kollwitz-Schule, Halberstadt
1983 – 1990	Besuch der Friedensschule (Schule mit erweitertem Russischunterricht), Halberstadt
1990 – 1993	Besuch des Gymnasiums Martineum, Halberstadt

Studium

Okt. 1993 – Sept. 1996	Studium des Technischen Umweltschutzes, Technische Universität Berlin
Okt. 1996 – Jan. 2002	Studium der Zahnmedizin, Humboldt-Universität zu Berlin
März 1999	Physikum
März 2001	3-wöchiges Praktikum an der University of Chiang Mai und in Sukhotai, Thailand
Januar 2002	Staatsexamen, Erhalt der Approbation

Wissenschaftliche Tätigkeit

Januar 2002 - Juli 2002	Klinisch-experimentelle Untersuchung zum Auftreten einer Candidiasis bei Patienten nach Organtransplantation am Virchow-Klinikum, Berlin

Berufliche Tätigkeit

August 2002 - Juli 2004	Assistenzzahnärztin in der Zahnarztpraxis Jensen, Seevetal (Niedersachsen)
August 2004 – Dezember 2004	Dissertation
seit Januar 2005	selbständige Tätigkeit in der Zahnarztpraxis Dr. Naue, Buchholz und Partner, Bremen

Bremen, den 31.03.2005