Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
(Prof. Dr. med. U. Groß)
im Zentrum Hygiene und Humangenetik
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Zur Situation invasiver Candidosen in Deutschland

Epidemiologie, Resistenzverhalten und klinisch-geographische Besonderheiten

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Daniel Kahl
aus
Görlitz

Göttingen 2014

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. M. Borg-von Zepelin

II. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Onnen Mörer

III. Berichterstatterin: PD Dr. med. Annette Spreer

Tag der mündlichen Prüfung: 09.09.2015

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1
2. Material 5
2.1 Verbrauchsmaterialien 5
2.2 Chemikalien und Nährmedien 5
2.3 Antimykotika 6
2.4 Geräte 6
2.5 Herkunft der Hefe-Isolate 8
2.6 Herkunft der Referenzstämme 12
3. Methoden 13
3.1 Kultur-/Nährmedien und Suspensionslösungen 13
3.1.1 Physiologische Kochsalzlösung 13
3.1.2 Sabouraud-Dextrose-Agar 13
3.1.3 RPMI-1640-Zellkulturmedium 13
3.2 Stammhaltung 14
3.3 Mikrodilutionstest 15
3.3.1 Inokulum 15
3.3.2 Antimykotika-Stammlösungen 16
3.3.3 Herstellung der Verdünnungsreihen 17
3.3.4 Beschickung der Mikrotestplatten 20
3.3.5 Inkubation 22
3.3.6 Ablesung der Ergebnisse 22
3.3.7 Interpretation der Ergebnisse 23
3.3.8 Qualitätskontrolle 26
4. Ergebnisse 28
4.1 Statistische Auswertung der Begleitbögen 28
4.1.1 Entnahmeort 28
4.1.2 Risikofaktoren 30
4.1.3 Epidemiologische Grundaussagen zur Gesamtstichprobe 31
4.1.4 Speziesverteilung in der Gesamtstichprobe 32
4.1.5 Speziesverteilung in Abhängigkeit vom Entnahmeort 33
4.1.6 Speziesverteilung in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht 34
4.1.7 Speziesverteilung in Abhängigkeit von Risikofaktoren 37
4.1.8 Mikrobielle Ko-Besiedlungen/Ko-Infektionen 40

4.2 Ergebnisse der Mikrodilutionstestung 42
4.2.1 Amphotericin B 42
4.2.2 Flucytosin 44
4.2.3 Fluconazol 46
4.2.4 Itraconazol 48
4.2.5 Voriconazol 50
4.2.6 Caspofungin 52
4.2.7 Zusammenfassung des Resistenzverhaltens der Spezies 55
4.2.8 Wirksamkeitsvergleiche/ Kreuzempfindlichkeit 58
4.3 Besonderheiten 64
4.3.1 Länderspezifische Besonderheiten 64
4.3.2 Institutionsspezifische Besonderheiten 69
4.3.3 Hausinterne Besonderheiten 74
5. Diskussion 77
5.1 Einführung 77
5.2 Risikofaktoren 78
5.3 Speziesverteilung 80
5.3.1 *C. albicans* 80
5.3.2 *C. glabrata* 80
5.3.3 *C. parapsilosis* 81
5.3.4 *C. tropicalis* 82
5.3.5 *C. krusei* 83
5.4 Resistenzlage 84
5.4.1 Amphotericin B 84
5.4.2 Flucytosin 85
5.4.3 Fluconazol 86
5.4.4 Itraconazol 87
5.4.5 Voriconazol 88
5.4.6 Caspofungin 89
5.5 Ausgewählte Patientengruppen 91
5.5.1 Risikofaktoren 91
5.5.2 Institutionen 92
5.6 Schlussfolgerung 93
6. Zusammenfassung 94
7. Literaturverzeichnis 98

Abkürzungsverzeichnis

Es werden die nach dem internationalen Einheitssystem vereinbarten Basiseinheiten verwendet (SI-Einheiten). Geläufige Zeichen und Abkürzungen sind in der Liste nicht aufgeführt.

ABL	alte Bundesländer
Abt.	Abteilung
Aqua (bi-)dest.	(zweifach) destilliertes, demineralisiertes Wasser
ASM	American Society for Mikrobiology
ATCC	American Type Culture Collection
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute (ehemals NCCLS)
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECMM	European Confederation of Medical Mycology
EUCAST	European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing
IC	Invasive Candidosen, *im weiteren Sinne* Candidämien
Inst. f.	Institut für
McF	Standard-McFarland-Trübungsmesswert
MHK	minimale Hemmkonzentration
MOPS	3-Morpholino-1-propansulfonsäure ($C_7H_{15}NO_4S$)
MykoLabNet(-D)	Netzwerk deutscher Laboratorien zur Eruierung der Epidemiologie systemischer Mykosen in Deutschland (unter der Leitung des NRZSM Göttingen)
NAC	Non-albicans Candida
NBL	neue Bundesländer
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards (= CLSI)
NRZSM	Nationales Referenzzentrum für systemische Mykosen (Sitz in Göttingen)
OD	optische Dichte von Trübungsmesswerten
RPMI	Roswell Park Memorial Institute (Medium)

1. Einleitung

Die Inzidenz systemischer Mykosen hat in den vergangenen Dekaden erheblich zugenommen (Koch et al. 2004, Martin et al. 2003, Pfaller et al. 2007).
Candida spp. werden in den USA mittlerweile nach koagulasenegativen *Staphylococcus spp.* und *S. aureus* zusammen mit *Enterococcus spp.* auf Rang vier der Sepsiserreger beobachtet (Gudlaugsson et al. 2003, Wisplinghoff et al. 2004). In einer prospektiven deutschen Multicenter-Studie konnten in nahezu 18% der Fälle Pilze als Ursache schwerer Septitiden detektiert werden (Engel et al. 2007).
Ursächlich für die Inzidenzzunahme invasiver Mykosen ist einerseits die konsequentere Erregersuche mit empfindlicheren Testverfahren, andererseits spielen jedoch der demografische Wandel und innovative Therapieregime mit eigenen sytemimmanenten Risikofaktoren die entscheidende Rolle. Heute bestimmt zunehmend der ältere, multimorbide und somit häufig immunkompromitierte Patient den klinischen Alltag. Die steigende Lebenserwartung - von nunmehr durchschnittlich rund 85 Jahren bei Frauen und 81 Jahren bei Männern (durchschnittliche fernere Lebenserwartung sechzigjähriger Bundesbürger, Daten des Statistischen Bundesamtes; Stand 2013) - ist dem gestiegenen Lebensstandard und dem hygienisch-medizinischen Fortschritt geschuldet. So verfügt beispielsweise die moderne Intensivmedizin über ein vielfältiges antibiotisches Repertoire und bietet mit verschiedensten invasiven Organersatz- und Messverfahren die Möglichkeit, nahezu jeden Keim zu bekämpfen und nahezu jede Organfunktion zu ersetzen. Darüber hinaus führt auch der Einsatz neuer Zytostatika und Immunsuppressiva im Rahmen spezieller Studienprotokolle zu einem sprunghaften Fortschritt in der Behandlung früher unheilbarer hämatoonkologischer Patienten. Jeder Fortschritt stößt jedoch zugleich neue Pforten auf und stellt die Medizin vor neue Herausforderungen (Dorsey et al. 2007, Ferri et al. 2005, Hirtz et al. 2007, Robert Koch-Institut „Krebs in Deutschland 2007/2008“). Der Kreis schließt sich hier, denn genau diese neuen Therapieoptionen stellen direkte Risikofaktoren für die häufig letal verlaufenden invasiven Mykosen dar (Ostrosky-Zeichner et al. 2007).
Die Daten zur Gesamtmortalität unterliegen - abhängig vom eingeschlossenen Patientengut – einer großen Schwankungsbreite: von 9% (bei kindlichen Candidämien) über 25% (bei ambulant erworbenen Candidämien) bis zu 87% (bei

intensivpflichtigen Patienten im septischen Schock) (Bougnoux et al. 2008, Colombo et al. 2006, Gudlaugsson et al. 2003, Guzman et al. 2011, Pappas et al. 2003, Sofair et al. 2006, Voss et al. 1997, Wisplinghoff et al. 2004, Zirkel et al. 2012). Außerdem ist die Mortalität – ähnlich wie bei systemischen bakteriellen Infektionen – stark abhängig vom Zeitpunkt der Aufnahme einer adäquaten Therapie (Garey et al. 2006, Kumar et al. 2006, Morrell et al. 2005). Besonders dramatisch sehen die Daten bei Patienten im septischen Schock aus: Wird innerhalb der ersten 15 Stunden nicht adäquat therapiert, sinkt das 30-Tage-Überleben auf 21% (versus 80% bei früherem Therapiebeginn) (Kumar et al. 2006, Patel et al. 2009). Die größten zeitlichen Verluste liegen auf der diagnostischen Seite und sind vor allem durch lange Transport- und Informations-, aber auch Inkubationszeiten bedingt (Taur et al. 2010). Während seitens der Infrastruktur sicher häufig noch zeitlicher Optimierungsbedarf bestünde, sind die Inkubationszeiten der aktuell verfügbaren Resistenztests auf mindestens 24 Stunden determiniert. Hinzu kommt die häufig sehr niedrige Sensitivität der gebräuchlichen Kultivierungssysteme für Pilze, mit möglicherweise weiterem Zeitverlust.

Der mikrobiologische Befund kann und darf bei Verdacht auf eine systemische Mykose nicht abgewartet werden. In diesem Fall ist umgehend eine suffiziente kalkulierte Antimykotikatherapie einzuleiten. Eine erfolgreiche empirische Behandlung bedingt jedoch das Wissen um das zu erwartende Erreger- und Resistenzspektrum. Dieses wiederum wird wesentlich von der Gegenwart exogener und endogener Risikofaktoren, aber auch geographischen Unterschieden beeinflusst und unterliegt dem zeitlichen Fluss. Beispielhaft für die Bedeutung der Risikofaktoren seien hier die betagten hämatoonkologisch erkrankten Patienten den neonatologischen, immaturen Patienten gegenübergestellt: während bei Neonaten zumeist sensible *C. albicans* oder *C. parapsilosis* isoliert werden, ist die hämatoonkologische Patientengruppe - bedingt durch zahlreiche antimikrobielle Vortherapien – häufiger für resistente Non-*albicans spp*. wie C. *glabrata, C. tropicalis* oder *C. krusei* empfänglich. Für die zeitlichen Veränderungen von Erreger- und Resistenzspektren sind wechselnde Selektionsfaktoren verantwortlich. So treten durch die langjährige Fluconazol-Prophylaxe in der Hämatoonkologie vielerorts zunehmend Non-*albicans spp.* in den Vordergrund (Trick et al. 2002). Welchen Einfluss die Geographie auf die Speziesverteilung und Resistenzlage hat, konnte in zahlreichen (multi-)nationalen Epidemiologiestudien gezeigt werden (Arendrup 2010, Nucci et al. 2010, Pfaller et al.

2007, Tortorano et al. 2004). Beispielhaft seien hier die extremen Schwankungen von *C. albicans, C. glabrata* und *C. parapsilosis* genannt. So ist bei den beiden erstgenannten im Wesentlichen ein Nord-Süd-Gefälle zu beobachten. Während in Finnland und Norwegen *C. albicans*-Anteile von 70% gefunden wurden (Poikonen et al. 2003, Sandven et al. 2006), lag dieser in Spanien und Italien nur bei etwa 50% (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cisterna et al. 2010). Ähnlich verhält es sich bei *C. glabrata*: in Schottland (Odds et al. 2007), Dänemark (Arendrup et al. 2011) und Belgien (Swinne et al. 2009) gehört jedes vierte Isolat dieser Spezies an. Im mediterranen (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cuenca-Estrella et al. 2002) und lateinamerikanischen Raum werden hingegen mit unter 10% (Colombo et al. 2006, Cuenca-Estrella et al. 2002, Nucci et al. 2010, Pfaller et al. 2007) nur sehr wenige *C. glabrata* isoliert. Dies jedoch zugunsten einer anderen Non-*albicans spp*.: *C. parapsilosis*. Mit relativen Häufigkeiten zwischen 16% und 40% rückt diese dort in den Vordergrund (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cisterna et al. 2010, Colombo et al. 2006, Cuenca-Estrella et al. 2002, Nucci et al. 2010, Pfaller et al. 2007).

Für Deutschland standen solche therapieweisenden, epidemiologischen Informationen lange Zeit nicht zur Verfügung. Durch die Gründung des bundesweiten Netzwerkes „MykoLabNet-D“ und der Implementierung des Nationalen Referenzzentrums für Systemische Mykosen konnte diese Informationslücke jedoch erfolgreich geschlossen werden (Borg-von Zepelin et al. 2007). Die vorliegende Arbeit stellt nun das epidemiologische „Update“ dar, soll jedoch darüber hinaus auch die Bedeutung regionaler und klinischer Besonderheiten herausstellen. Denn Abweichungen von Spezies- und Resistenzverteilung sind auch in Deutschland bis auf die interhospitale Ebene zurückzuverfolgen (Fleck et al. 2007, Zirkel et al. 2012).

Die Zielsetzung meiner Arbeit kann daher wie folgt zusammengefasst werden:

1. Auswertung der Sammlung epidemiologischer Daten über systemische Mykosen in Deutschland (Zeitraum Sept. 2005 - Dez. 2006),
2. Testung der Empfindlichkeit dieser Isolate gegenüber sechs häufig verabreichten Antimykotika und
3. Analyse der erhobenen epidemiologischen und Resistenzdaten im Hinblick auf geographische und klinische Besonderheiten.

Diese Daten - stets im Kontext der aktuellen Therapieleitlinien diskutiert – stellen eine Grundlage für die erfolgreiche Behandlung invasiver Candidosen in Deutschland dar.

2. Material

2.1 Verbrauchsmaterialien

Copan Diagnostics, Corona, CA, USA

Sterile Wattetupfer

Corning Incorporated, Corning, NY, USA

Bottle Top Polyethylensulfon-Filter 0,22 µm

Eppendorf AG, Hamburg

Combitips plus 5 ml

Greiner-Bio-One GmbH, Frickenhausen

PS-Microplatte, 96 K, F-Form

PS-Abdeckplatten

PP – test tubes cellstar 15 ml, 50 ml

Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld

Cryobank® Stammhaltungssystem

Pechiney Plastic Packaging, Chicago, IL, USA

Parafilm M

Sarstedt AG &Co KG, Nümbrecht

Pipettenspitzen 10 µl, 200 µl, 1000 µl

Impfschlinge 1 µl, 10 µl

2.2 Chemikalien und Nährmedien

Biochrom & KG, Berlin

Instamed - Medium RPMI 1640

J. T. Baker, Deventer, Niederlande

Methanol

Merck & Co, Inc.,Whitehouse Station, USA

Dimethylsulfoxid

Glucose

Natriumchlorid

Sabouraud - Glucose – Agar

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

MOPS ≥ 99,5% Puffer

2.3 Antimykotika

Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz

5-Flucytosin, Reinsubstanz

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Amphotericin B, Reinsubstanz

Die nachstehend aufgelisteten vier Substanzen wurden freundlicherweise von den jeweils genannten Firmen bzw. Institutionen kostenfrei zur Verfügung gestellt:

Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgien

Itraconazol, Reinsubstanz

MSD Sharp & Dohme GmbH, Haar

Caspofungin, Reinsubstanz

Pfizer GmbH, Karlsruhe

Voriconazol, Reinsubstanz

Zentralapotheke des Klinkums, Göttingen

Fluconazol Reinsubstanz

2.4 Geräte

Bio-Mérieux, Marcy-l`Etoile, Frankeich

Densimat Mc-Farland-Photometer

BDK, Luft- und Reinraumtechnik GmbH, Sonnenbühl-Genkingen

Sicherheitswerkbank

Brand GmbH & Co.KG, Wertheim

Glaspipette 1ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml

Glas-Pasteurpipetten

Transferpette® 8 x 20 – 200 µl

Boskamp KG, Bornheim

Inkubationskästen Edelstahl

Cooke Engineering Company, Alexandria, VA, USA

Ablesespiegel “Microtiter” für Mikrotestplatten

Dynex Technologies, Chantilly, VA, USA

MR x TC Revelation Photometer mit 630 nm Filter

Eppendorf AG, Hamburg

Research Pipette 10 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl

Mehrkanal Research Pipette 30 – 300 µl

Multipette plus

Flow Laboratories GmbH, Magdeburg

Sterile Werkbank (Laminar Flow) Gelaire HF 48

Gebr. Rettberg GmbH Glasapparatebau, Göttingen

Flachbodengläser Fiolax 80 x Ø17,75 x 0,55 mm

Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co.KG, Eberstadt

Pipetus - Akku

Janke & Kunkel KG, Staufen im Breisgau

Magnetrührer IKA – Combimag MCH

Kern & Sohn GmbH, Balingen / Frommern

Waage Typ 572

KNF Neuberger GmbH, Freiburg

Vakuumpumpe

Memmert GmbH + Co.KG, Schwabach

Brutschrank BE 600

Scaltec Instruments GmbH, Heiligenstadt

Feinwaage SBC 33

Schott AG, Mainz

Glasflaschen Duran 50 ml, 100 ml, 200 ml, 500 ml, 1000 ml, 2000 ml

Schütt Labortechnik GmbH, Göttingen

Bunsenbrenner flammy S

Scientific Industry, Bohemia, NY, USA

Vortex Genie 2

Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH & Co.KG, Weilheim

pH-Meter inoLab pH-Level 1

2.5 Herkunft der Hefe-Isolate

Die verwendeten Hefeisolate - aus den Jahren 2005 und 2006 - entstammten 43 deutschen Einsenderlaboren des insgesamt 63 Labore umfassenden MykoLabNet-D. Koordinator dieses Labornetzwerkes ist das Nationale Referenzzentrum für Systemische Mykosen am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universitätskliniken Göttingen (NRZSM, Kreuzbergring 57, 37075 Göttingen) Eine Auflistung der Einsender mit der von ihnen eingesandten Anzahl an Isolaten findet sich in Tabelle 2.1.
Die Differenzierung der Isolate erfolgte zunächst anhand ihrer Morphologie sowie mittels biochemischer und enzymatischer Kriterien (API 32C) - oder auf der Basis von molekularbiologischer Typisierung.
In Abbildung 2.1 findet sich der zu allen Einsendungen beigefügte Begleitschein. Dieser enthielt sowohl Angaben zum Isolat (1) als auch epidemiologisch relevante Daten zum Patienten (2).
Unter den Angaben zum Isolat befand sich die Labornummer des Einsenders, das Entnahmedatum, Felder zum Eintrag der Materialart sowie die extern bestimmte voraussichtliche Pilzart.
Die Angaben zum Patienten schlossen epidemiologische Parameter wie Geburtsjahr, Geschlecht, Wohnort sowie Klinikstatus (stationär oder ambulant) ein. Weiterhin wurden klinische Informationen abgefragt: entweder auf der Basis der (Mehrfach-) Auswahl von 13 klinischen (Verdachts-)Diagnosen, oder aber als freies Informationsfeld. Die abgedruckten Diagnose-Auswahlmöglichkeiten wurden der internationalen Literatur entlehnt.
Die Patienteninitialien sowie der Patientencode fanden lediglich Verwendung zur Identifizierung von Mehrfacheinsendungen.

Tabelle 2.1: Einsenderlabore. Es wurden die Einsenderlabore mit den von ihnen eingesandten Spezies (in absteigender Einsendungsanzahl (n)) aufgeführt.

Nr.	Einsender	Einsender-Ort	Einsender-Abteilung	Anzahl der eingesandten Isolate
1	Gemeinschaftspraxis für Labormedizin und Mikrobiologie	Mönchengladbach		**87**
2	Johannes-Gutenberg-Universität	Mainz	Inst. f. Med. Mikrobiologie u. Hygiene	**59**
3	Universitätsklinikum des Saarlandes	Homburg/Saar	Inst. f. Mikrobiologie u. Hygiene	**58**
4	Medizinaluntersuchungsamt	Bochum	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**32**
5	Georg-August-Universität	Göttingen	Med. Mikrobiologie Varialabor 1 & 2	**32**
6	Helios Kliniken Schwerin	Schwerin	Inst. f. Laboratoriumsmedizin	**30**
7	Ernst-Moritz-Arndt-Universität	Greifswald	Friedrich-Loeffler-Inst. f. Med. Mikrobiologie	**27**
8	Universitätsklinikum Münster	Münster	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**26**
9	Klinikum Krefeld	Krefeld	Inst. f. Hygiene u. Laboratoriumsmedizin	**25**
10	Universität Düsseldorf	Düsseldorf	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**24**
11	Universität Würzburg	Würzburg	Inst. f. Hygiene u. Mikrobiologie	**24**
12	Universitätsklinikum Gießen und Marburg	Marburg	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**22**
13	Klinikum Friedrich-Schiller-Universität	Jena	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**22**
14	bioscientia GmbH	Ingelheim		**22**
15	Universitätsklinikum/ Medizinaluntersuchungsamt	Kiel	Inst. f. Mikrobiologie u. Virologie	**17**
16	Otto-von-Guericke-Universität	Magdeburg	Inst. f. Medizinische Mikrobiologie	**15**
17	Städtische Kliniken Frankfurt a.M.-Höchst	Frankfurt/ Main	Inst. f. Labormedizin	**14**
18	Zentrales Inst. d. Sanitätsdienstes der Bundeswehr	Koblenz	Laborabt. I Med. Diagnostik	**14**
19	Fachärzte für Laboratoriumsmedizin	München	Dr. Becker/Prof. Olgemöller/ Dr. Gambihier	**13**
20	Max von Pettenkofer-Institut	München	Inst. f. Med. Mikrobiologie	**11**
21	Landesuntersuchungsanstalt f. d. Gesundheits-u. Veterinärwesen	Dresden	Med. Mikrobiologie	**11**
22	Südharz-Krankenhaus Nordhausen	Nordhausen	Inst. f. Med. Laboratoriums-diagnostik	**10**
23	Niedersächsisches Landesgesundheitsamt	Hannover	Varia-Labor	**9**
24	Klinikum Duisburg	Duisburg	Zentrallabor	**8**
25	Charité-Universitätsmedizin	Berlin	Inst. f. Infektionsmedizin	**5**
26	Landesuntersuchungsanstalt f. d. Gesundheits- u.Veterinärwesen	Chemnitz	Abt. II	**5**

Nr.	Einsender	Einsender-Ort	Einsender-Abteilung	Anzahl der eingesandten Isolate
27	Gemeinschaftspraxis	Köln		4
28	Gemeinschaftspraxis	Münster	Dr. Weyer /Dr. Hingst-Göppl/ Dr. Treder/ Prof. Cullen	4
29	Ärztliches Labor	Frankfurt /Oder	Dr. med. Frank Berthold u. Kollegen	3
30	DRK-Kliniken Berlin	Berlin	Inst. f. Mikrobiologie u. Krankenhaushygiene	3
31	Marienhospital Stuttgart	Stuttgart	Inst. f. Laboratoriumsmedizin	3
32	Gemeinschaftspraxis	Augsburg	Dres. Bartl Wimmer u.a.	2
33	Krankenhaus St. Barbara	Attendorn	Attendorn GmbH-Labor	2
34	Unstrut-Hainich-Kreiskrankenhaus	Mühlhausen	Abt. Infektiologie	2
35	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein	Lübeck	Inst. f. Med. Mikrobiologie u. Hygiene	2
36	Universitätsklinikum der RWTH	Aachen	Inst. f. Med. Mikrobiologie	2
37	Marienkrankenhaus	Hamburg	Inst. f. Laboratoriumsmedizin	2
38	Thüringer Landesamt f. Lebens-mittel und Verbraucherschutz	Erfurt		1
39	Universitätsklinik	Erlangen	Inst. f. Klin. Mikrobiologie	1
40	HELIOS-Klinikum Wuppertal	Wuppertal	Inst. f. Med. Mikrobiologie u. Immunologie	1
41	Universitätsklinikum Regensburg	Regensburg	Inst. f. Mikrobiologie u. Hygiene	1
42	Carl-Thiem-Klinikum Cottbus	Cottbus	Inst. f. Mikrobiologie u. Krankenhaushygiene	1
43	Universität Freiburg	Freiburg	Inst. f. Med. Mikrobiologie u. Hygiene	1

Stempel des Einsenders

Begleitschein zur Untersuchung eines Pilz-Isolates im NRZ für Systemische Mykosen

Nationales Referenzzentrum für Systemische Mykosen
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universitätsklinikum Göttingen
Kreuzbergring 57
37075 Göttingen

Tel. 0551/395801 / 5806
Fax 0551/ 39 5861
Email: ugross@gwdg.de
mberg@gwdg.de

1. Angaben zum Pilz-Isolat

Labor-Nummer des Einsenders: _____

Datum der Material-Entnahme (TT/MM/JJJJ): _____

Herkunft des Isolates (Entnahme-Ort bzw. Art des Materials):

Blut ☐ Liquor ☐ ZVK-Spitze ☐ Sonstiges ☐ _____

Fragestellung: _____

voraussichtliche Pilzart: _____

2. Angaben zum Patienten (verschlüsselt)

Vorname, 2. Buchstabe: _	Nachname, 3. Buchstabe: _	Vom Labor auszufüllen
Geburtsjahr	_ _ _ _	Patientencode:
Geschlecht	männlich ☐ weiblich ☐	
Wohnort (PLZ, erste 3 Ziffern oder Ort)		
stationär ☐		ambulant ☐
Krankenhaus:		Behandelnder Arzt:

Klinische Diagnose / Verdacht (mehrere ankreuzen, wenn zutreffend!):

Sepsis	☐	Malignom/Hämatol. Erkrankung	☐
Meningitis	☐	HIV-Infektion/AIDS	☐
Pneumonie	☐	Immunsuppressive Therapie	☐
Neutropenie	☐	Vorausgegangene Pilzbesiedlung	☐
Transplantation, Knochenmark	☐	Frühere invasive Mykose	☐
Transplantation, solides Organ	☐	Unter antimykotischer Therapie	☐
Intensivmedizinischer Aufenthalt	☐	andere Erkrankung (bitte spezifizieren)	☐

_____

Ort _____ **Datum** _____

Unterschrift _____

Name u. Telefonnummer der Kontaktperson im Labor für Rückfragen

Nur f. interne Zwecke d. NRZ:
Labor-Nr:
Eingangsdatum

Abb. 2.1: Der Begleitschein. Inhalt waren neben den - unter 1. aufgeführten - Angaben zum Isolat auch epidemiologische und klinische Daten zum Patienten (2.).

2.6 Herkunft der Referenzstämme

In jeder Testreihe wurden kontinuierlich Qualitätskontrollen mitgeführt. Dazu wurden die folgenden zwei Referenzstämme *C. krusei ATCC 6258* und *C. parapsilosis ATCC 22019* mit publizierten MHK-Bereichen (Barry et al. 2000**)** ausgewählt. Beide Stämme sind der *American Type Culture Collection* (ATCC, 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia, USA) entnommen und werden auch im Institut der Medizinischen Mikrobiologie in Göttingen im Cryobank®-Stammhaltungssystem bereitgehalten.

3. Methoden

3.1 Kultur-/Nährmedien und Suspensionslösungen

3.1.1 Physiologische Kochsalzlösung

Die zur Herstellung der Hefesuspensionen benötigte physiologische Kochsalzlösung wurde von den Mitarbeitern der Nährbodenküche des Institutes bereitgestellt. Für einen Liter 0,9%-iger Kochsalzlösung wurden 9,0 g Natriumchlorid in 1,0 l Aqua dest. gelöst. Nach Abfüllung in 500-ml-Glasflaschen erfolgte die Sterilisation durch 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C. Bis zum Verbrauch lagerten die Flaschen bei 8°C im Kühlraum des Institutes.

3.1.2 Sabouraud-Dextrose-Agar

Der zur Kultur der Isolate benötigte Sabouraud-Dextrose-Agar wurde von den Mitarbeitern der Nährbodenküche des Institutes hergestellt. Zur Herstellung eines Liters dieses Selektivmediums wurden folgende Zutaten eingesetzt: 10,0 g Fleisch- und Caseinpepton, 15,0 g Agar, 40,0 g Glukose-Monohydrat sowie 50,0 mg Chloramphenicol. Dieses Medium wurde in 1,0 l Aqua dest. suspendiert und bei Raumtemperatur auf einen pH-Wert von 5,6 ± 0,2 eingestellt. Im Anschluss wurde diese Lösung für eine Dauer von 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Der flüssige Agar wurde in Petrischalen (jeweils ca. 15-20 ml) gegossen. Diese wurden bis zur Aushärtung in einem Sterilarbeitsraum gelagert. Bis zum Verbrauch lagerten die verpackten Agarplatten bei 8°C im Kühlraum des Instituts.

3.1.3 RPMI-1640-Zellkulturmedium

Die Herstellung des RPMI-Mediums zur Mikrodilutionstestung erfolgte – abgesehen von folgender Modifikation - gemäß der Leitlinie des CLSI: Die Glukosekonzentration wurde verdoppelt auf 4 g/l, da dies mit einem nachweislich besseren 24-Stunden-Wachstum ohne Einfluss auf den Absolutwert der MHK einherging (Kumm 2008). Dies ermöglichte eine beschleunigte Empfindlichkeitsbestimmung nach nur 24-stündiger Inkubationszeit.

Für die Herstellung eines Liters wurden daher 10,43 g RPMI-1640-Trockenmedium (mit L-Glutamin und 2,0 g Glukose, bikarbonatfrei), 34,52 g MOPS mit einer Extradosis von 2,0 g Glukose (entsprechend dem 0,4%-igen Glukoseansatz) in 900 ml Aqua bidest. gelöst und im Anschluss mit Hilfe 1-molarer Natriumhydroxid-Lösung bei 25°C auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt. Durch den weiteren Zusatz von destilliertem Wasser wurde die Lösung auf ein Volumen von einem Liter aufgefüllt. Abschließend erfolgte eine Sterilfiltration mit einem Filter der Porengröße 22 µm und die Abfüllung in sterile, autoklavierte Glasflaschen der Volumina 200, 500 und 1000 ml. Bis zum Verbrauch wurde das Medium bei 8°C im Kühlschrank des Zellkulturlabors gelagert.

3.2 Stammhaltung

Alle Hefeisolate wurden mit Hilfe des Cryobank™-Systems archiviert. Dieses Stammhaltungssystem ermöglicht eine platzsparende Langzeitlagerung verschiedenster Mikroorganismen.

Die Kulturen werden hierzu an chemisch behandelte Glaskügelchen gebunden und können anschließend in speziellen Kunststoffröhrchen bei Temperaturen bis -70°C gelagert werden.

Die Archivierung der Hefen erfolgte entsprechend des Protokolls der Herstellerfirma. Hierzu wurden die Isolate über 24 bzw. 48 Stunden bei 35°C auf Sabouraud-Dextrose-Agarplatten bebrütet. Anschließend wurden einige Kolonien der Reinkultur mit einer sterilen Einweg-Impföse in die hypertone Lösung der Cryobank™-Röhrchen eingebracht und eine Suspension einer Mc-Farland-Dichte von etwa 3-4 hergestellt. Nach Verschluss der Röhrchen wurden diese vorsichtig geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung der Zellen im Kryomedium zu erreichen. Zuletzt wurde das überschüssige Medium abgezogen und verworfen. Die Lagerung der Kulturen erfolgte in Blöcken zu je 64 Röhrchen bei -27°C.

Die Reaktivierung der Hefen erfolgte entsprechend dem Protokoll des Herstellers, basierend auf den Vorgaben der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ). Da hiernach ein Auftauen der Kulturen zu vermeiden ist, erfolgte der Transport der jeweiligen Röhrchen gelagert auf einem Eisbett. Mit Hilfe einer sterilen abgeflammten Impföse wurden einzelne Kügelchen entnommen, auf Sabouraud-Dextrose-Platten ausgestrichen und anschließend über einen Zeitraum von 24 bis maximal 48 Stunden bei 35°C bebrütet.

3.3 Mikrodilutionstest

3.3.1 Inokulum

Die Präparation des Inokulums erfolgte entsprechend der Leitlinie des CLSI (NCCLS 2002). Alle Kulturen wurden hierzu - auf Sabouraud-Dextrose-Agar ausgestrichen - bei 35°C inkubiert. Für die meisten *Candida spp.* betrugen die Inkubationszeiten 24 Stunden. Für *Cryptococcus spp.*, *Saccharomyces spp.* und *C. parapsilosis* verlängerten sich diese, aufgrund verzögerten Wachstums, auf 48 Stunden. Für die Testungen fanden nur Reinkulturen Verwendung.

3.3.1.1 Ausgangssuspension

Für die Herstellung der Ausgangssuspension wurden mit einer sterilen Einwegimpföse jeweils fünf Einzelkolonien von etwa einem Millimeter Durchmesser abgenommen und in sterile 0,85%-ige Kochsalzlösung eingebracht. Die Suspension wurde dann ca. 15 Sekunden auf dem Vortex durchmischt. Mit einem McFarland-Densitometer erfolgte darauf die photometrische Bestimmung der Trübung bei 530 nm. Durch Zugabe von zusätzlichen Hefezellen oder weiterer Verdünnung mit steriler Kochsalzlösung erfolgte die speziesabhängige Einstellung auf die für den Test benötigte Ausgangskonzentration zwischen 1×10^6 und 5×10^6 Zellen pro Milliliter Ausgangssuspension. Diese wurde für die meisten *Candida spp.* mit einem Wert von 1,0 des sogenannten McFarland-Standards erreicht. Eine Ausnahme bildete *C. glabrata*: Kumm bestimmte für diese Spezies eine optimale Mc-Farland-Trübung von 0,3. Diese vereinigt einen maximalen Anstieg der Wachstumskurve mit einem minimalem „Trailing“-Wachstum (Kumm 2008).

3.3.1.2 Endverdünnung

Die Ausgangssuspension wurde zunächst durch Zusatz steriler Kochsalzlösung im Verhältnis 1:100 und anschließend mit RPMI-1640-Medium im Verhältnis von 1:20 weiter verdünnt. Resultierend aus dieser zweitausendfachen Verdünnung lag die endgültige Zellzahl in einem Bereich zwischen $5{,}0 \times 10^2$ und $2{,}5 \times 10^3$ Zellen pro Milliliter.

3.3.1.3 Qualitätskontrolle

Zur Kontrolle der Konstanz der Hefezelleinsaat erfolgte stichprobenartig eine Qualitätskontrolle. Hierzu wurden 1:1000 Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Davon wurden jeweils 50 µl entnommen und auf zwei getrennten Sabouraud-Dextrose-Agarplatten ausgestrichen. Die Agarplatten wurden im Brutraum des Institutes bei 35°C für 24 bzw. 48 Stunden inkubiert. Die mittlere Anzahl der koloniebildenden Einheiten entsprach nun der mittleren Anzahl der ursprünglich im Inokulum suspendierten Hefezellen. Diese Anzahl - multipliziert mit dem Faktor 20 - entsprach der vom CLSI empfohlenen Einsaat von 1 x 10^6/ml bis 5 x 10^6/ml.

3.3.2 Antimykotika-Stammlösungen

Bei der Auswahl der Antimykotika für die Resistenztestungen wurden Wirkstoffe unterschiedlicher Substanzgruppen und Wirkprinzipien berücksichtigt.
Zum Einsatz kamen der „klassische“ Porenbildner Amphotericin B, der DNA-Synthese-Hemmer Flucytosin sowie Caspofungin, ein Zellwand-Synthese-Inhibitor.
Aufgrund zunehmender klinischer Relevanz sind drei Wirkstoffe aus der Gruppe der Ergosterol-Synthese-Hemmer getestet worden: Fluconazol, Itraconazol und Voriconazol.
Die Herstellung der Stammlösungen erfolgte aus den jeweiligen Trockensubstanzen gemäß dem CLSI-Standard M27-A.
Alle hergestellten Stammlösungen konnten bei -27°C mindestens drei Monate ohne Wirkverlust eingelagert werden.

3.3.2.1 Amphotericin B, Itraconazol, Voriconazol

Für anschließende Plattenbeschichtungen sind für diese Antimykotika Wirkstoffkonzentrationen von 1600 µg/ml nötig. So wurden jeweils 4,8 mg Reinsubstanz in 3 ml DMSO gelöst. Da die angegebenen Substanzen aufgrund lipophiler Grundeigenschaften zur Adhäsion an Kunststoffoberflächen neigen, erfolgte deren Lagerung ausschließlich in Glasgefäßen.

3.3.2.2 Caspofungin

Die Caspofungin-Stammlösung hatte ebenfalls eine Wirkstoffkonzentration von 1600 µg/ml. Allerdings fand hier als Lösungsmittel Aqua bidest. Einsatz. Da dieses Echinocandin zur Photosensibilität neigt, erfolgte die Lagerung in Aluminiumfolie-umhüllten Gefäßen.

3.3.2.3 Fluconazol

Für diese Stammlösung wurden 25,6 mg Reinsubstanz in 1 ml Methanol gelöst. Somit lag die Konzentration der Stammlösung bei 25.600 µg/ml. Laut CLSI-Richtlinie sollte hier Aqua bidest. als Lösungsmittel zum Einsatz kommen. Aus Gründen der besseren Löslichkeit (Schmalreck und Fegeler 1996) erschien jedoch Methanol als Lösungsvermittler geeigneter.

3.3.2.4 Flucytosin

Die Konzentration des Pyrimidins in der Stammlösung entsprach 12.800 µg/ml. Hierzu wurden 12,8 mg Reinsubstanz in 1 ml Aqua bidest. gelöst.

3.3.3 Herstellung der Verdünnungsreihen

Um das Risiko für Verunreinigungen im Vorbereitungsprozess des Tests zu minimieren, erfolgten alle nun folgenden Maßnahmen unter sterilen Arbeitsbedingungen.
Die Herstellung der Konzentrationsstufen der verschiedenen Antimykotikalösungen erfolgte gemäß der Leitlinie M27-A des CLSI.
Eine Verdünnungsreihe bestand aus zehn Verdünnungsstufen, wobei sich die Antimykotika-Konzentration pro Stufe jeweils halbierte. Um eine zunehmende Verdünnung nicht mit steigender Ungenauigkeit - aufgrund nicht mehr pipettierbarer Mengen - erkaufen zu müssen, wurden ab der vierten Verdünnungsstufe, Vorverdünnungen hergestellt. Gemäß M27-A sollten aus einer Stammlösung maximal zwei direkte Verdünnungen hergestellt werden.
Die Stammlösungen wurden, wie in 3.3.2 beschrieben, hergestellt. Hierbei wurde nicht nur die vorgeschriebene Trockenmasse der Antimykotika, sondern auch der jeweils empfohlene Lösungsvermittler berücksichtigt.

Die Beschickung einer 96-Loch-Mikrotiter-Platte erforderte ca. 2 ml Antimykotika-lösung pro Konzentrationsstufe.
Da die Herstellung einzelner Platten zur Durchführung größerer Testreihen nicht rentabel war, wurden größere Chargen zu jeweils 20 Platten hergestellt, im Anschluss mit Chargennummern versehen und unter Bedingungen bei -27°C eingefroren. Am Testtag wurden diese dann bei Raumtemperatur unter einem Abzug ca. zwei Stunden vollständig aufgetaut und mit dem frisch angesetzten Inokulum beimpft.

3.3.3.1 Fluconazol-Verdünnungsreihe

Fluconazol lag als Stammlösung mit einer Konzentration von 25.600 µg/ml vor.
Für die erste Konzentrationsstufe (256 µg/ml) wurde die Stammlösung 1:100 mit RPMI-1640-Medium verdünnt.
Für die zweite Konzentrationsstufe (128 µg/ml) wurde die Stammlösung 1:200 mit RPMI-1640-Medium verdünnt.
Für die dritte Konzentrationsstufe (64 µg/ml) wurde in einem getrennten Ansatz ein Teil der Stammlösung 1:2 mit Aqua bidest. vorverdünnt. Diese Vorverdünnung wurde darauf im Verhältnis 1:200 mit RPMI-1640-Medium gemischt.
Für die vierte Konzentrationsstufe (32 µg/ml) wurde in einem getrennten Ansatz ein Teil der Stammlösung 1:4 mit Aqua bidest. vorverdünnt und diese dann im Verhältnis 1:200 mit RPMI-1640-Medium weiter verdünnt.
Für die fünfte Konzentrationsstufe (16 µg/ml) wurde in einem getrennten Ansatz ein Teil der Stammlösung 1:8 mit Aqua bidest. vorverdünnt und diese dann im Verhältnis 1:200 mit RPMI-1640-Medium gemischt. Diese Verdünnungsstufe - entsprechend im Anschluss Stammlösung II genannt - stellt zugleich die Grundlage für die folgenden Verdünnungsstufen dar.
Für die sechste Konzentrationsstufe (8 µg/ml) wurde nun die Vorverdünnung der fünften Stufe (=Stammlösung II) 1:2 mit Aqua bidest. vorverdünnt und anschließend 1:200 mit RPMI-1640-Medium vermischt.
Für die siebente Konzentrationsstufe (4 µg/ml) wurde die Vorverdünnung der fünften Stufe (=Stammlösung II) 1:4 mit Aqua bidest. vorverdünnt und anschließend 1:200 mit RPMI-1640-Medium vermischt.

Für die achte Konzentrationsstufe (2 µg/ml) wurde nun die Vorverdünnung der fünften Stufe (=Stammlösung II) 1:8 mit Aqua bidest. vorverdünnt und anschließend 1:200 mit RPMI-1640-Medium vermischt. Diese Verdünnung bildete Stammlösung III.
Für die neunte Konzentrationsstufe (1 µg/ml) wurde die Vorverdünnung der achten Stufe (=Stammlösung III) zunächst 1:2 mit Aqua bidest. vorverdünnt und anschließend 1:200 mit RPMI-1640-Medium gemischt.
Für die zehnte und letzte Konzentrationsstufe (0,5 µg/ml) wurde nun noch einmal die Vorverdünnung der achten Stufe (=Stammlösung III) 1:4 mit Aqua bidest. vorverdünnt und zum Abschluss wieder im Verhältnis 1:200 mit RPMI-1640-Medium gemischt.
Zur Testung wurden alle Antimykotika-Konzentrationen nach Zugabe der Hefesuspension im Verhältnis 1:1 halbiert, so dass sich die Endkonzentrationen nunmehr von 0,25 µg/ml bis 128 µg/ml erstreckten.

3.3.3.2 Amphotericin B-, Itraconazol- und Voriconazol-Verdünnungsreihe

Die Herstellung der Verdünnungsreihen dieser drei Antimykotika erfolgte ähnlich dem Schema für Fluconazol (siehe Abschnitt 3.3.3.1). Als Lösungsvermittler wurde jedoch auch in diesem Arbeitsschritt DMSO eingesetzt.
Nach Zugabe der Hefesuspension im Verhältnis 1:1 lagen die jeweiligen Antimykotika-Endkonzentrationen zwischen 0,0313 µg/ml und 16 µg/ml.

3.3.3.3 Caspofungin-Verdünnungsreihe

Die Herstellung der Verdünnungsreihe erfolgte mit denselben Mischungsverhältnissen, wie dies für Amphotericin B, Itraconazol und Voriconazol in 3.3.3.2 bereits beschrieben wurde. Als Lösungsvermittler kam hier jedoch Aqua bidest. zum Einsatz. Aufgrund der ausgeprägten Photosensibilität von Caspofungin erfolgten auch diese Arbeitsschritte unter konsequentem Lichtschutz.
Nach Zugabe der Hefesuspension im Verhältnis 1:1 lagen die Caspofungin-Endkonzentrationen hier zwischen 0,0313 µg/ml und 16 µg/ml.

3.3.3.4 Flucytosin-Verdünnungsreihe

Hier entsprachen die Verdünnungsschritte wieder denen von Fluconazol. Auch hier wurde Aqua bidest. als Lösungsvermittler eingesetzt. Bei abweichender Ausgangskonzentration der Stammlösung von 12.800 µg/ml lagen hier die Flucytosin-

Endkonzentrationen - nach Zugabe der Hefesuspension im Verhältnis von 1:1 - im Bereich von 0,125 µg/ml bis 64 µg/ml.

3.3.4 Beschickung der Mikrotestplatten

Um bessere Ableseergebnisse zu erhalten und diese im Anschluss mit vorhergehenden Arbeiten vergleichen zu können, wurden abweichend von den CLSI-Leitlinien Flachbodenplatten eingesetzt. Eine Mikrotestplatte bestand aus acht Reihen mit je 12 Positionen. Jeder Stamm wurde im Doppelansatz getestet.
Die Anordnung der zwölf Spalten sah wie folgt aus: In der ersten Spalte befanden sich die Positionen mit der Wachstumskontrolle. In Spalte zwei bis elf waren in absteigender Konzentration die Verdünnungsreihen der einzelnen Antimykotika aufgetragen. Spalte zwölf diente als Sterilkontrolle.

3.3.4.1 Beschickung der Mikrotestplatten mit der Antimykotika-Verdünnungsreihe

Die Beschickung der Mikrotestplatten erfolgte mit einer Varipette® mit sterilen 5-ml-Varitips® an einem Sterilarbeitsplatz. Zuerst erfolgte die Beschickung der Wachstumskontroll- und der Sterilkontrollspalte. Hierzu wurden 200 µl RPMI-1640-Medium in die Positionen der Spalte 12 und 100 µl in die Vertiefungen der Spalte eins pipettiert. Danach erfolgte die Beschickung der Spalten elf bis zwei mit der jeweils erstellten Antimykotika-Verdünnungsreihe in aufsteigender Konzentration. Die Beschickung erfolgte stets in der Größenordnung von 20 Platten. Platten einer Charge wurden, mit einer Chargennummer versehen, in Türmen zu je fünf Platten übereinander gelagert, mit einem Deckel versehen und abgepackt. Es folgte die Lagerung bei -27°C im Gefrierschrank des Institutes.

Tabelle 3.1: Verteilung der Konzentrationsstufen der einzelnen Antimykotika sowie von Steril- und Wachstumskontrolle vor Inokulation auf die 12 verfügbaren Plattenspalten. In der Spalte „Wachstumskontrolle“ und „Sterilkontrolle“ befand sich keine antimikrobiell wirksame Substanz.

Spalten / Zeilen	1	2 [µg/ml]	3 [µg/ml]	4 [µg/ml]	5 [µg/ml]	6 [µg/ml]	7 [µg/ml]	8 [µg/ml]	9 [µg/ml]	10 [µg/ml]	11 [µg/ml]	12
Amphotericin	Wachstumskontrolle	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	Sterilkontrolle
Flucytosin		128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	
Caspofungin		32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	
Fluconazol		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	
Voriconazol		32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	
Itraconazol		32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	

3.3.4.2 Beimpfung der Mikrotestplatten mit den Pilz-Isolaten

Im zweiten Arbeitsgang erfolgte das Beimpfen der Mikrotestplatten mit den zu testenden Isolaten. Dazu wurde die benötigte Plattenmenge der einzelnen Antimykotika über ca. zwei Stunden bei Raumtemperatur vollständig aufgetaut. Nun wurden jeweils zwei übereinander liegende Reihen parallel mit einem Isolat beimpft. Das Inokulum wurde zuerst gründlich durchmischt. Mit einer Pipette wurde dann zunächst die Position eins mit 100 µl beimpft und anschließend aufsteigend die Position elf bis zwei. Die Spalte zwölf blieb als Sterilkontrolle unangetastet. Nach Abschluss der Beimpfung befand sich in jeder Position der Mikrotestplatte ein Volumen von 200 µl.

Tabelle 3.2: Endkonzentrationen der einzelnen Antimykotika nach Beimpfung der Mikrotestplatte. Beimpft wurde außerdem die „Wachstumskontrolle“. Die „Sterilkontrolle“ wurde ausgespart.

Spalten / Zeilen	1	2 [µg/ml]	3 [µg/ml]	4 [µg/ml]	5 [µg/ml]	6 [µg/ml]	7 [µg/ml]	8 [µg/ml]	9 [µg/ml]	10 [µg/ml]	11 [µg/ml]	12
Amphotericin	Wachstumskontrolle	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0313	Sterilkontrolle
Flucytosin		64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	
Caspofungin		16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0313	
Fluconazol		128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	
Voriconazol		16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0313	
Itraconazol		16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0313	

3.3.5 Inkubation

Die beimpften Platten wurden nun in Türmen zu je sechs Platten gestapelt und mit Deckeln versehen. Jeweils zwei dieser Türme fanden nun in einem zuvor gereinigten und desinfizierten Inkubationskasten Platz. Zum Schutz vor Austrocknung der Platten befand sich in den Kästen eine Atmosphäre erhöhter Luftfeuchte. Die Kästen wurden anschließend bei 35°C in einem temperaturkontrollierten Brutschrank für mindestens 24, maximal jedoch 48 Stunden bebrütet.

3.3.6 Ablesung der Ergebnisse

Das Ablesen der Mikrotestplatten erfolgte erstmalig 24 Stunden nach Inkubationsbeginn. Die initiale makroskopische Betrachtung der Platten mittels Ablesespiegel, erlaubte eine erste Einschätzung des Testergebnisses, wie auch bereits eine semiquantitative Abschätzung der minimalen Hemmkonzentrationen. Die Wachstumsintensität wurde in folgende Kategorien eingeteilt und in dafür vorgefertigte Ergebnisbögen eingetragen: „nicht sichtbares Wachstum“, „schwaches Wachstum“, „mäßiges Wachstum“ und „deutlich sichtbares, starkes Wachstum“. Mit Hilfe dieser „manuellen“, makroskopischen Auswertung konnten außerdem „Kontaminationen“ detektiert und gekennzeichnet werden.
Für die später folgende Auswertung mittels Photometrie bot die makroskopische Dokumentation die Möglichkeit, einzelne Extinktionswerte auf ihre Plausibilität hin zu überprüfen und diente somit einer weiteren, direkten Qualitätskontrolle.
Die Ermittlung der endgültigen minimalen Hemmkonzentrationen erfolgte auf der Basis von Trübungsmessungen bei einer Wellenlänge von 630 nm. Hierzu wurde ein halbautomatisches Mikrotestplatten-Spektrophotometer eingesetzt. Die Spalte der Sterilkontrolle diente dem Nullabgleich.
Um die Genauigkeit der Messungen zu gewährleisten, sollten alle Felder möglichst homogene Zellsuspensionen enthalten. Durch mehrmaliges Durchmischen der Felder mit einer Achtkanal-Pipette und einem Pipettiervolumen von 200 µl je Kanal konnte diese Homogenität hergestellt werden. Da meist eine Inkubation für weitere 24 Stunden folgte, war hierbei darauf zu achten, dass die Antimykotika-Konzentrationen in den einzelnen Positionen konstant blieben. Dies gelang durch häufigen Wechsel der Pipettenspitzen. Da ausgeprägte Bläschenbildung im Strahlengang zu falsch erhöhten Extinktionswerten führt, war es außerdem das Ziel,

im Durchmischungsprozess diese Bläschen suffizient zu entfernen. Danach folgte die automatische Trübungsmessung und eine Dokumentation durch Ausdruck der Matrizen.
Diese Matrizen wurden nun mit den makroskopischen Ergebnisbögen abgeglichen. Bei plausiblen Ableseergebnissen konnte mit der endgültigen Auswertung begonnen werden.
Aus den Trübungswerten des Doppelansatzes wurde der Mittelwert errechnet und dieser mit dem entsprechenden Mittelwert der Wachstumskontrolle abgeglichen. Hieraus konnte die minimale Hemmkonzentration für dieses Isolat bestimmt werden.
Die Festlegung der Ablesegrenzen für die MHK der einzelnen Antimykotika entschied sich in Abhängigkeit von ihrer fungiziden bzw. fungistatischen Potenz. So wurde für Amphotericin B die MHK-100, also die Konzentration an Amphotericin B, bei der kein Wachstum mehr zu verzeichnen war, als Ablesegrenze festgelegt. Für Caspofungin und Flucytosin wurde die MHK-85, für die Azole Fluconazol, Voriconazol und Itraconazol eine minimale Hemmkonzentration von 50% übernommen. Dies war diejenige Azolkonzentration, die das Wachstum des eingesetzten Pilzes um mindestens die Hälfte zur Wachstumskontrolle verminderte und/oder bei der gleichzeitig ein starker Abfall des Wachstums zu verzeichnen war.

3.3.7 Interpretation der Ergebnisse

1) Jedem Isolat konnte nun für jedes Antimykotikum eine klare MHK zugewiesen werden. Dies ermöglichte, basierend auf den sogenannten vom CLSI empfohlenen Grenzwerten, die Zuordnung der Isolate zu den Empfindlichkeitsgruppen „sensibel“, „dosisabhängig sensibel“ bzw. „intermediär“ und „resistent“.
2) Für epidemiologische Fragestellungen wurden darüber hinaus die 50%- und 90%-Quantile (MHK_{50} bzw. MHK_{90}) für die jeweiligen Antimykotika aus der Gesamtheit der MHK berechnet. Diese beiden definierten minimalen Hemmkonzentrationen stellen wichtige Kenngrößen der Mikrobiologie dar und repräsentieren die niedrigsten Antimykotikakonzentrationen, bei denen das Wachstum von 50% bzw. 90% der Pilze gehemmt wird.

3.3.7.1 Fluconazol

Anhand der festgelegten Grenzwerte und den quantitativ bestimmten minimalen Hemmkonzentrationen konnten die Stämme in 3 Empfindlichkeitsgruppen eingeteilt werden: Stämme, deren MHK-50 kleiner oder gleich 8 µg/ml war, wurden in der Gruppe „sensibel“ (S) eingestuft. Eine „dosisabhängige Sensibilität“ (S-DD) bestand zwischen 16 µg/ml und 32 µg/ml. Alle MHK-50 größer als 32 µg/ml waren somit als „resistent“ einzustufen.

3.3.7.2 Amphotericin B

Die Einteilung der Empfindlichkeit erfolgte anhand der festgelegten Grenzwerte für die MHK-100. Stämme mit Werten kleiner oder gleich 1 µg/ml wurden der Gruppe „sensibel“, solche mit Werten über 1 µg/ml der Gruppe „resistent“ zugeordnet.

3.3.7.3 Itraconazol

Für Itraconazol gab es zwei Grenzwerte, die eine Zuordnung zu 3 Empfindlichkeitsgruppen ermöglichte. Als „sensibel“ waren Stämme zu betrachten, deren MHK-50 kleiner oder gleich 0,125 µg/ml waren. „Dosisabhänig sensible“ Stämme lagen mit ihrer MHK-50 zwischen 0,25 µg/ml und 0,5 µg/ml. „Resistente“ Stämme zeigten 50%-ige minimale Hemmkonzentrationen über 0,5 µg/ml.

3.3.7.4 Voriconazol

Für Voriconazol wurden vom CLSI zwei Grenzwerte (Pfaller et al. 2006) festgelegt. Stämme deren MHK-50 bei 1 µg/ml oder darunter lag, waren als „sensibel“ einzustufen. „Dosisabhängig sensible“ Stämme wiesen eine 50%-ige minimale Hemmkonzentration von 2 µg/ml auf. „Resistente“ Stämme lagen in der MHK über 2 µg/ml.

3.3.7.5 Caspofungin

Für dieses Antimykotikum veröffentlichte die CLSI erstmalig Grenzwerte im Jahre 2008 (Pfaller et al. 2008) Danach wurden alle Stämme, deren MHK-85 bei 2 µg/ml oder darunter lagen, als „sensibel“ eingestuft. Stämme, die höhere Hemmkonzentrationsstufen boten, waren „resistent“. Ein dosisabhängiger Bereich war zu diesem Zeitpunkt nicht vorgesehen.

In den vergangenen Jahren wurde der Standard für alle Echinocandine (Pfaller et al. 2011) noch einmal überarbeitet und neue – nun speziesabhängige – Grenzkonzentrationen sowie eine „intermediäre“ Empfindlichkeitsstufe eingeführt: So lag für *C. albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* die Caspofungin-Grenzkonzentration für „sensibel“ nunmehr bei ≤ 2 µg/ml. Lag die MHK-85 dieser Stämme bei 0,5 µg/ml, so waren sie als „intermediär“ und bei allen Konzentrationen ≥ 1 µg/ml als „resistent“ einzustufen. Die jeweiligen Konzentrationsbereichsgrenzen für *C. glabrata* wurden bei ≤ 0,06 µg/ml („sensibel“); 0,12 µg/ml („intermediär“) und ≥ 0,25 µg/ml („resistent“) platziert. Auch für *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii* erarbeitete die CLSI neue Bereichsgrenzen: ≤ 2 µg/ml („sensibel“); 4 µg/ml („intermediär“) und ≥ 8 µg/ml („resistent“). Für alle anderen Spezies wurden keine neuen Grenzwerte festgesetzt. In der vorliegenden Arbeit fanden daher für diese weiterhin die empfohlenen Grenzen von 2008 Verwendung.

3.3.7.6 Flucytosin

Bei Flucytosin sind vom CLSI Grenzwerte festgelegt worden. „Sensible“ Stämme hatten ihre MHK-85 bei ≤ 4 µg/ml, „intermediäre“ Stämme lagen zwischen 8 µg/ml und 16 µg/ml und „resistente“ Stämme bei ≥ 32 µg/m.

Tabelle 3.3: Konzentrations-Grenzwerte des sensiblen („S“), dosisabhängig sensiblen („S-DD“) bzw. intermediären („I“) und resistenten („R“) Bereichs für die einzelnen Antimykotika. Für Amphotericin B und Caspofungin beschränkte sich die Einteilung auf sensibel und resistent.

Antimykotikum	Spezies	S [µg/ml]	S-DD/I [µg/ml]	R [µg/ml]
Amphotericin B	alle *spp.*	≤ 1		>1
Flucytosin	alle *spp.*	≤ 4	8-16	≥ 32
Fluconazol	alle *spp.*	≤ 8	16 - 32	>32
Itraconazol	alle *spp.*	≤ 0,125	0,25 – 0,5	>0,5
Voriconazol	alle *spp.*	≤ 1	2	>2
Caspofungin	*C. albicans, C. tropicalis, C.krusei*	≤ 0,25	0,5	≥ 1
	C. glabrata	≤ 0,0625	0,125	≥ 0,25
	C. parapsilosis, C. guilliermondii	≤ 2	4	≥ 8
	sonstige *spp.*	≤ 2		> 2

3.3.8 Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle erfolgte kontinuierlich wie auch in stichprobenartiger Form.
Zur systematischen kontinuierlichen Kontrolle wurden zu jeder Testserie stets zwei Kontrollstämme mitgeführt. Hierzu wurden *C. krusei ATCC 6258* und *C. parapsilosis ATCC 22019* eingesetzt. Da für diese Stämme international gültige MHK-Referenzbereiche definiert sind (Tabelle 3.4), konnte mit ihrer Hilfe die Güte der einzelnen Testreihen überprüft werden. Lagen die MHK hierbei außerhalb des festgeschriebenen Bereiches, so wurde die gesamte Testreihe, mit ebenfalls neuer Plattencharge, wiederholt.
Eine weitere kontinuierliche Kontrolle bot der Doppelansatz. Jeder Stamm wurde hierzu in zwei Mikrotestplatten-Zeilen inokuliert, die Extinktionswerte gemessen und bei Abweichungen unter 5% gemittelt. Hieraus konnte dann die MHK eindeutig bestimmt werden. Wichen die zwei Extinktionen des Ansatzes über 5% ab, so wurde für diesen Stamm ein erneuter Test durchgeführt.
Ein weiteres wichtiges zusätzliches Element der Qualitätssicherung stellte die makroskopische Beurteilung des Wachstums dar. Mit Hilfe eines Spiegels zur Testplattenablesung erfolgte nach 24 und 48 Stunden, unmittelbar vor der photometrischen Ablesung, eine Vorbeurteilung und Dokumentation des Wachstums. Hier konnten bereits eindeutige MHK bestimmt, aber auch Verunreinigungen verifiziert werden. Auf diese Weise bestand ein weiteres Automaten unabhängiges Kontrollsystem zum systematischen Abgleich und Fehlerausschluss. Verunreinigte Kontrollreihen wurden ausnahmslos wiederholt.
Eine Prüfung der absoluten Zellzahlen des Inokulums erfolgte in stichprobenartiger Form. Somit war auch ein solcher Fehler, der in der Folge exponentielle Auswirkungen gehabt hätte, kontrollierbar.
Die oben genannten Maßnahmen gewährleisteten eine allgemeine Reproduzier- und Vergleichbarkeit der Testergebnisse.

Tabelle 3.4: Referenzbereiche der verwendeten Referenzstämme. Beide Stämme wurden bei jeder Testcharge mitgeführt. Lag ihre Ablesegrenze außerhalb des angegebenen Bereiches wurde der gesamte Ansatz verworfen und wiederholt.

	Candida krusei ATCC 6258		*Candida parapsilosis ATCC 22019*	
	24 h [µg/ml]	48 h [µg/ml]	24 h [µg/ml]	48 h [µg/ml]
Amphotericin B	0,5 – 2,0	1,0 – 4,0	0,25 – 2,0	0,5 – 4,0
Flucytosin	4,0 – 16	8,0 – 32	0,06 – 0,25	0,12 – 0,5
Fluconazol	8,0 – 64	16 – 128	0,5 – 4,0	1,0 – 4,0
Itraconazol	0,12 – 1,0	0,25 – 1,0	0,12 – 0,5	0,12 – 0,5
Voriconazol	0,06 – 0,5	0,12 – 1,0	0,016 – 0,12	0,03 – 0,25
Caspofungin	0,12 – 1,0	0,25 – 1,0	0,25 – 1,0	0,5 – 4,0

4. Ergebnisse

4.1 Statistische Auswertung der Begleitbögen

Die statistische Auswertung erfolgte auf der Basis der zusammen mit den Isolaten eingesandten Begleitbögen. Diese vom NRZ standardisierten Bögen ermöglichten retrospektiv eine Auswertung hinsichtlich bestimmter Parameter und Risikofaktoren. Zum Zwecke der statistischen Auswertung wurden anonymisierte Bögen eingesetzt.
Insgesamt standen meiner Auswertung 670 Begleitbögen zur Verfügung. Die Grundlage aller materialunabhängiger Auswertungen bildeten jedoch nur 657 Isolate.
Um zufällige Ereignisse auszuschließen, wurde trotz dieser recht großen Stichprobe auf eine eingehendere Beurteilung seltener Candida-Spezies verzichtet.

4.1.1 Entnahmeort

Da ausschließlich IC betrachtet werden sollten, wurden ausschließlich Isolate aus primär sterilen Materialien berücksichtigt. Zwei Begleitbögen enthielten hierzu keine Angabe. Die Verteilung der Einsendungen auf die verschiedenen Entnahmeorte ist in nachfolgender Tabelle 4.1 dargestellt.
Der überwiegende Teil der Isolate (n=454; 68,0%) entstammte Blutkulturen. 95 Isolate (14,2%) fanden sich auf Spitzen zentral-venöser Katheter. 31 (4,6%) bzw. 21 (3,1%) Isolate ließen sich aus Punktaten intraabdomineller Flüssigkeitsansammlungen bzw. dem Pleuraspalt anzüchten. 1,8% (n=12) der Hefeisolate wurden aus Gallenflüssigkeit und jeweils 1,3% (n=9) aus Liquor oder bronchio-alveolärer Lavage erhalten. Unter der Rubrik „Sonstige“ wurden 37 sterile Materialien (5,5%) sehr unterschiedlichen Ursprungs, so z.B. tiefe Organabstriche oder Biopsien, zusammengefasst.

Tabelle 4.1: Entnahmeorte. Absolute (n) und relative Isolate-Häufigkeiten (%) in den verschiedenen Materialien. Mit einem Anteil von 68% wurden am häufigsten Blutkulturen (n=454; 68,0%) eingesandt.

Material	Anzahl (n)	relativer Anteil (%)
Blut	454	68,0
ZVK-Spitzen	95	14,2
Peritonealflüssigkeit/Aszites	31	4,6
Pleurapunktat	21	3,1
Galle	12	1,8
Liquor	9	1,3
BAL	9	1,3
Sonstige	37	5,5
Summe	**668**	

4.1.2 Risikofaktoren

Die nachstehenden Risikofaktoren wurden aus den Angaben zur klinischen (Verdachts-)Diagnose ermittelt. Die Einsender konnten hier zwischen 13 verschiedenen (Verdachts-)Diagnosen wählen, wobei Mehrfachnennungen erlaubt und auch erwünscht waren. Weiterhin bestand die Möglichkeit, andere Diagnosen in einem Extrafeld handschriftlich zu ergänzen.

Führender Risikofaktor für systemische Candidosen (Abbildung 4.1) war der intensivmedizinische Aufenthalt: 41,4% (n=272) der Isolate entstammten intensiv überwachungs- und therapiepflichtigen Patienten. In 245 Fällen (37,3%) lag eine Sepsis vor, die 106 Mal auf einer Intensivstation behandelt wurde. Hämatoonkologische Grunderkrankungen fanden sich in 117, eine Pneumonie in 62 Fällen. Darüber hinaus waren einige seltenere Risikofaktoren, wie z.B. antimykotische Vorbehandlungen und immunologisch supprimierte Patienten nach Transplantationen oder HIV-Infektionen, mit prozentualen Anteilen um 5% oder darunter, registriert worden. In über 63,9% der Fälle konnte kein (n=152) oder maximal ein (n=268) Risikofaktor eruiert werden. Bei 173 Infektionen wurden zwei und bei dem verbliebenen Rest (n=64) bis zu sieben Risikofaktoren gefunden.

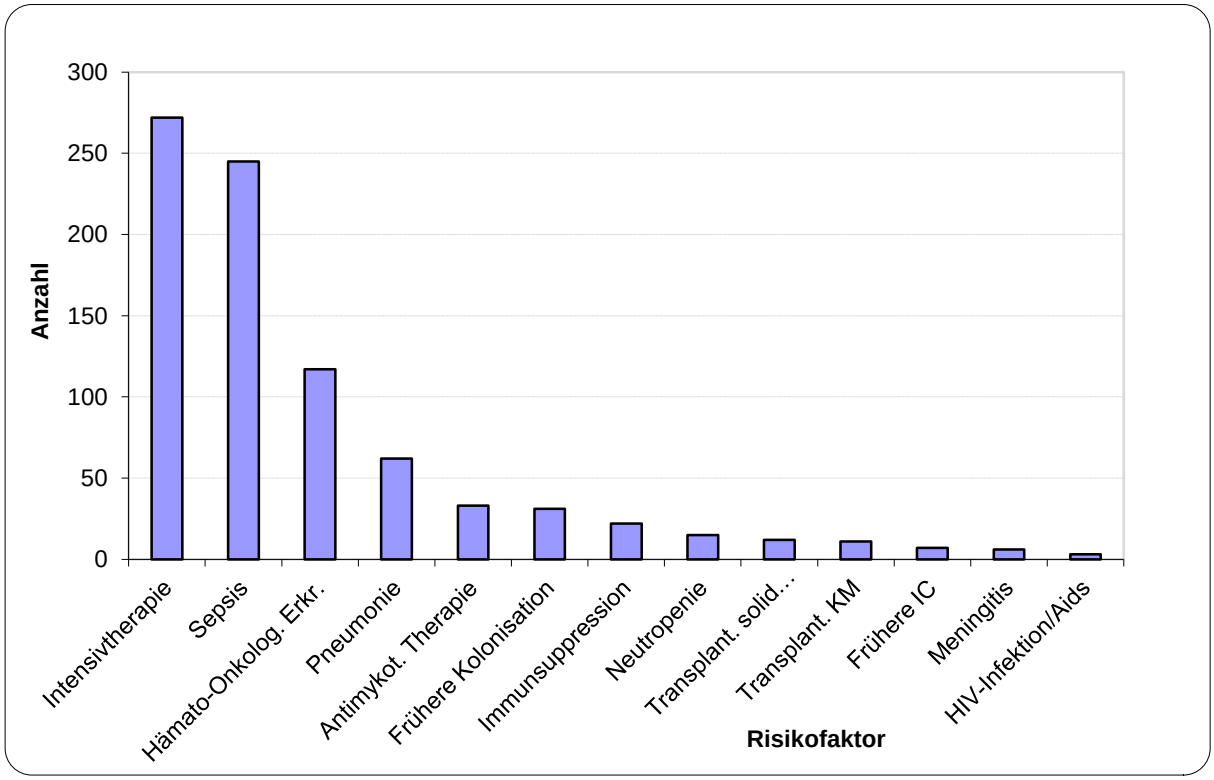

Abb. 4.1: Risikofaktoren. In den Begleitbögen genannte Anzahl (n) der verschiedenen Risikofaktoren. Das Auftreten einer Candidämie war oft an einen intensivmedizinischen Aufenthalt (n=272) gebunden.

4.1.3 Epidemiologische Grundaussagen zur Gesamtstichprobe

Von den insgesamt eingegangenen 670 Isolaten wurde jeweils nur ein Isolat pro Patient für die epidemiologische Auswertung berücksichtigt. Die Doppeleinsendungen in Form verschiedener Entnahmeorte (n=13) desselben Patienten wurden aus dieser Analyse ausgeschlossen. Damit reduzierte sich die Stichprobenmenge auf n=657. Da auf jeweils sechs Begleitbögen die Altersangabe oder die Angabe zum Geschlecht sowie bei drei weiteren sogar beide Angaben fehlten, reduzierten sich die Stichprobenmengen parameterabhängig weiter.

Bei der Darstellung der Altersverteilung auf der Basis von 648 Datensätzen ergab sich eine asymmetrische Glockenkurve. Dies ist in Abbildung 4.2 dargestellt. Das Altersspektrum reichte dabei von unter 1 bis zu 93 Jahren. Die Rechtsverschiebung der Kurve lag in dem zumeist höheren Erkrankungsalter der Patienten begründet. Dieses zeigte sich auch in Hinblick auf das durchschnittliche Erkrankungsalter, welches auf 61,0 Jahre berechnet wurde.

Bezüglich der Geschlechterverteilung - auf der Basis von 642 Datensätzen - zeigte sich ein Verhältnis Männer : Frauen von 1,35 : 1. Das Durchschnittsalter für eine IC lag zudem bei Männern, mit 60,6 Jahren, ein Jahr unter dem der Frauen (Durchschnittsalter 61,6 a).

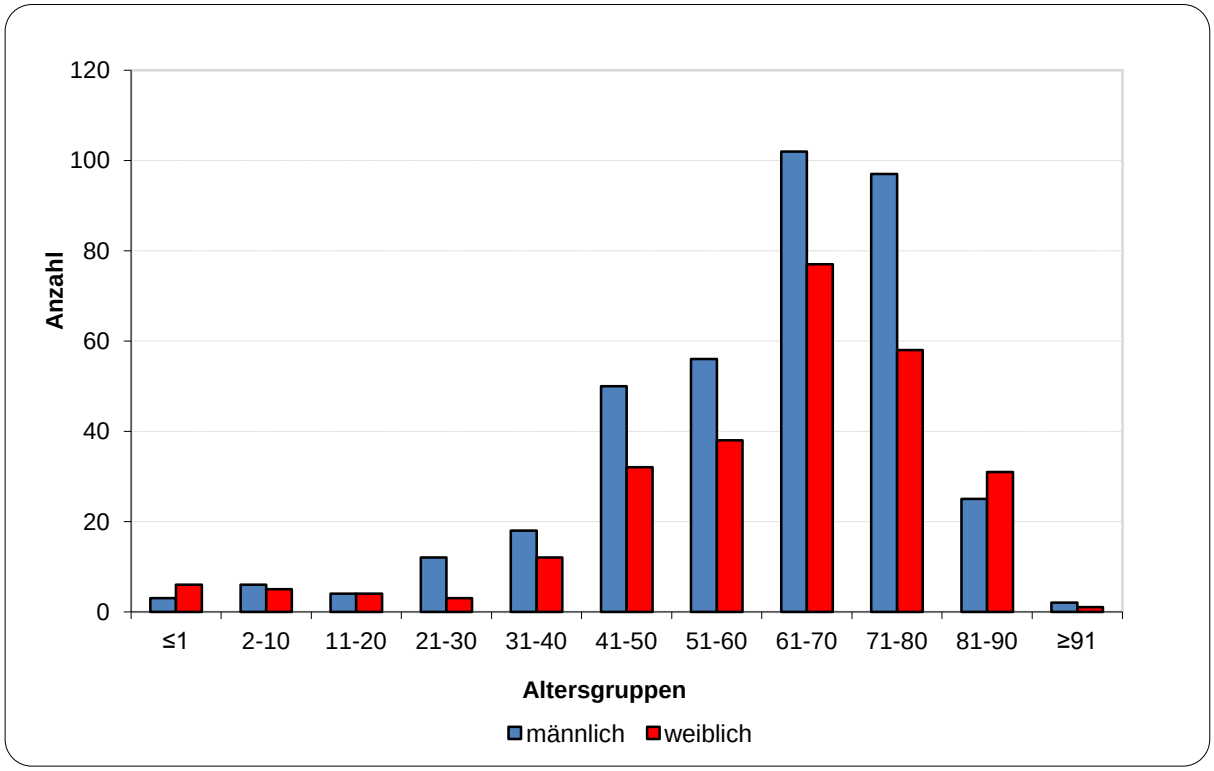

Abb.4.2: Altersprävalenz. Anzahl (n) aufgetretener IC bei Frauen und Männern bezogen auf verschiedene Altersgruppen. IC wurden geschlechterunabhängig in der siebenten und achten Dekade am häufigsten detektiert.

4.1.4 Speziesverteilung in der Gesamtstichprobe

Das Spektrum der Pilzspezies in der Gesamtstichprobe wurde analysiert (Tabelle 4.2.). Die zahlenmäßig führende Spezies war *C. albicans* mit 409 Isolaten (62,3%). Es folgten an zweiter Stelle *C. glabrata* mit 120 Isolaten (18,3%) und an dritter Stelle *C. tropicalis* mit 40 Isolaten (6,1%). Mit 35 (5,3%) und 17 Isolaten (2,6%) lagen *C. parapsilosis* und *C. krusei* auf den Plätzen vier und fünf.

Das Spektrum war jedoch, zuzüglich der verschiedenen selteneren Arten (16 Arten, die zusammmen 5,5% erreichten), deutlich breiter. So wurden auch Spezies wie z.B. *Saccharomyces spp*., *Pichia spp.* und die erst neuerdings den Hefen zugeordnete Art *G. capitatum* aus primär sterilen Materialien nachgewiesen.

Tabelle 4.2: Speziesverteilung in der Gesamtstichprobe und in Blutkulturen. Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten aller isolierten Ascomykota-Spezies. Der Anteil an Non-albicans Candida (NAC) liegt in der Gesamtstichprobe bei 37,7 %.

Spezies	Anzahl (n) in Gesamtstichprobe	rel. Anteil (%) in Gesamtstichprobe	Anzahl (n) in Blutkulturen	rel. Anteil (%) in Blutkulturen
C. albicans	409	62,3	274	60,4
C. glabrata	120	18,3	82	18,1
C. tropicalis	40	6,1	30	6,6
C. parapsilosis	35	5,3	30	6,6
C. krusei	17	2,6	12	2,6
C. guilliermondii	7	1,1	6	1,3
C. lusitaniae	5	0,8	3	0,7
C. norvegensis	3	0,5	1	0,2
C. rugosa	2	0,3	2	0,4
C. kefyr	1	0,2	0	0,0
C. inconspicua	1	0,2	1	0,2
C. famata	1	0,2	1	0,2
C. dubliniensis	1	0,2	0	0,0
S. cerevisiae	5	0,8	5	1,1
S. cariocanus	1	0,2	1	0,2
Cr. neoformans	3	0,5	1	0,2
R. mucilaginosa	2	0,3	2	0,4
G. capitatum	1	0,2	0	0,0
T. asahii	1	0,2	1	0,2
P. americana	1	0,2	1	0,2
P. carsonii	1	0,2	1	0,2
Summe	**657**		**454**	

4.1.5 Speziesverteilung in Abhängigkeit vom Entnahmeort

Bei der Auswertung der Pilzspezies auf der Basis der Materialherkunft waren einige Besonderheiten zu beobachten. Diese sind in Tabelle 4.3 zusammengefasst.

In allen Materialien wurden die Spezies *C. albicans* und *C. glabrata* am häufigsten isoliert. Wesentliche Unterschiede zeigten sich jedoch in der prozentualen Verteilung. So lag beispielsweise der *C. albicans*-Anteil bei ZVK-Spitzen mit 76,8% (n=73) deutlich über dem von Blutkulturen (60,4%), Peritonealflüssigkeit (58,1%) oder Gallenflüssigkeit (41,7%). Auch *C. glabrata* variierte anteilsmäßig stark zwischen den Materialien und reichte von 11,1% im Liquor bis 33,3% in Galle und bronchioalveolärem Lavageat.

Darüber hinaus ergaben sich Unterschiede in der Breite der jeweiligen Erregerspektren. So waren in Blutkulturen neben den drei Hauptvertretern 16 seltenere Spezies mit einem Gesamtanteil von 14,9% vertreten. Auf ZVK-Spitzen war das Spektrum deutlich überschaubarer. Hier fanden sich nur 4 weitere Spezies mit einem zudem um die Hälfte niedrigeren Gesamtanteil von nur 7,4%. In anderen Materialien (z.B. Pleurapunktat) war das Spektrum gänzlich auf die drei Hauptvertreter beschränkt.

Darüber hinaus schienen materialspezifische Häufungen seltener Spezies zu bestehen: So fanden sich beispielsweise zwei der insgesamt drei *C. norvegensis* - Isolate in eingesandter Gallenflüssigkeit. Ähnlich verhielt es sich mit *Cr. neoformans* und Liquorpunktaten. Mehrfacheinsendungen konnten hierbei als Fehlerquelle ausgeschlossen werden.

Tabelle 4.3: Speziesverteilung und Entnahmeort. Absolute (n) und relative Häufigkeiten (%) der fünf wichtigsten Spezies bezogen auf verschiedene Materialien. Aus allen Materialien wurde am häufigsten *C. albicans* isoliert, wobei der relative Anteil einer großen Schwankungsbreite (41,7% - 76,8%) unterlag.

	Blut		ZVK		Peritoneum		Pleura		Galle		Liquor		BAL		Sonstige	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
C. albicans	274	60,4	73	76,8	18	58,1	15	71,4	5	41,7	5	55,6	6	66,7	23	62,2
C. glabrata	82	18,1	10	10,5	6	19,4	5	23,8	4	33,3	1	11,1	3	33,3	9	24,3
C. tropicalis	30	6,6	5	5,3	2	6,5	1	4,8	1	8,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0
C. parapsilosis	30	6,6	3	3,2	2	6,5	0	0,0	0	0,0	1	11,1	0	0,0	3	8,1
C. krusei	12	2,6	2	2,1	1	3,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Andere	26	5,7	2	2,1	2	6,5	0	0,0	2	16,7	2	22,2	0	0,0	2	5,4
gesamt	**454**		**95**		**31**		**21**		**12**		**9**		**9**		**37**	

4.1.6 Speziesverteilung in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Das Durchschnittsalter für Candidämien mit *C. albicans* (n=401) lag bei 61 Jahren. 90% dieser Isolate - entsprechend dem 90%-Quantil - wurden bei Patienten vor dem 80. Lebensjahr nachgewiesen.

Für Infektionen mit *C. glabrata* (n=119) und *C. tropicalis* (n=40) belief sich das durchschnittliche Erkrankungsalter auf 63 Jahre. Neben dem um 2 Jahre höheren Durchschnittsalter lag für *C. glabrata* auch das 90%-Quantil 2,2 Jahre über dem von *C. albicans*. Das 90%-Quantil von *C. tropicalis* wurde hingegen auf das 78. Lebensjahr berechnet und ordnete sich somit 2 Jahre unter dem von *C. albicans* ein.

Das durchschnittliche Erkrankungsalter von Patienten mit invasiven *C. parapsilosis* - oder *C. krusei* - Infektionen lag hingegen mit 58 Jahren unter dem der oben genannten Spezies. 90% der durch *C. krusei* hervorgerufenen IC betrafen Patienten bis zu einem Alter von 70,4 Jahren. Seltenere Ascomyceten zeigten - mit Ausnahme von *C. norvegensis* (74 a), *Saccharomyces cerevisiae* (73 a) und *C. lusitaniae* (69 a) - ihre Erkrankungsgipfel zumeist vor dem 61. Lebensjahr.

Für sehr seltene Spezies (n<3) erfolgte zur Vermeidung von Fehlern 2. Art keine eingehendere statistische Auswertung. Es ergaben sich jedoch Hinweise darauf, dass das Klientel für Infektionen mit diversen selteneren Hefeisolaten, wie beispielsweise *C. rugosa* (3 und 7 a), noch sehr viel jünger sein könnte. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse zeigt die nachfolgende Abbildung 4.3:

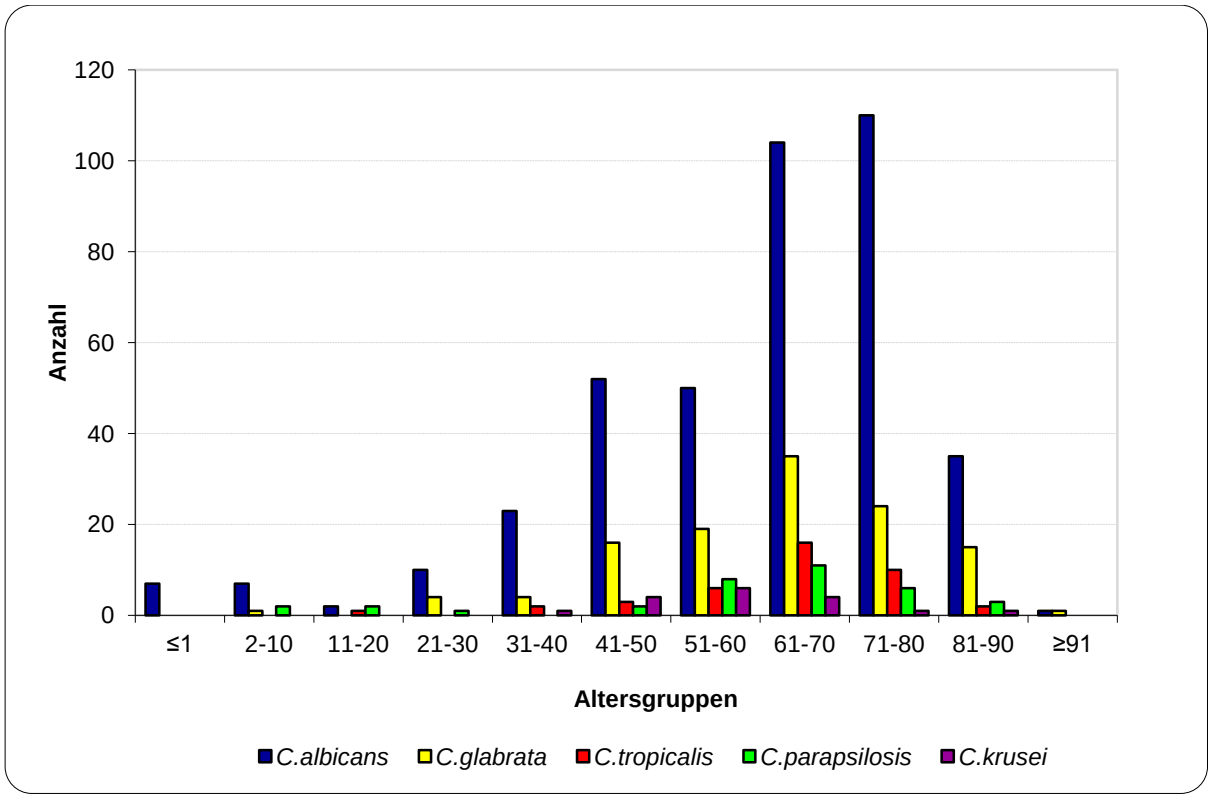

Abb.4.3. Altersprävalenz der fünf am häufigsten isolierten Candida. Absolute Häufigkeiten (n) der Spezies bezogen auf verschiedene Altersgruppen. Stets führend - mit Maximum im achten Lebensjahrzehnt - stellt sich *C. albicans* dar. Die Maxima der angegebenen NAC lagen dagegen im siebenten oder gar sechsten (*C. krusei*) Lebensjahrzehnt.

Bei der Betrachtung der Geschlechter schienen zunächst keine gravierenden Unterschiede bei der Speziesverteilung zu bestehen. Wie aus Tabelle 4.4 ersichtlich, dominierte bei beiden Geschlechtern *C. albicans* mit 62,9% (w) bzw. 61,6% (m) der Infektionen. Auf Rang 2 folgte *C. glabrata* mit 18,7% bei den Frauen bzw. 18,4% bei den Männern. An dritter Stelle jedoch verschob sich die Wichtung: *C. parapsilosis* war hier bei den Frauen mit 15 Isolaten (5,6%) vertreten (vs. 5,1% bei Männern). Bei den Männern schob sich an diese Stelle *C. tropicalis* mit 6,7% (vs. 5,2% bei Frauen). Rang fünf belegte bei beiden Geschlechtern *C. krusei* mit einem Anteil von 2,3% bei den Patientinnen und 2,7% bei Patienten.

Um zufälligen Häufungsphänomenen kein zu großes Gewicht beizumessen, wurde auf eine geschlechterabhängige Auswertung vereinzelt auftretender Spezies verzichtet. Augenscheinlich war jedoch die Tatsache, dass bestimmte Spezies so z.B. *Saccharomyces spp.* oder *Cryptococcus spp.* gehäuft bei Männern auftraten (Verhältnis m/w 5:1 und 3:0).

Tabelle 4.4: Speziesverteilung bei Frauen und Männern. Absolute (n) und relative Häufigkeiten (%) der Spezies. C. *albicans* und *C. glabrata* traten bei beiden Geschlechtern in etwa gleich häufig auf. Eine Rangverschiebung ergab sich bei *C. tropicalis* und *C. parapsilosis*.

	Frauen		Männer	
	n	%	n	%
C. albicans	168	62,9	231	61,6
C. glabrata	50	18,7	69	18,4
C. tropicalis	14	5,2	25	6,7
C.parapsilosis	15	5,6	19	5,1
C. krusei	6	2,2	10	2,7
andere	14	5,2	21	5,6
gesamt	267		375	

Für die fünf bedeutendsten Spezies ist in Abbildung 4.4 die Zusammenfassung von Geschlechter- und Altersverteilung als Boxplot zu sehen. Offensichtlich ist, dass für *C. albicans* und *C. glabrata* der Beginn der Infektionswelle (definiert als 1. Quartil) bei Frauen um 2 bzw. 3 Jahre höher lag als bei Männern. Besonders ausgeprägt - mit einem Unterschied von 10 Lebensjahren - war diese Verschiebung bei *C. krusei.* 75% der Infektionen mit dieser Spezies waren bei 56-jährigen Männern bereits abgelaufen (3. Quartil), als die Infektionswelle bei Frauen erst anlief.

Umgekehrt waren Frauen 5 bzw. 12 Jahre früher von Infektionen mit *C. tropicalis* bzw. *C. parapsilosis* betroffen als Männer.

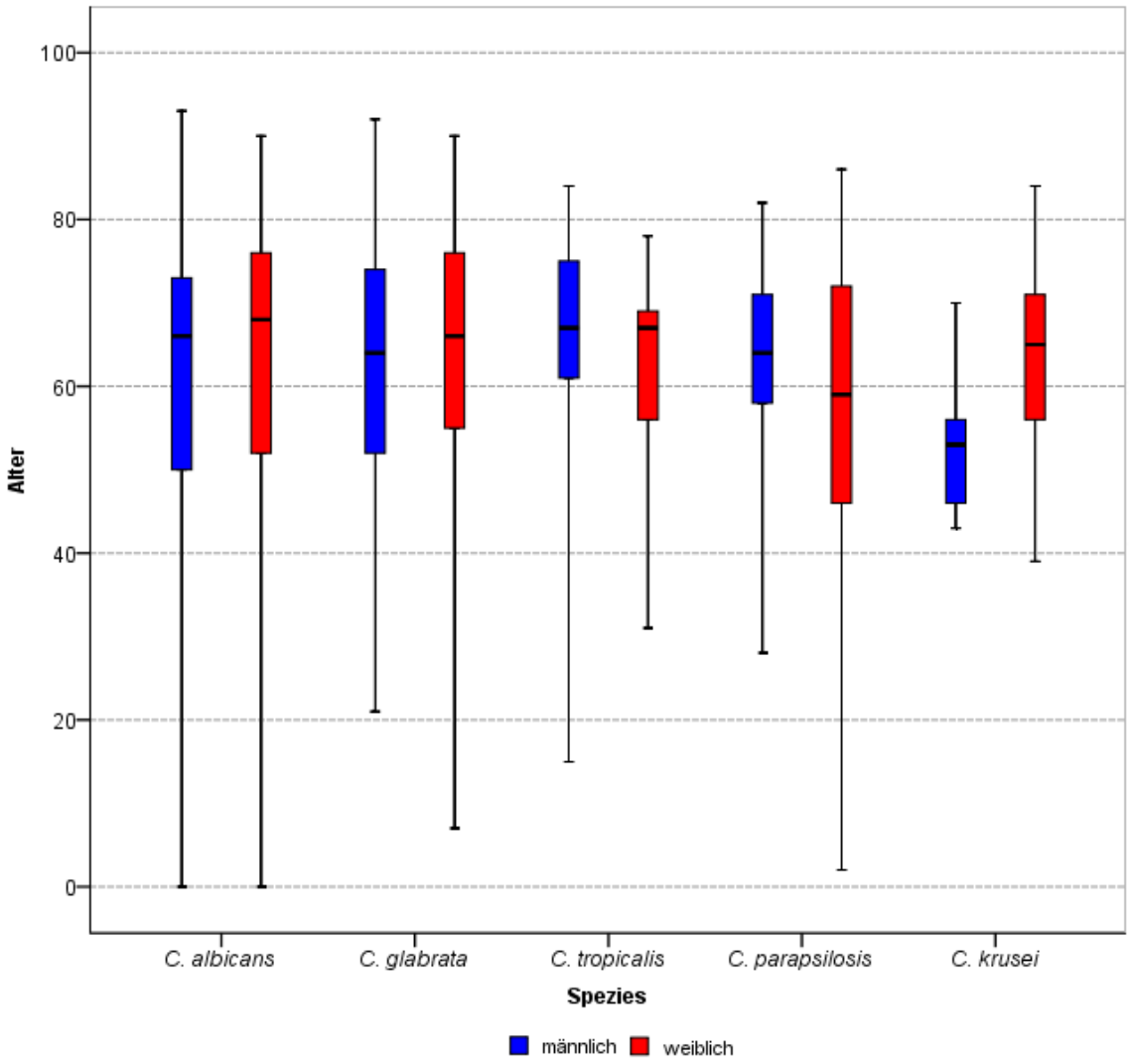

Abb.4.4. Zusammenfassung von Alters- und Geschlechterverteilung für die fünf bedeutendsten Spezies. Hierbei wurden obere und untere Begrenzung der Boxen definiert als 3. (75%-Quantil) bzw. 1. Quartil (25%-Quantil). Die Spannweiten wurden begrenzt durch Mindest- und Maximalalter. Der eigentliche Beginn der Infektionswelle (3. Quartil) mit *C. albicans*, *C. glabrata* und *C. krusei* lag bei Männern bis zu 10 Legensjahre vor dem der Frauen. Umgekehrt erkrankten Frauen früher an *C. tropicalis* und *C. parapsilosis* (Δt=12a).

4.1.7 Speziesverteilung in Abhängigkeit von Risikofaktoren

Auch wenn die Aussage, wegen teilweise kleiner Fallzahlen, gewissen Einschränkungen unterlag, ergab die Analyse der Risikofaktoren einige Besonderheiten bezüglich der Speziesverteilung. Diese sind in Tabelle 4.5 zusammengefasst.

Der Anteil an *C. albicans* lag beispielsweise bei intensivmedizinischem Patientengut mit 65,4% (n=178) etwas über dem Gesamtdurchschnitt. Auf den Rängen zwei und drei folgten *C. glabrata* mit 17,3% (n=47) und *C. tropicalis* mit 7,4% (n=20). Das

Spektrum der selteneren Ascomyceten umfasste 10 weitere Spezies mit einem Gesamtanteil von 9,9%.

37,3% (n=245) der Patienten wurden unter dem Verdacht einer Sepsis behandelt. *C. albicans* war dort mit 62,0% (n=152) präsent. An zweiter Stelle folgte *C. glabrata* mit 17,1%. Eine Änderung ergab sich für Rang drei. Dort wurde *C. tropicalis* (5,7%) von *C. parapsilosis* (6,9%) abgelöst. Verglichen mit dem intensivmedizinischen Spektrum, welches 13 verschiedene Arten umfasste, fand sich eine größere Speziesvielfalt (15 verschiedene Arten).

Bei Patienten mit hämatoonkologischen Grunderkrankungen lag der Anteil an *C. non-albicans spp.* mit 57% (n=55) besonders hoch. Führend unter diesen war *C. glabrata* mit 20,5%. Auf Platz drei folgte erneut *C. parapsilosis* mit 7,7% vor *C. tropicalis* mit 6,8%. Somit lag auch der Anteil an *C. parapsilosis* um 2% über dem Gesamtdurchschnitt und sogar 5,5% über dem intensivpflichtiger Patienten. Das Spektrum umfasste 10 verschiedene Spezies.

Unter den vier häufigsten Risikofaktoren wiesen Patienten mit einer Pneumonie mit 71,0% (n=44) den mit Abstand höchsten Anteil an *C. albicans* auf. Auch *C. glabrata* lag mit einem Anteil von 19,4% (n=12) sehr hoch. Mit deutlichem Abstand folgte *C. tropicalis* mit einem Anteil von 3,2% (n=2). *C. parapsilosis* war bei dieser Patentengruppe nicht vertreten.

Ein besonderes Risiko für die anteilige Verschiebung hin zu *C. non-albicans* schien eine antimykotische Therapie zu sein. Neben einem niedrigen *C. albicans*-Anteil von 48,5% (n=16) stand ein mit 33,3% (n=11) vergleichsweise hoher Anteil an *C. glabrata*.

Die „frühere (stattgehabte) Kolonisation“ mit Pilzen wies hingegen einen mit 61,3% (n=19) relativ hohen *C. albicans*-Anteil auf. *C. glabrata* und *C. tropicalis* vervollständigten mit 22,6% (n=7) bzw. 16,1% (n=5) das Errregerspektrum.

Aufgrund zu kleiner Stichproben (n<12) wurde auf eine vergleichende Auswertung der verbleibenden Risikofaktoren verzichtet.

Auch die Zahl der zeitgleich bestehenden Risikofaktoren schien Einfluss auf die Speziesverteilung zu haben. Unter Berücksichtigung der geringen Stichprobengröße sollen hier allerdings nur bis maximal vier Risikofaktoren betrachtet werden: So stieg mit zunehmender Anzahl an Risikofaktoren die relative Häufigkeit *C. tropicalis* (5,6…9,1 %), *C. krusei* (2,6…18,2 %) oder seltene Ascomyzeten (5,2…18,2 %) zu

isolieren deutlich. Im Gegenzug waren die Anteile von *C. glabrata* (19,4…9,1 %) und *C. parapsilosis* (6,7…0,0 %) deutlich rückläufig. Der *C. albicans*-Anteil stieg zunächst von 60,4 % (ein Risikofaktor) bis auf 67,4 % (drei Risikofaktoren) an und knickte bei vier Risikofaktoren stark ein (45,5 %).

Bei Patienten, für die keine der o.g. Risikofaktoren eruiert werden konnten, dominierte *C. albicans* mit einem Anteil von 65,1%. Dieser Anteil lag über dem der Gesamtstichprobe (62,25%) und führte zu einer entsprechenden Beschneidung der einzelnen NAC-Anteile.

Tabelle 4.5: Risikofaktorenabhängige Speziesverteilung. Absolute (n) und relative Häufigkeiten (%) der Spezies bezogen auf Art und Anzahl verschiedener Risikofaktoren. Auffällig ist ein besonders bei Intensiv- und Pneumoniepatienten (65,4% bzw. 71,0%) erhöhter Anteil an *C. albicans*-Infektionen. Bei Patienten mit hämato-onkologischen Krankheitsbildern beträgt dieser Anteil nur 53,0% bei gleichzeitig erhöhtem NAC-Anteil.

	C. albicans		*C. glabrata*		*C. tropicalis*		*C. parapsilosis*		*C.krusei*		Sonstige		gesamt
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	**n**
Intensivmedizinischer Aufenthalt	178	65,4	47	17,3	20	7,4	6	2,2	7	2,6	14	5,1	**273**
Sepsis	152	62,0	42	17,1	14	5,7	17	6,9	9	3,7	11	4,5	**245**
Hämato-Onkologi-sche Erkrankungen	62	53,0	24	20,5	8	6,8	9	7,7	6	5,1	8	6,8	**117**
Pneumonie	44	71,0	12	19,4	2	3,2	0	0,0	1	1,6	3	4,8	**62**
Antimykotische Therapie	16	48,5	11	33,3	2	6,1	2	6,1	0	0,0	2	6,1	**33**
Frühere mykotische Kolonisation	19	61,3	7	22,6	5	16,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	**31**
Immunsuppression	11	50,0	5	22,7	2	9,1	1	4,5	0	0,0	3	13,6	**22**
Neutropenie	5	33,3	6	40,0	0	0,0	0	0,0	1	6,7	3	20,0	**15**
Z.n. Transplantation eines soliden Organs	7	58,3	2	16,7	0	0,0	0	0,0	1	8,3	2	16,7	**12**
Z.n. Knochenmarks-Transplantaton	3	27,3	1	9,1	0	0,0	1	9,1	2	18,2	4	36,4	**11**
Frühere invasive Mykose	5	71,4	2	28,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	**7**
Meningitis	5	83,3	1	16,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	**6**
HIV-Infektion/Aids	2	66,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	33,3	**3**
1 Risikofaktor	162	60,4	52	19,4	15	5,6	18	6,7	7	2,6	14	5,2	**268**
2 Risikofaktoren	111	64,2	30	17,3	11	6,4	6	3,5	6	3,5	9	5,2	**173**
3 Risikofaktoren	31	67,4	7	15,2	4	8,7	2	4,3	0	0,0	2	4,3	**46**
4 Risikofaktoren	5	45,5	1	9,1	1	9,1	0	0,0	2	18,2	2	18,2	**11**
5 Risikofaktoren	1	25,0	2	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	25,0	**4**
6 Risikofaktoren	0	0,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	**1**
7 Risikofaktoren	1	50,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	**2**
Keine Risikofaktoren	99	65,1	26	17,1	8	5,3	9	5,9	2	1,3	8	5,3	**152**

4.1.8 Mikrobielle Ko-Besiedlungen/Ko-Infektionen

In einzelnen Fällen wurden Informationen über bakterielle Doppelinfektionen/-besiedlungen auf den Fragebögen vermerkt. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 4.6 zusammengefasst. So fanden sich in 17 Fällen (65,4%) zusätzlich grampositive Kokken, in 8 weiteren Fällen (30,8%) gramnegative Stäbchen und in einem Fall (3,8%) ein grampositives Stäbchen.

Unter den grampositiven Kokken befanden sich 10 *Staphylococcus spp*. (darunter sechs *MRSA)*, fünf *Enterococcus spp.* sowie ein *Streptococcus sanguis* (Viridans-Gruppe). Die Gruppe der gramnegativen Stäbchen setzte sich zusammen aus fünf Isolaten der Familie der *Enterobacteriaceae* (ein *Enterobacter cloacae*, zwei *Escherichia coli*, eine *Klebsiella oxytoca* und eine *Klebsiella pneumoniae*) sowie je einem Vertreter der Spezies *Aeromonas caviae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Bordetella bronchiseptica*). Einziger Vertreter der grampositiven Stäbchen war *Clostridium difficile*.

Von der Seite der isolierten Hefen her betrachtet, traten bei bakteriellen Ko-Besiedlungen/-Infektionen - mit einem Anteil von 65,4% (n=17) - am häufigsten *C. albicans* auf. 19,2% (n=5) der kobesiedelten/-infizierten Isolate konnten als *C. glabrata* identifiziert werden. *C. tropicalis* machte einen Anteil von 11,5% (n=3) und *C. parapsilosis* einen Anteil von 3,8% (n=1) der Ko-Besiedlungen bzw. Ko-Infektionen aus.

Begleiter grampositiver Kokken waren zu 58,8% (n=10) *C. albicans* und zu 23,5% (n=4) *C. glabrata*. Bei den gramnegativen Stäbchen imponierte ein *C. albicans*-Anteil von 75,0% (n=6).

Tabelle 4.6: Bakterielle Koinfektionen und Kobesiedlungen bei IC. Dargestellt wurden die absoluten Häufigkeiten (n) der Bacteriacceae-Candida-Misch-Infektionen und –Besiedlungen (Gruppierung nach Gramfärbung). Am häufigsten (n=10; 58,8%) trat die Konstellation *C. albicans*/grampositive Kokken auf.

	grampositive Kokken	gramnegative Kokken	grampositive Stäbchen	gramnegative Stäbchen
C. albicans	10	0	1	6
C. glabrata	4	0	0	1
C. tropicalis	2	0	0	1
C. parapsilosis	1	0	0	0

Neben bakteriellen Kobesiedlungen/~infektionen fanden sich in 22 Fällen (entspr. 44 Isolate) auch Candida-Doppelinfektionen. Diese sind in Tabelle 4.7 dargestellt. Mit 15 Fällen (68,2%) war die Kombination von *C. albicans* mit *C. glabrata* am häufigsten anzutreffen. Die Kombinationen *C. glabrata/C. tropicalis* und *C. albicans/C. tropicalis* kamen jeweils zweimal (je 9,1%) vor. Einmalig wurde eine Doppelinfektion zweier *C. krusei*-Subtypen gefunden. Auch seltene *Candida spp.*, wie *C. lusitaniae* und *C. norvegensis*, traten in Kombination mit *C. albicans* jeweils einmal auf.

Tabelle 4.7: Candida-Candida-Koinfektionen. Dargestellt wurden die absoluten Häufigkeiten (n) der verschiedenen Konstellationen (ohne Doppelnennungen). Am häufigsten (n=15; 68,2%) trat die Kombination *C. albicans-C. glabrata* auf.

	C. albicans	***C. glabrata***	***C. tropicalis***	***C. krusei***	***C. norvegensis***	***C. lusitaniae***
C. albicans	0	15	2	0	1	1
C. glabrata		0	2	0	0	0
C. krusei			0	1	0	0

4.2 Ergebnisse der Mikrodilutionstestung

4.2.1 Amphotericin B

Alle 648 getesteten Isolate waren gegenüber Amphotericin B sensibel. Der MHK-Bereich erstreckte sich von 0,125 µg/ml bis 1 µg/ml (s. Abb.4.5). MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 0,5 µg/ml und 1 µg/ml berechnet.
Die sechs bedeutensten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Amphotericin B analysiert und zusammenfassend in Tabelle 4.8 dargestellt.

4.2.1.1 *Candida albicans*

Alle Stämme (n=409) waren gegenüber Amphotericin B sensibel. Die MHK lagen im Bereich der Konzentrationsstufen 0,125 µg/ml bis 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,5 µg/ml und 1 µg/ml.

4.2.1.2 *Candida glabrata*

Alle Stämme (n=120) waren gegenüber Amphotericin B sensibel. Der MHK-Bereich umfasste bei dieser Spezies nur die zwei Konzentrationsstufen 0,5 µg/ml und 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen auf der Konzentrationsstufe 1 µg/ml.

4.2.1.3 *Candida tropicalis*

Alle Stämme (n=40) waren gegenüber Amphotericin B empfindlich. Der MHK-Bereich umfasste auch bei dieser Spezies nur die zwei Konzentrationsstufen 0,5 µg/ml und 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen beide bei 1 µg/ml.

4.2.1.4 *Candida parapsilosis*

Die MHK der Spezies *C. parapsilosis* wurden nach 48-stündiger Inkubationszeit ermittelt. Alle Isolate (n=35) waren gegenüber Amphotericin B sensibel. Der MHK-Bereich umfasste die zwei Konzentrationsstufen 0,5 µg/ml und 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 1 µg/ml.

4.2.1.5 *Candida krusei*

Alle Stämme (n=17) waren Amphotericin B-sensibel. Der MHK-Bereich erstreckte sich über die beiden Konzentrationsstufen 0,5 µg/ml und 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 1 µg/ml berechnet.

Tabelle 4.8: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Amphotericin B-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler und resistenter Isolate gegenüber Amphotericin B.

Amphotericin B	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate	
				S	R
C. albicans	0,5	1	0,125 - 1	100,0	0,0
C. glabrata	1	1	0,5 -1	100,0	0,0
C. tropicalis	1	1	0,5 - 1	100,0	0,0
C. parapsilosis	1	1	0,5 - 1	100,0	0,0
C. krusei	1	1	0,5 - 1	100,0	0,0
alle Isolate	0,5	1	0,125 - 1	100,0	0,0

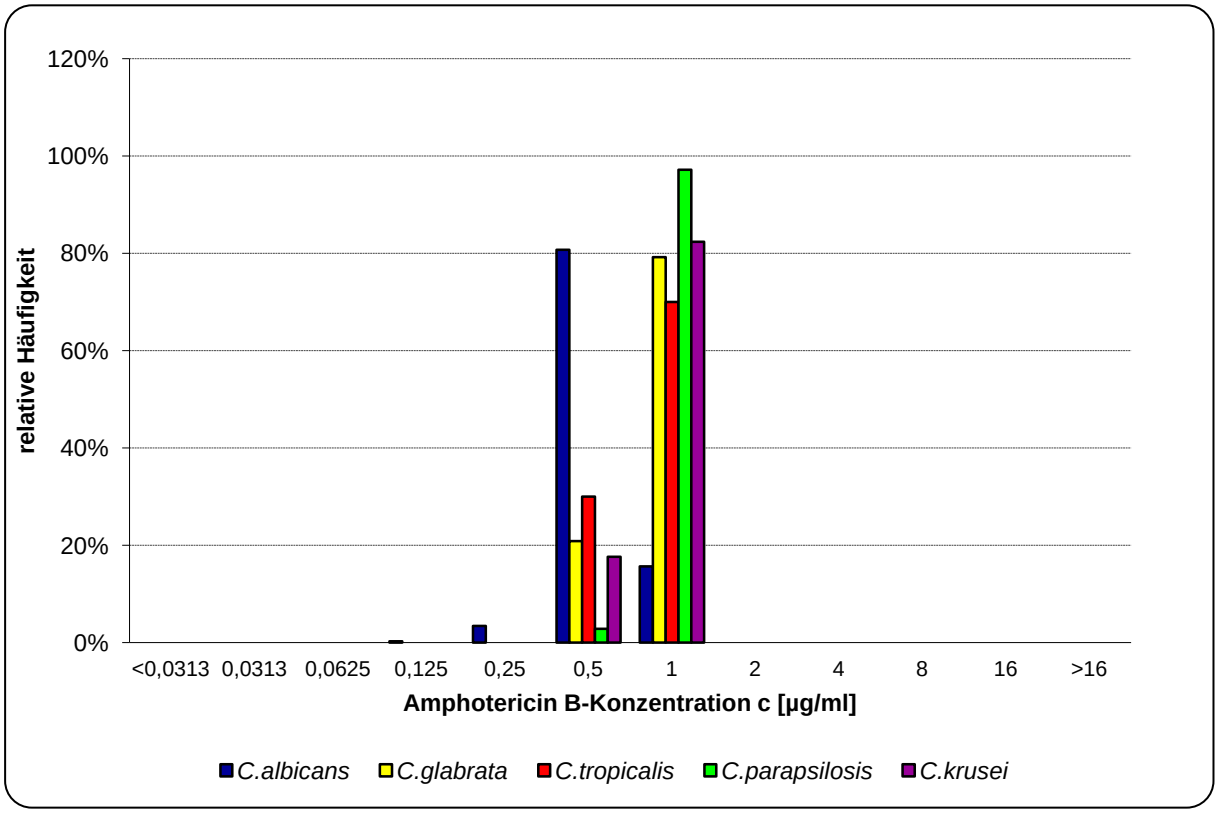

Abb. 4.5: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Amphotericin B-Konzentrationsstufen.

4.2.2 Flucytosin

91,5% der Isolate (n=593) waren gegenüber Flucytosin sensibel. 2,6% (n=17) der Isolate waren intermediär empfindlich und weitere 38 Isolate (5,9%) gegenüber 5-FC resistent.
Das Gesamtspektrum der MHK umfasste alle Konzentrationsstufen von <0,125 µg/ml bis >64 µg/ml, wenn auch für die einzelnen Spezies deutliche Unterschiede in der Resistenz nachgewiesen werden konnten (s. Abb. 4.6). MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf <0,125 µg/ml und 1 µg/ml berechnet.
Die sechs bedeutensten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Flucytosin analysiert und zusammenfassend in Tabelle 4.9 dargestellt.

4.2.2.1 *Candida albicans*

98% der Isolate (n=401) waren empfindlich gegenüber 5-FC. 0,5% waren intermediär sensibel und 1,5% resistent. Das MHK-Spektrum umfasste alle Konzentrationsstufen. Die MHK_{50} lag mit <0,125 µg/ml eine Konzentrationsstufe unter der MHK_{90} mit 0,125 µg/ml.

4.2.2.2 *Candida glabrata*

Auch der überwiegende Anteil dieser Spezies (96,7%; n=116) war empfindlich gegenüber 5-FC. Die Resistenzrate betrug hier 3,3%. Der MHK-Bereich umfasste alle Konzentrationsstufen von <0,125 bis >64 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei der gleichen Konzentration von <0,125 µg/ml.

4.2.2.3 *Candida tropicalis*

Bei dieser Spezies lag der Anteil der als empfindlich getesteten Isolate bei 42,5% (n=17). Die Mehrzahl der getesteten Isolate (n=23, entsprechend 57,5%) war resistent. Im intermediären Bereich lag bei dieser Spezies kein Isolat. Das MHK-Spektrum reichte von <0,125 µg/ml bis >64 µg/ml. Das Resistenzverhalten dieser Spezies spiegelte sich auch in der extremen MHK_{50} und MHK_{90} wider (>64 µg/ml).

4.2.2.4 *Candida parapsilosis*

94,3% (n=33) der *C. parapsilosis*-Stämme waren 5-FC sensibel. Die verbleibenden 5,7% wurden resistent eingestuft. Der MHK-Bereich umfasste alle Konzentrations-

stufen von <0,125 µg/ml bis >64 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,125 µg/ml und 1 µg/ml.

4.2.2.5 *Candida krusei*

82,4% (n=14) der Isolate dieser Spezies lagen im intermediären Bereich. 11,8% waren resistent und nur 5,9% sensibel. Das MHK-Spektrum reichte von <0,125 µg/ml bis 32 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen auch bei dieser Spezies mit 8 µg/ml und 32 µg/ml sehr hoch.

Tabelle 4.9: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Flucytosin-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler, intermediärer und resistenter Isolate gegenüber Flucytosin.

Flucytosin	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	I	R
C. albicans	<0,125	0,125	<0,125 - >64	98,0	0,5	1,5
C. glabrata	<0,125	<0,125	<0,125 - >64	96,7	0,0	3,3
C. tropicalis	>64	>64	<0,125 - >64	42,5	0,0	57,5
C. parapsilosis	0,125	1	<0,125 - >64	94,3	0,0	5,7
C. krusei	8	32	<0,125 - 32	5,9	82,4	11,8
alle Isolate	<0,125	1	<0,125 - >64	91,5	2,6	5,9

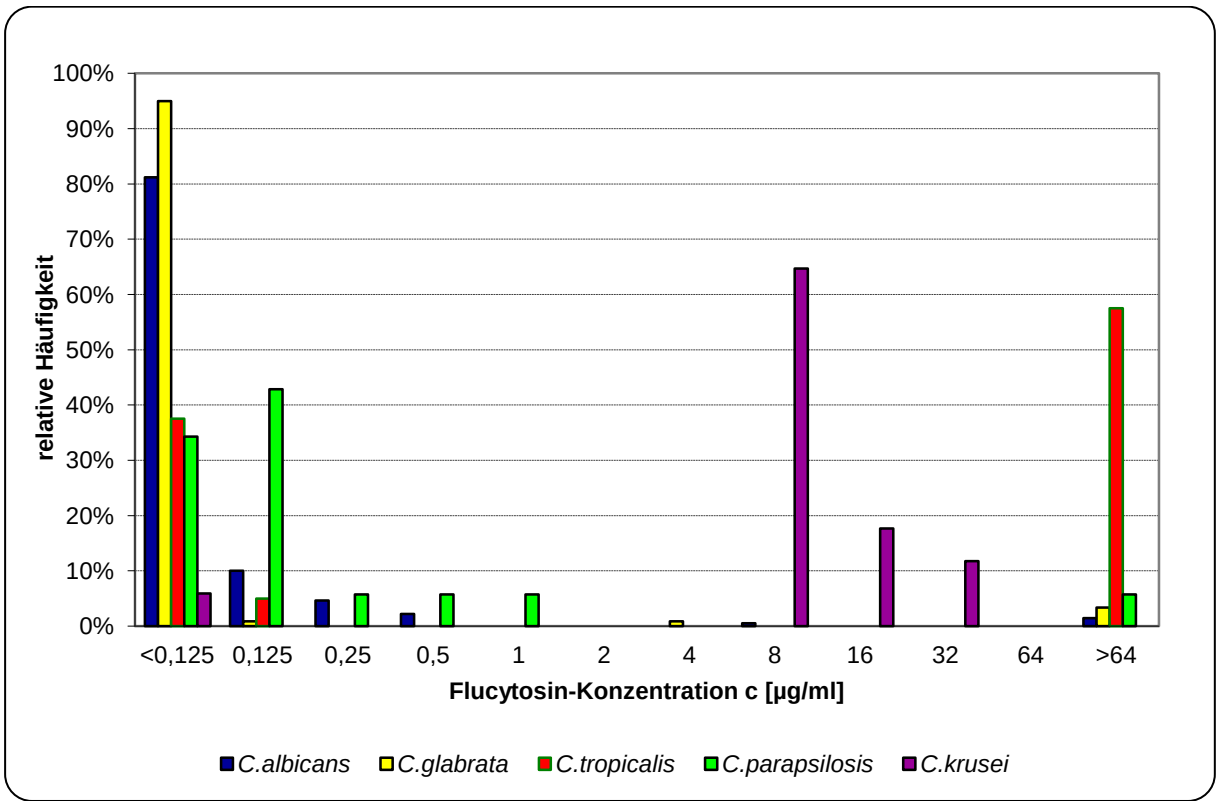

Abb. 4.6: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Flucytosin-Konzentrationsstufen.

4.2.3 Fluconazol

95,8% der Isolate (n=622) waren gegenüber Fluconazol sensibel. 2,9% (n=18) der Isolate zeigten eine dosisabhängige Sensibilität und weitere 1,2% eine Fluconazol-Resistenz. Der Bereich der MHK-Bandbreite reichte von <0,25 µg/ml bis >128 µg/ml (s. Abb. 4.7). MHK_{50} und MHK_{90} lagen jeweils bei den Konzentrationsstufen 0,25 µg/ml und 4 µg/ml.
Die sechs bedeutendsten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Fluconazol analysiert und zusammenfassend in Tabelle 4.10 dargestellt.

4.2.3.1 *Candida albicans*

99,5% (n=407) der *C. albicans*-Isolate waren gegenüber Fluconazol sensibel. Jeweils ein Isolat musste der Gruppe S-DD und resistent zugeordnet werden. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,25 µg/ml. Das Spektrum umfasste alle Konzentrationsstufen.

4.2.3.2 *Candida glabrata*

Bei dieser Spezies lag der Anteil der gegenüber Fluconazol empfindlich getesteten Isolate bei 90,8% (n=109). 5,8% der Isolate waren gegenüber Fluconazol resistent, die verbleibenden 3,3% dosisabhängig sensibel. MHK_{50} und MHK_{90} konnten auf 4 µg/ml bzw. 8 µg/ml berechnet werden. Die Bandbreite umfasste alle Konzentrationsstufen zwischen 0,25 µg/ml und 64 µg/ml.

4.2.3.3 *Candida tropicalis*

Alle *C. tropicalis* (n=40) wiesen im Bereich zwischen <0,25 und 2 µg/ml eine Fluconazol-Sensibilität auf. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,25 µg/ml und 1 µg/ml.

4.2.3.4 *Candida parapsilosis*

97,1% (n=34) der *C. parapsilosis*-Isolate lagen nach 48 Stunden im sensiblen Bereich. Ein Stamm (2,9%) war dosisabhängig sensibel. Der Bereich der abgedeckten Konzentrationsstufen reichte von <0,25 µg/ml bis zu 32 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 1 µg/ml bzw. 4 µg/ml berechnet.

4.2.3.5 *Candida krusei*

Die Isolate dieser Spezies waren zu 29,4% (n=5) als sensibel und zu 70,6% (n=12) als dosisabhängig sensibel einzustufen. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 16 µg/ml. Die Bandbreite umfasste den Bereich der Konzentrationsstufen von 0,25 µg/ml bis 32 µg/ml.

Tabelle 4.10: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Fluconazol-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler, dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber Fluconazol.

Fluconazol	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	S-DD	R
C. albicans	0,25	0,25	<0,25 - >128	99,5	0,2	0,2
C. glabrata	4	8	0,25 - 64	90,8	3,3	5,8
C. tropicalis	0,25	1	<0,25 - 2	100,0	0,0	0,0
C. parapsilosis	1	4	<0,25 - 32	97,1	2,9	0,0
C. krusei	16	16	0,25 - 32	29,4	70,6	0,0
alle Isolate	0,25	4	<0,25 - >128	95,8	2,9	1,2

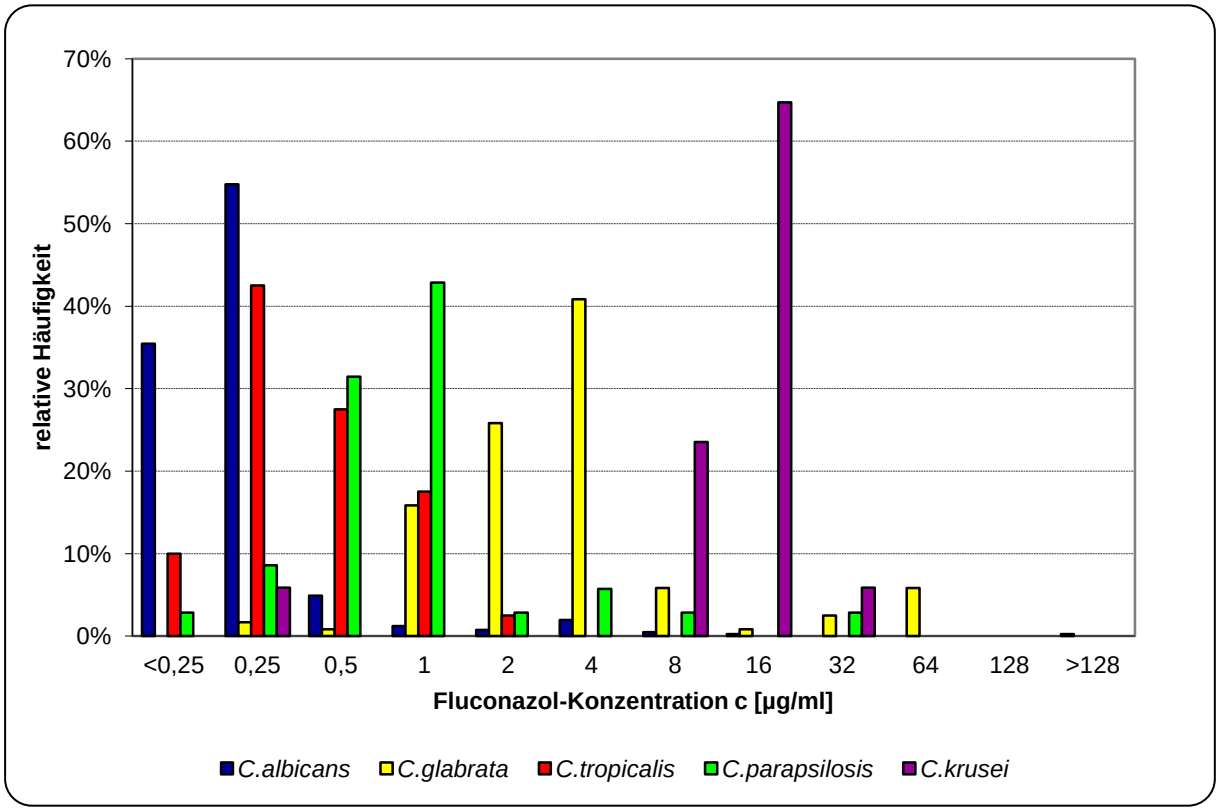

Abb. 4.7: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Fluconazol-Konzentrationsstufen.

4.2.4 Itraconazol

Nur 28,5% der Isolate (n=185) waren gegenüber Itraconazol sensibel. Ein Großteil der Isolate (58,8%, n=381) wurde im dosisabhängigen Bereich bestimmt. 12,8% aller Isolate zeigten eine Itraconazol-Resistenz. Das MHK-Gesamtspektrum erstreckte sich über nahezu alle Konzentrationsstufen von 0,0313 µg/ml bis >16 µg/ml (s. Abb. 4.8). Die MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 0,25 µg/ml und 1 µg/ml berechnet.
Die sechs bedeutendsten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Itraconazol analysiert und zusammenfassend in Tabelle 4.11 dargestellt.

4.2.4.1 *Candida albicans*

41,8% (n=171) der *C. albicans*-Isolate waren gegenüber Itraconazol sensibel. Die Hauptwichtung lag jedoch mit 57,0% (n=233) im dosisabhängigen Bereich. 5 Isolate (1,2%) waren gegenüber diesem Azol resistent. Das Spektrum dieser Spezies entsprach mit 0,0313 µg/ml bis >16 µg/ml dem Itraconazol-Gesamtspektrum. MHK_{50} und MHK_{90} lagen auf der gleichen Konzentrationsstufe von 0,25 µg/ml.

4.2.4.2 *Candida glabrata*

Der mit 58,3% (n=70) überwiegende Anteil der *C. glabrata*-Isolate war gegenüber Itraconazol resistent. 39,2% waren dosisabhängig sensibel und nur 2,5% sensibel. Der MHK-Bereich erstreckte sich von 0,125 µg/ml bis 16 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 1 µg/ml und 2 µg/ml berechnet.

4.2.4.3 *Candida tropicalis*

Die Mehrzahl der *C. tropicalis*-Isolate (n=32; entsprechend 80% der Isolate) war dosisabhängig sensibel. Je 10% dieser Isolate zeigten gegenüber Itraconazol eine Empfindlichkeit oder Resistenz. Das Spektrum der MHK reichte von 0,125 µg/ml bis 1 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,25 µg/ml und 1 µg/ml.

4.2.4.4 *Candida parapsilosis*

82,9% (n=29) der *C. parapsilosis*-Isolate waren gegenüber Itraconazol dosisabhängig sensibel und nur 11,4% sensibel. Zwei Isolate zeigten eine Itraconazol-Resistenz. Die MHK lagen zwischen den Konzentrationsstufen 0,125 und >16 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 0,25 µg/ml und 0,5 µg/ml berechnet.

4.2.4.5 *Candida krusei*

Der mit 94,1% (n=16) größte Anteil der *C. krusei*-Isolate war gegenüber Itraconazol dosisabhängig sensibel. Ein Isolat (5,9%) war resistent. Es gab keine sensiblen *C. krusei*. Der hohe Anteil an dosisabhängig sensiblen Stämmen spiegelte sich auch in MHK_{50} und MHK_{90} wider. Diese lagen beide bei 0,5 µg/ml. Der Bereich der MHK erstreckte sich von 0,25 µg/ml bis 1 µg/ml.

Tabelle 4.11: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Itraconazol-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler, dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber Itraconazol.

Itraconazol	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	S-DD	R
C. albicans	0,25	0,25	0,0313 - >16	41,8	57,0	1,2
C. glabrata	1	2	0,125 - 16	2,5	39,2	58,3
C. tropicalis	0,25	1	0,125 - 1	10,0	80,0	10,0
C. parapsilosis	0,25	0,5	0,125 - >16	11,4	82,9	5,7
C. krusei	0,5	0,5	0,25 - 1	0,0	94,1	5,9
alle Isolate	0,25	1	0,0313 - >16	28,5	58,8	12,7

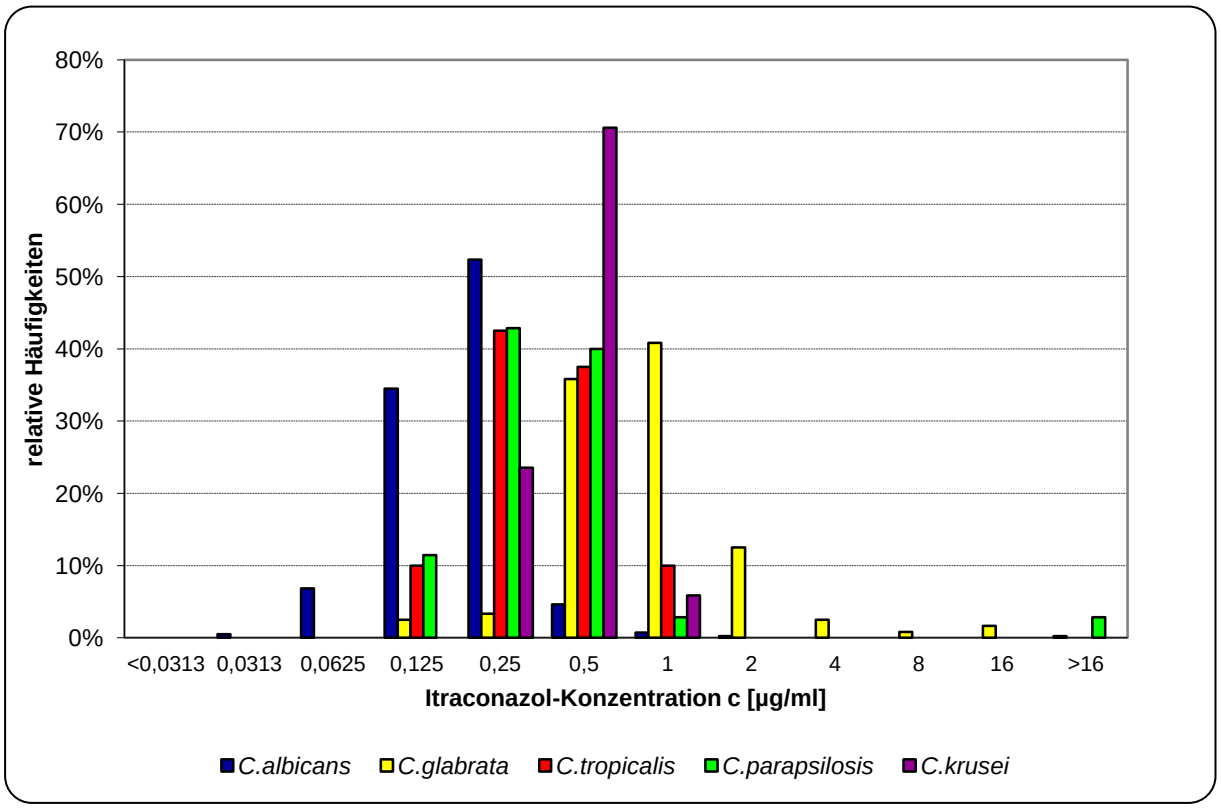

Abb. 4.8: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Itraconazol-Konzentrationsstufen.

4.2.5 Voriconazol

98,8% aller Isolate (n=640) war gegenüber Voriconazol sensibel. 0,9% der Isolate zeigten eine dosisabhängige Sensibilität und weitere 0,3% eine Voriconazol-Resistenz. Das Spektrum der MHK reichte von <0,0313 µg/ml bis 8 µg/ml (s. Abb. 4.9). MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,0313 µg/ml und 0,125 µg/ml.
Die sechs bedeutendsten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Voriconazol untersucht und zusammenfassend in Tabelle 4.12 dargestellt.

4.2.5.1 *Candida albicans*

99,8% (n=408) der *C. albicans*-Isolate waren gegenüber Voriconazol empfindlich, 0,2 % (n=1) dosisabhängig empfindlich. Das Spektrum der MHK erstreckte sich in einem Bereich von <0,0313 µg/ml bis 2 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf <0,0313 µg/ml bzw. 0,0313 µg/ml berechnet.

4.2.5.2 *Candida glabrata*

95,8% (n=113) dieser Spezies waren gegenüber Voriconazol sensibel Die verbleibenden 4,2% (n=7) wurden dosisabhängig sensibel getestet. Resistente Isolate wurden nicht gefunden. Der MHK-Bereich wurde begrenzt von den Konzentrationsstufen <0,0313 µg/ml und 2 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 0,0625 µg/ml bzw. 0,25 µg/ml.

4.2.5.3 *Candida tropicalis*

Alle Stämme (n=40) waren gegenüber Voriconazol sensibel. Das Spektrum der MHK reichte von <0,0313 µg/ml bis 0,125 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} waren mit 0,0313 µg/ml und 0,0625 µg/ml nur eine Konzentrationsstufe voneinander entfernt.

4.2.5.4 *Candida parapsilosis*

Bei dieser Spezies fanden sich die einzigen beiden gegenüber Voriconazol resistenten Isolate. Dies entsprach einem Anteil von 5,7% der getesteten *C. parapsilosis*. 94,3% (n=33) der Isolate waren sensibel. Der Bereich der MHK erstreckte sich von <0,0313 µg/ml bis 8 µg/ml. Die MHK_{50} fand sich bei der Konzentrationsstufe 0,0313 µg/ml, die MHK_{90} bei 0,125 µg/ml.

4.2.5.5 *Candida krusei*

Alle Stämme (n=17) waren gegenüber Voriconazol empfindlich. Das MHK-Spektrum reichte von <0,0313 µg/ml bis 0,5 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen benachbart auf den Konzentrationsstufen 0,125 µg/ml und 0,25 µg/ml.

Tabelle 4.12: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Voriconazol-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensible, dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber Voriconazol.

Voriconazol	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	S-DD	R
C. albicans	0,0312	0,0313	<0,0313 - 2	99,8	0,2	0,0
C. glabrata	0,0625	0,25	<0,0313 - 2	95,8	4,2	0,0
C. tropicalis	0,0313	0,0625	<0,0313 - 0,125	100,0	0,0	0,0
C. parapsilosis	0,0313	0,125	<0,0313 - 8	94,3	0,0	5,7
C. krusei	0,125	0,25	<0,0313 - 0,5	100,0	0,0	0,0
alle Isolate	0,0313	0,125	<0,0313 - 8	98,8	0,9	0,3

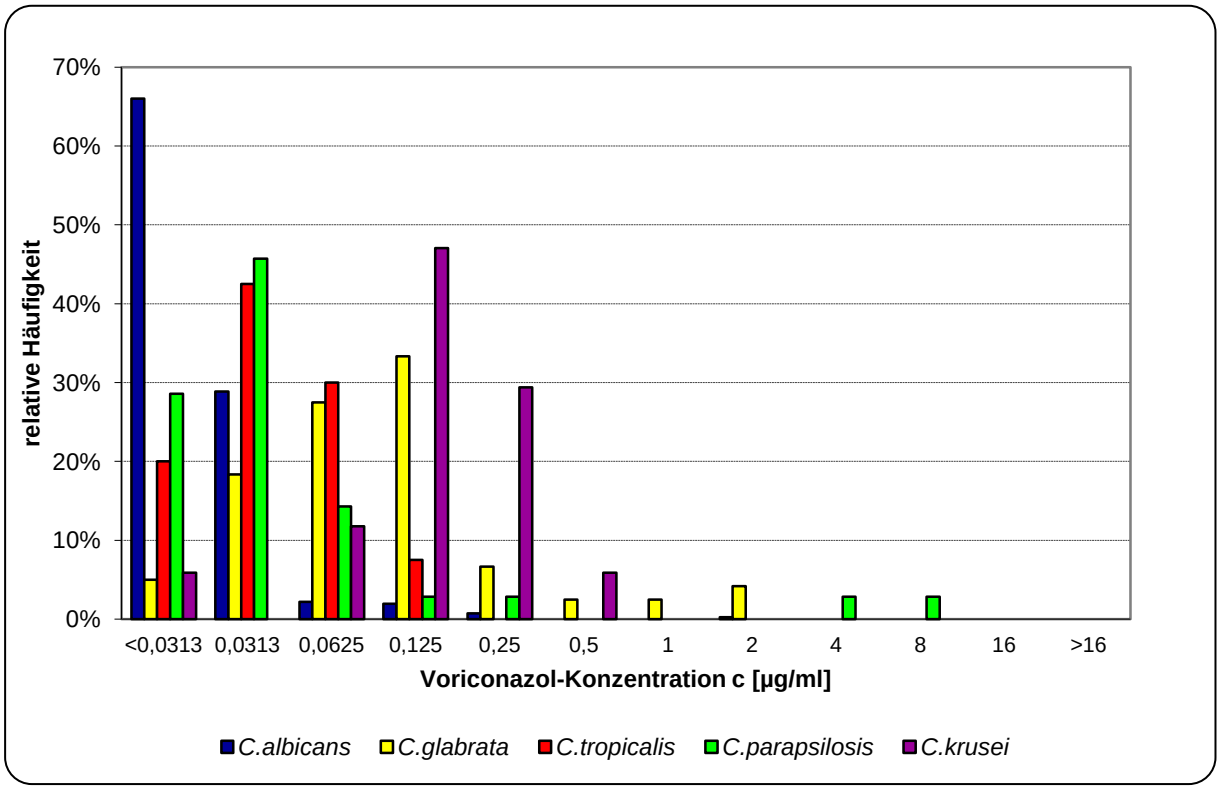

Abb. 4.9: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Voriconazol-Konzentrationsstufen.

4.2.6 Caspofungin

78,2% aller Isolate (n=507) waren gegenüber Caspofungin sensibel. 14,8% (n=96) der Isolate wurden intermediär eingestuft und bei 6,9% fand sich eine Caspofungin-Resistenz. Das Gesamtspektrum der MHK schloss alle Konzentrationsstufen von <0,0313 µg/ml bis >16 µg/ml ein (s. Abb. 4.10). MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf die Konzentrationsstufen 0,125 µg/ml und 0,5 µg/ml berechnet.
Die sechs bedeutendsten Spezies wurden im Folgenden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Caspofungin untersucht und zusammenfassend in Tabelle 4.13 dargestellt.

4.2.6.1 *Candida albicans*

99,3% dieser Spezies (n=406) waren gegenüber Caspofungin sensibel. Der verbleibende Anteil fand sich im intermediären Bereich wieder. Das MHK-Spektrum reichte von <0,0313 µg/ml bis 0,5 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen mit 0,0625 µg/ml und 0,125 µg/ml eine Konzentrationsstufe auseinander.

4.2.6.2 *Candida glabrata*

Mit Anpassung der Grenzwerte im vergangenen Jahr verschob sich der größte Teil der vormals als sensiblen bewerteten Isolate in den intermediären (63,3%; n=76) bzw. resistenten (27,5%; n=33) Bereich. Damit rangierte diese Spezies bezüglich resistenter Isolate (nach *C. guilliermondii* mit 42,9%) auf Rang 2. Nur 9,2% (n=11) der *C. glabrata*-Isolate blieben auch sensibel. der Dabei erstreckte sich der Bereich der MHK von 0,0625 µg/ml bis 0,5 µg/ml. Auch hier lag die MHK_{50} mit 0,125 µg/ml nur eine Konzentrationsstufe unter der MHK_{90} mit 0,25 µg/ml.

4.2.6.3 *Candida tropicalis*

85,0% (n=34) der Vertreter dieser Spezies wiesen eine Caspofungin-Sensibilität auf. Resistenzen waren nicht zu verzeichnen. Der verbleibende Anteil (15,0%) fand sich im intermediären Bereich. Das Spektrum der MHK umfasste alle Konzentrations-stufen von 0,0625 µg/ml bis 0,5 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} wurden auf 0,125 µg/ml und 0,5 µg/ml berechnet.

4.2.6.4 *Candida parapsilosis*

88,6% (n=31) der Isolate waren empfindlich auf Caspofungin. Der Anteil resistenter Isolate lag für dieses Antimykotikum mit 11,4% verhältnismäßig hoch. Dementsprechend erstreckte sich der Bereich der MHK über 8 Konzentrationsstufen von 0,25 µg/ml bis >16 µg/ml. MHK_{50} und MHK_{90} lagen bei 1 mg/ml und 16 µg/ml.

4.2.6.5 *Candida krusei*

Auch bei dieser Spezies war nach Neufestsetzung der „breakpoints“ mit 64,7% (n=11) der größte Teil der vormals empfindlichen Isolate im intermediären Sektor einzuordnen. Resistente Isolate gab es hier allerdings nicht. Das Spektrum der MHK beschränkte sich dabei auf zwei Konzentrationsstufen (0,25 µg/ml und 0,5 µg/ml). MHK_{50} und MHK_{90} fanden sich bei der Konzentrationsstufe 0,5 µg/ml.

Tabelle 4.13: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Caspofungin-Testung. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler, intermediärer und resistenter Isolate gegenüber Caspofungin.

Caspofungin	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	I	R
C. albicans	0,0625	0,125	<0,0313 - 0,5	99,3	0,7	0,0
C. glabrata	0,125	0,25	0,0625 - 0,5	9,2	63,3	27,5
C. tropicalis	0,125	0,5	0,0625 - 0,5	85,0	15,0	0,0
C. parapsilosis	1	16	0,25 - >16	88,6	0,0	11,4
C. krusei	0,5	0,5	0,25 - 0,5	35,3	64,7	0,0
alle Isolate	0,125	0,5	<0,0313 - >16	78,2	14,8	6,9

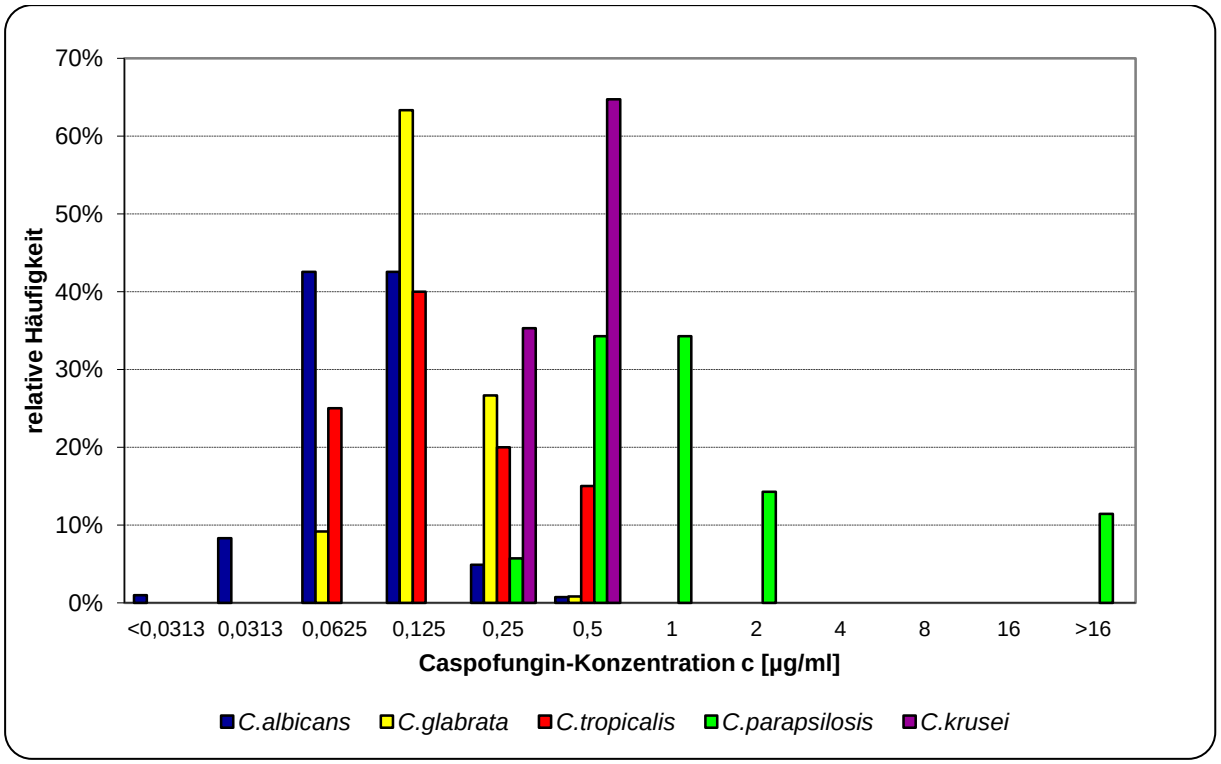

Abb. 4.10: Darstellung der relativen Häufigkeit (%) der fünf wichtigsten Candida-Spezies in Abhängigkeit von den eingesetzten Caspofungin-Konzentrationsstufen.

4.2.7 Zusammenfassung des Resistenzverhaltens der Spezies

4.2.7.1 *Candida albicans*

In der In-Vitro-Testung erwiesen sich Amphotericin B, Flucytosin, Voriconazol und Caspofungin als gut wirksame Antimykotika gegenüber *C. albicans*. Itraconazol wies nach meinen Ergebnissen einen hohen Anteil (57,0%) dosisabhängig sensibler Isolate auf.

4.2.7.2 *Candida glabrata*

Amphotericin B erwies sich in der In-Vitro-Testung als uneingeschränkt wirksames Antimykotikum. Auch Flucytosin, Fluconazol und Voriconazol zeigten - mit kleinen Einschränkungen - gute Wirksamkeit bei *C. glabrata*. Deutliche Schwächen offenbarten sich bei Caspofungin und Itraconazol mit 27,5% bzw. 58,3% resistenten Isolaten.

4.2.7.3 *Candida tropicalis*

In der In-Vitro-Testung erwiesen sich Amphotericin B, Fluconazol und Voriconazol als uneingeschränkt wirksame Antimykotika bei *C. tropicalis*. Mit Einschränkungen (15,0% dosisabhängig sensibel) traf dies auch für Caspofungin zu. Deutliche Schwächen zeigten Flucytosin (57,5% resistente Isolate) und Itraconazol (80,0% S-DD; 10,0% resistent).

4.2.7.4 *Candida parapsilosis*

Amphotericin B war das einzige Antimykotikum, das uneingeschränkt bei *C. parapsilosis* wirksam war. In absteigender Reihenfolge wurden die folgenden Antimykotika sensibel getestet: Fluconazol (97,1%), Flucytosin und Voriconazol (je 94,3%), Caspofungin (88,6%) und Itraconazol (11,4%). Die verbliebenen 11,4% der *C. parapsilosis*-Isolate waren gegenüber Caspofungin resistent. Gegenüber Itraconazol bestand eine vorwiegend dosisabhängige Sensibilität (82,9%).

4.2.7.5 *Candida krusei*

In der In-Vitro-Testung erwiesen sich Amphotericin B und Voriconazol als uneingeschränkt wirksame Antimykotika bei *C. krusei*. Deutlich schwächer war Caspofungin (78,2% sensible Isolate; 6,9% Resistenzen). Überwiegend dosisabhängige/intermediäre Wichtung zeigte sich bei Fluconazol (70,6%), Flucytosin (82,4%)

und Itraconazol (94,1%). Zusammen mit dem hohen Anteil resistenter *C. krusei* (11,8%) ließ sich aus der In-Vitro-Perspektive eine mangelnde Wirksamkeit des Flucytosins bei dieser Spezies ableiten.

Tabelle 4.14: Zusammenfassung der Empfindlichkeitstestung bei den fünf häufigsten Candida-Spezies. Zur Darstellung kamen die MHK_{50}- und MHK_{90}-Werte, der MHK-Bereich sowie die Anteile (%) sensibler, intermediärer bzw. dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber allen getesteten Antimykotika.

Spezies/ Antimykotikum	MHK_{50} [µg/ml]	MHK_{90} [µg/ml]	MHK-Bereich [µg/ml]	Anteil (%) der Isolate		
				S	S-DD/I	R
C. albicans (n=409)						
Amphotericin B	0,5	1	0,125 - 1	100,0		0,0
Flucytosin	<0,125	0,125	<0,125 - >64	98,0	0,5	1,5
Fluconazol	0,25	0,25	<0,25 - >128	99,5	0,2	0,2
Itraconazol	0,25	0,25	0,0313 - >16	41,8	57,0	1,2
Voriconazol	0,0312	0,0313	<0,0313 - 2	99,8	0,2	0,0
Caspofungin	0,0625	0,125	<0,0313 - 0,5	99,3	0,7	0,0
C. glabrata (n=120)						
Amphotericin B	1	1	0,5 -1	100,0		0,0
Flucytosin	<0,125	<0,125	<0,125 - >64	96,7	0,0	3,3
Fluconazol	4	8	0,25 - 64	90,8	3,3	5,8
Itraconazol	1	2	0,125 - 16	2,5	39,2	58,3
Voriconazol	0,0625	0,25	<0,0313 - 2	95,8	4,2	0,0
Caspofungin	0,125	0,25	0,0625 - 0,5	9,2	63,3	27,5
C. tropicalis (n=40)						
Amphotericin B	1	1	0,5 - 1	100,0		0,0
Flucytosin	>64	>64	<0,125 - >64	42,5	0,0	57,5
Fluconazol	0,25	1	<0,25 - 2	100,0	0,0	0,0
Itraconazol	0,25	1	0,125 - 1	10,0	80,0	10,0
Voriconazol	0,0313	0,0625	<0,0313 - 0,125	100,0	0,0	0,0
Caspofungin	0,125	0,5	0,0625 - 0,5	85,0	15,0	0,0
C. parapsilosis (n=35)						
Amphotericin B	1	1	0,5 - 1	100,0		0,0
Flucytosin	0,125	1	<0,125 - >64	94,3	0,0	5,7
Fluconazol	1	4	<0,25 - 32	97,1	2,9	0,0
Itraconazol	0,25	0,5	0,125 - >16	11,4	82,9	5,7
Voriconazol	0,0313	0,125	<0,0313 - 8	94,3	0,0	5,7
Caspofungin	1	16	0,25 - >16	88,6	0,0	11,4
C. krusei (n=17)						
Amphotericin B	1	1	0,5 - 1	100,0		0,0
Flucytosin	8	32	<0,125 - 32	5,9	82,4	11,8
Fluconazol	16	16	0,25 - 32	29,4	70,6	0,0
Itraconazol	0,5	0,5	0,25 - 1	0,0	94,1	5,9
Voriconazol	0,125	0,25	<0,0313 - 0,5	100,0	0,0	0,0
Caspofungin	0,5	0,5	0,25 - 0,5	35,3	64,7	0,0
alle Isolate (n=648)						
Amphotericin B	0,5	1	0,125 - 1	100,0		0,0
Flucytosin	<0,125	1	<0,125 - >64	91,5	2,6	5,9
Fluconazol	0,25	4	<0,25 - >128	95,8	2,9	1,2
Itraconazol	0,25	1	0,0313 - >16	28,5	58,8	12,7
Voriconazol	0,0313	0,125	<0,0313 - 8	98,8	0,9	0,3
Caspofungin	0,125	0,5	<0,0313 - >16	78,2	14,8	6,9

4.2.8 Wirksamkeitsvergleiche/ Kreuzempfindlichkeit

4.2.8.1 Amphotericin B

95,8% (n=623) der Isolate wurden gegenüber Amphotericin B, als auch Fluconazol sensibel getestet. Amphotericin B-Resistenzen wurden nicht detektiert. 8 Isolate (1,2%) zeigten aber eine isolierte Fluconazol-Resistenz. Diese gehörten allesamt der Spezies *C. glabrata* an.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Amphotericin B und Fluconazol wurde für die MHK aller Isolate in Abbildung 4.11 dargestellt.

Amphotericin B												
> 16												
16												
8												
4												
2												
1	21	59	19	35	29	42	11	14	5	6		
0,5	127	190	24	15	10	18	5			1		1
0,25	7	4	2	1	2		1					
0,125	1											
0,0625												
0,0313												
< 0,0313												
[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
												Fluconazol

Abb 4.11: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Amphotericin B gegen Fluconazol: Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD- (gelb) und R-Bereich (rot). 8 Isolate (1,2%) wiesen eine isolierte Fluconazolresistenz auf. Es existierten keine Resistenzen gegenüber Amphotericin B.

4.2.8.2 Flucytosin

89,7% (n=583) der Isolate wurden gegenüber Flucytosin und Fluconazol sensibel getestet. 13 Isolate (2,0%) zeigten eine dosisabhängige Sensibilität gegenüber beiden Antimykotika, wobei 11 (84,6%) der Spezies *C. krusei* zuzuordnen waren. 8 Isolate waren gegenüber Fluconazol resistent, gegenüber Flucytosin jedoch sehr empfindlich (MHK bis 0,125 µg/ml). 7 Dieser Isolate waren *C. glabrata*. 36 Isolate waren gegenüber Flucytosin resistent, gegenüber Fluconazol jedoch sensibel. 23 dieser Isolate (63,9%) waren der Spezies *C. tropicalis* zuzuordnen. Isolate, die gegen beide Antimykotika gleichermaßen resistent waren, wurden nicht detektiert.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Flucytosin und Fluconazol wurde für die MHK aller Isolate in Abbildung 4.12 dargestellt. Ein linearer Zusammenhang war nicht erkennbar.

Flucytosin												
> 64	3	12	10	5	3	1	1	1				
64												
32							1		1			
16								3				
8							4	10				
4	1				2		1					
2				1	1							
1		1		1		1	1					
0,5	2	7		1	1		1					
0,25	9	12	1									
0,125	14	23	10	8		1	2					1
< 0,125	127	198	24	35	34	57	6		4	7		
[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
												Fluconazol

Abb 4.12: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Flucytosin gegen Fluconazol: Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD-/I- (gelb) und R-Bereich (rot). 583 Isolate (89,7%) waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel. Im gemeinsamen S-DD-/I-Bereich fand sich vorwiegend *C. krusei.* Isolierten Fluconazol-Resistenzen lag zumeist *C. glabrata* zugrunde. Hingegen wurden isolierte Flucytosin-Resistenzen häufig bei *C. tropicalis* beobachtet. Ein Zusammenhang zwischen den MHK beider Wirkstoffe war nicht erkennbar.

4.2.8.3 Voriconazol

95,7% (n=622) der Isolate wurden gegenüber Voriconazol und Fluconazol sensibel getestet. 1 Isolat (*C. parapsilosis*) war isoliert gegenüber Voriconazol resistent, 3 Isolate (*C. glabrata*) waren isoliert gegenüber Fluconazol resistent, zeigten jedoch erhöhte MHK für Voriconazol. Isolate, die gegen beide Antimykotika gleichermaßen resistent waren, wurden nicht detektiert.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Voriconazol und Fluconazol wurde für die MHK aller Isolate in Abbildung 4.13 dargestellt. Hier zeichnete sich auch ein linearer Zusammenhang ab, der auf eine Azol-Kreuzempfindlichkeit schließen lässt .

Voriconazol												
> 16												
16												
8							1					
4									1			
2									1	4		1
1									1	2		
0,5								2	1	1		
0,25			1			5	6	5	1			
0,125		4	2	5	8	33	6	7				
0,0625	1	2	11	15	14	19	4					
0,0313	19	106	15	21	17	2						
< 0,0313	136	141	16	10	2	1						
[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
												Fluconazol

Abb 4.13: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Voriconazol gegen Fluconazol: Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD- (gelb) und R-Bereich (rot). 622 Isolate (95,7 %) waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel. Zwischen den MHK beider Wirkstoffe scheint ein linearer Zusammenhang i.S. einer Kreuzempfindlichkeit zu bestehen.

4.2.8.4 Itraconazol

28,5% (n=185) der Isolate wurden gegenüber Itraconazol und Fluconazol sensibel getestet. 8 Isolate (1,2%; davon 7 *C. glabrata*) waren sowohl gegenüber Itraconazol als auch Fluconazol resistent. 69 Isolate (10,6%; davon 59 *C. glabrata*) wurden gegenüber Fluconazol sensibel getestet, fielen jedoch bei Itraconazol in den resistenten Bereich. Im Gegenzug existierten keine Itraconazol sensiblen Stämme mit Fluconazol-Resistenz.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Itraconazol und Fluconazol wurde für die MHK aller Isolate in Abbildung 4.14 dargestellt. Auch hier zeichnete sich ein linearer Zusammenhang ab, der auf eine Kreuzempfindlichkeit zwischen beiden Azolen schließen lässt. Der Ordinaten-Schnittpunkt lag in diesem Falle jedoch etwas höher als bei der Voriconazol/Fluconazol-Grafik und ließ relativ höhere Itraconazol-MHK erkennen.

Itraconazol												
> 16		1							1			
16										2		
8										1		
4									2	1		
2				1		8	2	1	1	3		
1		1	3	6	16	28	3	1				1
0,5	5	12	15	23	19	22	8	9	1			
0,25	72	148	19	16	5	1	4	3				
0,125	65	74	8	4	1	1						
0,0625	13	16		1								
0,0313	1	1										
< 0,0313												
[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
												Fluconazol

Abb 4.14: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Itraconazol gegen Fluconazol: Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD- (gelb) und R-Bereich (rot). Insgesamt 8 Isolate (1,2%) waren gegenüber Itraconazol und Fluconazol resistent. 185 Isolate (28,5%) waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel. Auch hier scheint ein linearer Zusammenhang i.S. einer Kreuzempfindlichkeit zwischen den MHK beider Wirkstoffe zu bestehen, wobei (zu Voriconazol) relativ höhere Itraconazol-MHK (Ordinatenschnittpunkt) bestanden.

4.2.8.5 Caspofungin

94,6% (n=441) der Isolate von *C. albicans*, *C.tropicalis* und *C. krusei* waren sowohl gegenüber Caspofungin als auch Fluconazol sensibel. Gegen beide Antimykotika resistente Isolate gab es unter den o.g. Spezies nicht. 11 Isolate (2,4%; davon 6 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei* und 2 *C. albicans*) wurden gegenüber Caspofungin intermediär getestet, gegenüber Fluconazol jedoch sensibel. 4 Isolate (0,9%; 4 *C. krusei*) fielen

bei Fluconazol in den S-DD-, bei Caspofungin jedoch in den sensiblen Bereich. Auch bei den 9 gegenüber beiden Antimykotika eingeschränkt sensiblen Isolaten handelte es sich größtenteils um *C. krusei* (n=8). Das eine gegenüber Fluconazol resistente Isolat wurde der Spezies *C. albicans* zugeordnet.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Caspofungin und Fluconazol wurde für die MHK von *C. albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* in Abbildung 4.15 dargestellt.

Caspofungin *C. albicans/ tropicalis/ krusei*

> 16												
16												
8												
4												
2												
1												
0,5	1	4	3		1		2	9				
0,25	4	15	2	3		3	3	3	1			
0,125	57	101	18	6	2	4	1					1
0,0625	69	103	7	3	1	1						
0,0313	16	17	1									
< 0,0313	2	2										
[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128

Fluconazol

Abb 4.15: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Caspofungin gegen Fluconazol bei *C. albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* (n_{ges}=466): Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD-/I- (gelb) und R-Bereich (rot). 441 Isolate (94,6%) waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel. Der gemeinsame S-DD-/I-Bereich wurde größtenteils von *C. krusei* bestimmt.

9,2% (n=11) der Isolate von *C. glabrata* waren gegenüber Caspofungin und Fluconazol sensibel. 2 Isolate (1,6%) wiesen gegenüber beiden eine Resistenz auf. 20 Vertreter (bzw. 68) dieser Spezies wurden resistent (bzw. intermediär) gegenüber Caspofungin eingestuft, gegenüber Fluconazol jedoch sensibel. Gegenüber Fluconazol resistente Isolate, die zugleich Caspofungin empfindlich waren, existierten nicht.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Caspofungin und Fluconazol wurde für die MHK von *C. glabrata* in Abbildung 4.16 dargestellt.

Caspofungin *C. glabrata*

[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
> 16												
16												
8												
4												
2												
1												
0,5						1						
0,25				2	7	16	4		1	2		
0,125		1	1	12	20	31	3	1	2	5		
0,0625		1		5	4	1						
0,0313												
< 0,0313												

Fluconazol

Abb 4.16: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Caspofungin gegen Fluconazol bei *C. glabrata* (n_{ges}=120): Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD-/I- (gelb) und R-Bereich (rot). Lediglich 11 Isolate (9,2 %) waren gegenüber beiden Isolaten sensibel. 2 Isolate wiesen eine Resistenz gegen beide Antimykotika auf.

34 Isolate (81,0%) der Spezies *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii* (81,0%) wurden gegenüber beiden Antimykotika sensibel getestet. 7 Isolate (16,7%; 3 *C. guilliermondii*, 4 *C. parapsilosis*) zeigten beim Caspofungin maximale MHK, waren zugleich jedoch gegenüber Fluconazol sensibel. Die umgekehrte Kombination existierte nicht, jedoch fand sich ein *C. parapsilosis* im S-DD-Bereich von Fluconazol bei sensiblem Caspofunginstatus.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Caspofungin und Fluconazol wurde für die MHK von *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii* in Abbildung 4.17 dargestellt.

Caspofungin *C. parapsilosis/ guilliermondii*

[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
> 16			1	4		1	1					
16												
8												
4												
2	1			3		1						
1		2	4	5	1							
0,5			6	5	2	1			1			
0,25		1		1	1							
0,125												
0,0625												
0,0313												
< 0,0313												

Fluconazol

Abb 4.17: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Caspofungin gegen Fluconazol bei *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii* (n_{ges}=42): Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD-/I- (gelb) und R-Bereich (rot). 34 Isolate (81,0%) wurden gegenüber beiden Antimykotika sensibel getestet. Trotz teils sehr hoher Caspofungin-MHK existierten keine Fluconazol-resistenten *C. glabrata.*

72,7% (n=16) der verbliebenen Spezies war sowohl gegenüber Caspofungin als auch Fluconazol sensibel. Isolate die gegenüber beiden Antimykotika resistent waren, existierten nicht. Insgesamt 5 Isolate (22,7%; 3 *Cr. neoformans*, 1 *G. capitatum*, 1 *T. asahii*) dieser Gruppe wiesen eine Caspofunginresistenz bei gleichzeitiger Fluconazolsensibilität auf.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Caspofungin und Fluconazol wurde für die MHK der verbliebenen seltenen Spezies in Abbildung 4.18 dargestellt.

Caspofungin andere *Candida spp.*

[µg/ml]	< 0,25	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
> 16			1		1							
16					1							
8		1										
4				1								
2												
1		1										
0,5	1		1									
0,25	3	1					3					
0,125	1	1						1				
0,0625	1	1										
0,0313				1								
< 0,0313		1										

Fluconazol

Abb 4.18: Streudiagramm zum Wirksamkeitsvergleich von Caspofungin gegen Fluconazol aller verbleibender *C. spp.* (n_{ges}=22): Die gestrichelten Linien markieren die Grenzen zum S-DD-/I- (gelb) und R-Bereich (rot). 16 Isolate (72,7%) waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel. Trotz teils hoher Caspofungin-MHK existierten keine Fluconazol-resistenten Stämme.

4.2.8.6 Zusammenfassung

Der Blick auf die einzelnen Diagramme zeigte für die Azole Itraconazol bzw. Voriconazol gegen Fluconazol Punkteverteilungen mit linearem positiven Anstieg. Beide Verteilungen entsprachen damit einer Kreuzempfindlichkeit innerhalb dieser Stoffgruppe. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Kurven bestand in der Lage der gedachten Schnittstelle mit der y-Achse: Diese lag bei Itraconazol vergleichsweise höher als bei Voriconazol und implizierte eine geringere therapeutische Potenz des Itraconazols. Eine besondere Diskrepanz zeigte sich zwischen Fluconazol und Itraconazol bei *C. glabrata.*

4.3 Besonderheiten

4.3.1 Länderspezifische Besonderheiten

Insgesamt beteiligten sich zum Zeitpunkt der Datenerfassung bereits 62 Labore am MykoLabNet. Im bearbeiteten Zeitraum zwischen 2005 und 2006 sandten 43 dieser Labore aus 15 Bundesländern Isolate ein. 30 von ihnen waren auf dem Gebiet der alten Bundesländer, 11 auf dem Gebiet der Neuen Bundesländer und 2 in - der einst geteilten Stadt - Berlin beherbergt.
Im Folgenden wurden Speziesverteilungen und Empfindlichkeiten gegenüber den sechs untersuchten Antimykotika für alte wie auch neue Bundesländer vergleichend untersucht und in den Tabellen 4.15 und 4.16 dargestellt. Der Einfluss institutionsspezifischer Besonderheiten (vgl. Kapitel 4.3.2) fiel dabei - durch das nahezu gleiche Einsendeverhältnis von Universitätskliniken zu peripheren Kliniken bzw. Praxen in beiden Bundesgebieten (NBL=64/45≈1,42; ABL=280/188≈1,49) - gering aus.

Bei der Untersuchung der Speziesverteilung zeigte sich, dass der Anteil an *C. albicans* mit 63,1% in den alten Bundesländern verglichen mit den Neuen Bundesländern (60,3%) fast 3% höher lag. *C. glabrata* und *C. tropicalis* traten in den Neuen Bundesländern (19,0% bzw. 7,9%) etwas häufiger auf als in den alten Bundesländern (18,0% bzw. 5,4%). Im Gegenzug lagen die Anteile an *C. parapsilosis* und *C. krusei* in den alten Bundesländern mit 5,4% und 2,9% über denen der neuen Bundesländer (4,8% und 1,6%). Seltenere Spezies hatten in den neuen Bundesländern einen mit 6,3% etwas höheren Gesamtanteil als in den alten Bundesländern (5,4%).

Tabelle 4.15: Bundeslandspezifische Speziesverteilung. In der äußersten linken Spalte finden sich die 15 einzelnen Bundesländer (keine Einsendungen aus Bremen). Die neuen Bundesländer (NBL) sind grau unterlegt, die alten Bundesländer (ABL) wurden nicht unterlegt. In den letzten beiden Zeilen befinden sich die jeweiligen Spezies-Summationen für die alten wie auch neuen Bundesländer. Berlin, mit rosa Struktur-Unterlegung, ging als einst geteilte Stadt weder in die Summation der ABL noch der NBL ein. Die zweite Spalte spiegelt jeweils die Anzahl der an den Einsendungen beteiligten Institutionen wider. In den Spalten befinden sich die einzelnen Spezies mit ihren absoluten und relativen Anteilen an den Gesamteinsendungen (=ges.) der Länder.

		C. albicans		*C. glabrata*		*C. tropicalis*		*C. parapsilosis*		*C. krusei*		sonstige	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Berlin	2	3	37,5	2	25,0	2	25,0	1	12,5	0	0,0	0	0,0
Brandenburg	2	2	50,0	1	25,0	0	0,0	1	25,0	0	0,0	0	0,0
Baden-Württemberg	2	3	75,0	1	25,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Bayern	6	32	61,5	9	17,3	2	3,8	4	7,7	2	3,8	3	5,8
Hessen	2	22	61,1	5	13,9	4	11,1	1	2,8	2	5,6	2	5,6
Hamburg	1	1	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	50,0
Mecklenburg-Vorpommern	2	34	59,6	13	22,8	1	1,8	3	5,3	1	1,8	5	8,8
Niedersachsen	2	27	65,9	3	7,3	5	12,2	2	4,9	1	2,4	3	7,3
Nordrhein-Westfalen	11	148	68,5	36	16,7	10	4,6	11	5,1	5	2,3	6	2,8
Rheinland-Pfalz	3	57	60,0	17	17,9	4	4,2	8	8,4	3	3,2	6	6,3
Sachsen	2	9	56,3	3	18,8	4	25,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Sachsen-Anhalt	1	10	66,7	1	6,7	2	13,3	0	0,0	0	0,0	2	13,3
Schleswig-Holstein	2	8	42,1	9	47,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	10,5
Saarland	1	32	55,2	14	24,1	3	5,2	2	3,4	2	3,4	5	8,6
Thüringen	4	21	61,8	6	17,6	3	8,8	2	5,9	1	2,9	1	2,9
ABL	***30***	***330***	***63,1***	***94***	***18,0***	***28***	***5,4***	***28***	***5,4***	***15***	***2,9***	***28***	***5,4***
NBL	***11***	***76***	***60,3***	***24***	***19,0***	***10***	***7,9***	***6***	***4,8***	***2***	***1,6***	***8***	***6,3***

Auch bezüglich der Resistenzdaten ergaben sich für die meisten Antimykotika Unterschiede zwischen Isolaten der alten und neuen Bundesländer die im Folgenden dargestellt werden.

Gegenüber Amphotericin B waren alle untersuchten Isolate (100,0%) beider Bundesgebiete gleichermaßen sensibel.

Auch gegenüber Flucytosin waren die meisten Isolate sensibel (ABL 91,9 %; NBL 91,1%). In den NBL fanden sich mit einem Anteil von 8,1% mehr resistente Isolate als in den ABL (5,2%). Diese Verschiebung hin zu resistenteren Isolaten spiegelte sich auch in den MHK_{90} wider (0,5 µg/ml in den ABL und 4,0 µg/ml in den NBL). Die Empfindlichkeit von *C. tropicalis* (30,0%) lag in den NBL unter denen der ABL (46,5%). *C. glabrata* war dagegen in den NBL (100,0%) empfindlicher gegenüber Flucytosin als in den ABL (97,5%).

Die Empfindlichkeit gegenüber Fluconazol war in beiden Bundesgebieten mit 95,9% hoch. Eine niedrigere Empfindlichkeit ergab sich u.a. für *C. glabrata* in den NBL (87,0%) verglichen mit Isolaten aus den ABL (91,5%).

Auch gegenüber Itraconazol waren die Gesamtempfindlichkeiten von ABL (28,5%) und NBL (30,9%) vergleichbar. Auffällig war jedoch die Tatsache, dass für *C. glabrata* (73,9%) und *C. tropicalis* (10,0%) die Anteile resistenter Isolate in den NBL deutlich über denen der ABL (55,3% bzw. 7,1%) lagen.

Die meisten Isolate waren - Bundesgebiet unabhängig - gegenüber Voriconazol sensibel (ABL 98,8%; NBL 99,2%). Bei *C. glabrata* zeigte sich eine mit 94,7% geringere Empfindlichkeit in den ABL, verglichen mit uneingeschränkter Empfindlichkeit in den NBL.

Die Empfindlichkeit gegenüber Caspofungin war in beiden Bundesgebieten gleich hoch (ABL 78,5%; NBL 78,4%).

Tabelle 4.16: Zusammenfassung der Resistenzlage der alten (ABL) und neuen (NBL) Bundesländer. Zur Darstellung kamen die MHK_{50} und MHK_{90}-Werte, deren MHK-Bereich sowie die relativen Häufigkeiten (%) sensibler, intermediärer bzw. dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber den getesteten Antimykotika.

Antimykotikum/*Spezies*	MHK_{50}[µg/ml]		MHK_{90}[µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate			
							S		R	
Amphotericin B	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL
C. albicans nABL/nNBL 330/76	0,5	0,5	1	1	0,125 - 1	0,25 - 1	100	100	0,0	0,0
C. glabrata nABL/nNBL 94/24	1	1	1	1	0,5 - 1	0,5 - 1	100	100	0,0	0,0
C. tropicalis nABL/nNBL 28/10	1	1	1	1	0,5 - 1	0,5 - 1	100	100	0,0	0,0
C. parapsil. nABL/nNBL 28/6	1	1	1	1	0,5 - 1	1 - 1	100	100	0,0	0,0
C. krusei nABL/nNBL 15/2	1	1	1	1	0,5 - 1	1 - 1	100	100	0,0	0,0
alle Isolate nABL/nNBL 516/125	0,5	0,5	1	1	0,125 - 1	0,25 - 1	100	100	0,0	0,0

	[MHK_{50}[µg/ml]		MHK_{90}[µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate					
							S		S-DD/I		R	
Flucytosin	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL
C. albicans	<0,125	<0,125	0,25	0,125	<0,125 - >64	<0,125-64	98,2	97,4	0,6	0,0	1,2	2,6
C. glabrata	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125 - >64	<0,125 - <0,125	95,7	100	0,0	0,0	4,3	0,0
C. tropicalis	>64	>64	>64	>64	<0,125 - >64	<0,125 - >64	46,4	30,0	0,0	0,0	53,6	70,0
C. parapsil.	0,125	<0,125	1	1	<0,125 - >64	<0,125 - 1	92,9	100	0,0	0,0	7,1	0,0
C. krusei	8	8	32	8	<0,125 - 32	8 - 8	6,7	0,0	80,0	100	13,3	0,0
alle Isolate	<0,125	<0,125	0,5	4	<0,125 - >64	<0,125 - >64	91,9	91,1	2,9	0,8	5,2	8,1
Fluconazol												
C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,5	<0,25 - >128	<0,25 - 4	99,4	100	0,3	0,0	0,3	0,0
C. glabrata	4	4	8	32	0,25 - 64	1 - 64	91,5	87,0	2,1	8,7	6,4	4,3
C. tropicalis	1	0,5	>128	1	0,25 - >128	<0,25 - 1	100	100	0,0	0,0	0,0	0,0
C. parapsil.	1	1	2	32	<0,25 - 4	0,25 - 32	100	83,3	0,0	16,7	0,0	0,0
C. krusei	16	16	16	16	0,25 - 32	16 - 16	33,3	0,0	66,7	100	0,0	0,0
alle Isolate	0,25	0,25	4	4	<0,25 - >128	<0,25 - 64	95,9	95,9	2,7	3,3	1,4	0,8
Itraconazol												
C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,25	0,0313- >16	0,0313 - 1	41,2	46,1	57,6	52,6	1,2	1,3
C. glabrata	1	1	2	2	0,125 - 16	0,25 - 16	3,2	0,0	41,5	26,1	55,3	73,9
C. tropicalis	0,5	0,25	16	1	0,125 - >16	0,125 - 1	10,7	10,0	82,1	80,0	7,1	10,0
C. parapsil.	0,25	0,25	0,5	16	0,125 - 0,5	0,125 - >16	7,1	33,3	92,9	50,0	0,0	16,7
C. krusei	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25 - 1	0,5 - 0,5	0,0	0,0	93,3	100	6,7	0,0
alle Isolate	0,25	0,25	1	1	0,0313- >16	0,0313- >16	28,5	30,9	60,1	52,8	11,4	16,3

Antimykotikum/*Spezies*	[MHK$_{50}$[µg/ml]		MHK$_{90}$[µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate					
							S		S-DD/I		R	
Voriconazol	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL	ABL	NBL
C. albicans	< 0,0313	< 0,0313	0,0313	0,0313	<0,0313-2	<0,0313-0,25	99,7	100	0,3	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	0,125	0,0625	0,25	0,5	<0,0313-2	<0,0313-1	94,7	100	5,3	0,0	0,0	0,0
C. tropicalis	0,125	0,0625	8	0,0625	0,0313->16	<0,0313-0,0625	100	100	0,0	0,0	0,0	0,0
C. parapsil.	0,0313	0,0313	0,0625	4	<0,0313-0,25	<0,0313-4	100	83,3	0,0	0,0	0,0	16,7
C. krusei	0,125	0,25	0,25	0,25	<0,0313-0,5	0,25 - 0,25	100	100	0,0	0,0	0,0	0,0
alle Isolate	0,0313	0,0313	0,125	0,125	<0,0313->16	<0,0313-4	98,8	99,2	1,2	0,0	0,0	0,8
Caspofungin												
C. albicans	0,0625	0,125	0,125	0,125	<0,0313-0,5	0,0313 - 0,25	99,1	100	0,9	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	0,125	0,125	0,25	0,25	0,0625 - 0,5	0,0625 - 0,25	10,6	4,2	66,0	58,3	23,4	37,5
C. tropicalis	0,25	0,125	1	0,5	0,0625 - >16	0,0625 - 0,5	82,1	90,0	17,9	10,0	0,0	0,0
C. parapsil.	1	1	2	16	0,25 - >16	0,5 - >16	92,9	83,3	92,9	0,0	7,1	16,7
C. krusei	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25 - 0,5	0,5 - 0,5	40,0	0,0	60,0	100	0,0	0,0
alle Isolate	0,125	0,125	0,5	0,25	<0,0313->16	0,0313->16	78,5	78,4	15,3	13,6	6,2	8,0

4.3.2 Institutionsspezifische Besonderheiten

Die Isolate entstammten nicht nur unterschiedlichen Regionen, sondern auch Einrichtungen verschiedener Versorgungsstufen und Funktion. So fanden sich unter den aktiven Einsendern 18 Universitätskliniken, 12 periphere Kliniken, 7 Praxen, 5 Behörden sowie ein Bundeswehrkrankenhaus. Nachfolgend wurden diese Kategorien hinsichtlich Unterschieden in Speziesverteilung und Empfindlichkeiten gegenüber den sechs getesteten Antimykotika untersucht und in den Tabellen 4.17 und 4.18 dargestellt.

Augenscheinlich war ein mit 55,9% (n=195) erniedrigter *C. albicans*-Anteil an Universitätskliniken. Dieser lag an peripheren Kliniken und Praxen (67,4%; n=159) um 11,5% höher. Bei den Laboren der Behörden war diese Spezies sogar mit 74,1% (n=43) vertreten.

Im Gegenzug war der NAC-Anteil an Universitätskliniken erhöht. *C. glabrata* trat zu 20,6% auf, wohingegen in Praxen (14,8%) und nicht universitären Häusern (16,8%) dieser Anteil fast 5% geringer ausfiel. Auch andere Non-albicans-Spezies. - mit Ausnahme von *C. tropicalis* – waren fernab der Universitätskliniken seltener anzutreffen.

C. tropicalis trat mit 8,1% im niedergelassenen Bereich und 6,9% bei Behörden häufiger auf als an Universitätskliniken (6,0%) oder peripheren Häusern (4,0%).

Seltene Spezies sind an Universitätskliniken häufiger anzutreffen (7,2%) als an anderen Institutionen (0 - 4,7%).

Tabelle 4.17: Institutionsspezifische Besonderheiten der Speziesverteilung. Auffällig erschien ein mit 55,9% an Universitätskliniken - verglichen mit anderen Institutionen - niedriger *C. albicans*-Anteil. Im Gegenzug traten seltene Hefespezies - mit einem Anteil von 7,2% - an Universitätskliniken häufiger in Erscheinung als an den anderen Institutionen.

	Universitätskliniken		periphere Kliniken und Laborpraxen		Behörden und Bundeswehrkrankenhaus	
	n	%	n	%	n	%
C. albicans	195	55,9	159	67,4	55	76,4
C. glabrata	72	20,6	37	15,7	11	15,3
C. tropicalis	21	6,0	15	6,4	4	5,6
C. parapsilosis	23	6,6	10	4,2	2	2,8
C. krusei	13	3,7	4	1,7	0	0,0
Sonstige	25	7,2	11	4,7	0	0,0
gesamt	**349**		**236**		**72**	

Im Folgenden wurde die Resistenzlage - vergleichend für Universitätskliniken und periphere Kliniken/ Laborpraxen - dargestellt.

Gegenüber Amphotericin B wurden sowohl an Universitätskliniken als auch an peripheren Häusern/Laborpraxen keine Resistenzen beobachtet.

Die Empfindlichkeit gegenüber Flucytosin lag an peripheren Häusern/Laborpraxen mit 93,5% über der von Universitätskliniken (90,7%). Dies war im Wesentlichen auf den erhöhten Anteil resistenter *C. tropicalis*-Isolate an Universitätskliniken (61,9%) zurückzuführen.

Auch gegenüber Fluconazol klafften die Empfindlichkeiten aller Isolate von Universitätskliniken (93,6%), verglichen mit den Isolaten peripherer Kliniken/ Laborpraxen (98,3%), auseinander. Erhebliche Unterschiede zeigten sich bei *C. glabrata*: So waren 97,3% dieser Isolate aus peripheren Häusern/ Laborpraxen sensibel, wohingegen dieser Anteil an Universitätskliniken nur 87,5% betrug. Der Anteil resistenter *C. glabrata* lag entsprechend mit 8,3% an Universitätskliniken vergleichsweise hoch.

Gegenüber Itraconazol lag der Anteil sensibler Isolate mit 29,9% (Universitätskliniken) bzw. 30,6% (periphere Kliniken und Laborpraxen) in einem vergleichbaren Bereich. Auffällig war eine mit 41,5% geringere Empfindlichkeit von *C. albicans* an peripheren Kliniken/ Laborpraxen, verglichen mit einem Anteil von 48,2% an Universitätskliniken. Ein weiteres Phänomen stellte *C. tropicalis* dar: An peripheren Häusern/ Laborpraxen traten sowohl sensible (13,3%) als auch resistente (13,3%) Isolate häufiger in Erscheinung als an Universitätskliniken (9,5% (S) und 4,8% (R)).

Auch gegenüber Voriconazol waren die meisten Isolate institutionsunabhängig (Universitätskliniken 98,3%; periphere Kliniken/ Laborpraxen 99,1%) sensibel. Eine Differenz der Empfindlichkeiten fand sich aber beispielsweise bei *C. glabrata*: Hier lag der Anteil empfindlicher *C. glabrata*-Isolate an peripheren Kliniken/ Laborpraxen mit 97,3% über dem der Universitätskliniken (94,4%).

Der Anteil Caspofungin-resistenter Isolate war vergleichbar zwischen Universitätskliniken (7,0%) und peripheren Kliniken/ Praxen (7,3%). Allerdings war an den Häusern der Maximalversorgung - verglichen mit peripheren Kliniken und Praxen - eine Verschiebung aus dem sensiblen (75,7% vs. 80,2%) in den intermediären Bereich (17,4% vs. 12,5%) zu beobachten. Verantwortlich für diese Verschiebung war der universitär höhere Anteil intermediärer *C. tropicalis*-Stämme (23,8% vs. 6,7% an peripheren Kliniken/ Praxen). Umgekehrt fanden sich in der Peripherie bei den

Spezies *C. glabrata* und *C. parapsilosis* höhere Anteile resistenter Isolate (32,4% und 30,0% vs. 23,6% und 4,3% im universitären Bereich). Diese Verschiebungen gingen größtenteils zu Lasten der sensiblen Bereiche (5,4% und 70,0% vs. 12,5% und 95,7% an Universitätskliniken). Auch an dieser Stelle ist zu erwähnen, dass das Gros der beschriebenen Differenzen erst mit der aktuellen Anpassung der Grenzwerte durch die CLSI in Erscheinung traten.

Tabelle 4.18: Zusammenfassung der Resistenzlage an Universitätskliniken (U) und peripheren Kliniken/ Laborpraxen (P). Zur Darstellung kamen die MHK_{50} und MHK_{90}-Werte, deren MHK-Bereich sowie relative Häufigkeiten (%) sensibler, intermediärer bzw. dosisabhängig sensibler und resistenter Isolate gegenüber den getesteten Antimykotika.

	MHK_{50}[µg/ml]		MHK_{90}[µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate			
							S		R	
Ampho-tericin B	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P
C. albicans nU/nP 195/159	0,5	0,5	1	1	0,125 - 1	0,25 - 1	100	100	0,0	0,0
C. glabrata nU/nP 72/37	1	1	1	1	0,5 - 1	0,5 - 1	100	100	0,0	0,0
C. tropicalis nU/nP 21/15	1	1	1	1	0,5 - 1	0,5 - 1	100	100	0.0	0,0
C. parapsil. nU/nP 23/10	1	1	2	2	1 - 2	1 - 2	78,3	80,0	21,7	20,0
C. krusei nU/nP 13/4	1	1	1	1	0,5 - 1	1 - 1	100	100	0,0	0,0
alle Isolate nU/nP 344/232	0,5	0,5	1	1	0,125 - 2	0,25 - 2	98,3	99,1	1,7	0,9

	MHK_{50} [µg/ml]		MHK_{90} [µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate					
							S		S-DD/I		R	
Flucytosin	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P
C. albicans	<0,125	<0,125	0,25	0,125	<0,125 - >64	<0,125 - 8	98,5	99,4	0,5	0,6	1,0	0,0
C. glabrata	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125 - >64	<0,125 - >64	98,6	97,3	0,0	0,0	1,4	2,7
C. tropicalis	>64	>64	>4	>64	<0,125 - >64	<0,125 - >64	38,1	46,7	0,0	0,0	61,9	53,3
C. parapsil.	0,125	0,125	0,5	8	<0,125 - >64	<0,125 - >64	95,7	90,0	0,0	0,0	4,3	10,0
C. krusei	8	8	32	16	<0,125 - 32	8 - 16	7,7	0,0	76,9	100	15,4	0,0
alle Isolate	<0,125	<0,125	0,125	0,25	<0,125 - >64	<0,125 - >64	90,7	93,5	3,5	2,2	5,8	4,3
Fluconazol												
C. albicans	0,25	0,25	0,5	0,25	<0,25 - >128	<0,25 - 8	99,0	100	0,5	0,0	0,5	0,0
C. glabrata	4	4	32	4	0,25 - 64	0,5 - 64	87,5	97,3	4,2	0,0	8,3	2,7
C. tropicalis	0,25	0,5	0,5	1	<0,25 - 1	<0,25 - 2	100,0	100	0,0	0,0	0,0	0,0
C. parapsil.	1	1	4	2	0,25 - 32	0,5 - 8	95,7	100	4,3	0,0	0,0	0,0
C. krusei	16	16	16	16	0,25 - 32	8 - 16	30,8	25,0	69,2	75,0	0,0	0,0
alle Isolate	0,25	0,25	4	4	<0,25 - >128	<0,25 - 64	93,6	98,3	4,3	1,3	2,0	0,4
Itraconazol												
C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,25	<0,0313 - >16	0,0313 - 2	48,2	41,5	50,3	57,2	1,5	1,3
C. glabrata	1	1	2	1	0,125 - 16	0,125 - 8	2,8	2,7	37,5	37,8	59,7	59,5
C. tropicalis	0,25	0,5	0,5	1	0,125 - 1	0,125 - 1	9,5	13,3	85,7	73,3	4,8	13,3
C. parapsil.	0,25	0,5	0,5	1	0,125 - >16	0,125 - 1	13,0	10,0	82,6	80,0	4,3	10,0
C. krusei	0,5	0,5	0,5	1	0,25 - 16	0,5 - 1	0,0	0,0	100,0	75,0	0,0	25,0
alle Isolate	0,25	0,25	1	1	0,0313 - >16	0,0313 - 8	29,9	30,6	56,2	57,3	13,9	12,1

	MHK$_{50}$ [µg/ml]		MHK$_{90}$ [µg/ml]		MHK-Bereich [µg/ml]		Anteil (%) der Isolate					
							S		S-DD/ I		R	
Voriconazol	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P
C. albicans	< 0,0313	< 0,0313	0,0313	0,0313	<0,0313 - 2	<0,0313 - 0,25	99,5	100	0,5	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	0,125	0,125	0,5	0,25	<0,0313 - 2	<0,0313 - 2	94,4	97,3	5,6	2,7	0,0	0,0
C. tropicalis	0,0313	0,0313	0,0625	0,125	<0,0313 - 0,125	<0,0313 - 0,125	100	100	0,0	0,0	0,0	0,0
C. parapsil.	0,0313	0,0313	0,0625	1	<0,0313 - 4	<0,0313 - 8	95,7	90,0	0,0	0,0	4,3	0,0
C. krusei	0,125	0,125	0,5	0,25	<0,0313 - 8	0,125 - 0,25	100	100	0,0	0,0	0,0	10,0
alle Isolate	0,0313	<0,0313	0,125	0,125	<0,0313 - 4	<0,0313 - 8	98,3	99,1	1,4	0,4	0,3	0,4
Caspofungin												
C. albicans	0,0625	0,125	0,125	0,125	<0,0313 - 0,5	<0,0313 - 0,5	99,5	98,7	0,5	1,3	0,0	0,0
C. glabrata	0,125	0,125	0,25	0,25	0,0625 - 0,25	0,0625 - 0,5	12,5	5,4	63,9	62,2	23,6	32,4
C. tropicalis	0,125	0,125	0,5	0,25	0,0625 - 0,5	0,0625 - 0,5	76,2	93,3	23,8	6,7	0,0	0,0
C. parapsil.	1	1	2	>16	0,25 - >16	0,25 - >16	95,7	70,0	0,0	0,0	4,3	30,0
C. krusei	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25 - 2	0,25 - 0,5	38,5	25,0	61,5	75,0	0,0	0,0
alle Isolate	0,125	0,125	0,5	0,25	<0,0313 - >16	<0,0313 - >16	75,7	80,2	17,4	12,5	7,0	7,3

4.3.3 Hausinterne Besonderheiten

Nachdem nun institutionsspezifische Besonderheiten dargelegt wurden, wurde die Frage untersucht, ob Einsender-spezifische „hausinterne“ Besonderheiten bestehen. Hierzu wurden jeweils die drei größten (einsendungsstärksten) Häuser aus dem universitären Bereich (beziffert als U I-III) und die drei größten (einsendungs-stärksten) Labore - mit Isolaten aus dem Bereich peripherer Kliniken (beziffert als P I-III) - ausgewählt.

Bereits bei der Betrachtung der Speziesverteilung (Tabelle 4.19) fielen starke Differenzen zwischen den verschiedenen Einsendern ins Auge. So schwankte der *C. albicans*-Anteil hausabhängig zwischen 55,2% (U II) und 81,3% (U III) um fast 26%. Ähnlich verhielt es sich mit selteneren Spezies. So differierten die Anteile von *C. glabrata* maximal um 23,6% (P II/U III), von *C. tropicalis* maximal um 5,7% (P I/U I, III oder P II) und von *C. parapsilosis* maximal um 13,5% (U I/U III). Damit verschob sich die Rangfolge der bedeutenden Spezies z.T. erheblich: An Uni I rutschte *C. parapsilosis* mit einem deutlichen prozentualen Vorsprung von 13,6% auf Rang Drei hinter *C. albicans*. *C. krusei* wurde an vier von sechs Häusern mit einem Anteil um 3% gefunden. Sehr Seltene Spezies traten mit einer relativen Häufigkeit zwischen 1,1% (P I) und 9,4% (U III) auf. Abgesehen von zwei *C. norvegensis*-Isolaten (von insgesamt drei) an einem Universitätsklinikum (U I) kam es zu keinen Häufungen bestimmter Spezies an bestimmten Häusern.

Tabelle 4.19: Speziesverteilung im Vergleich einzelner Labore. Zur Darstellung kamen die absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten der Spezies an verschiedenen Kliniken (3 Universitätskliniken U I-III und 3 periphere Kliniken P I-III). Bei *C. albicans* und *C. glabrata* waren die Schwankungsbereiche am stärksten ausgeprägt (*C. albicans:* 55,2 – 81,3%; *C. glabrata:* 3,1 – 26,7%).

	U I		U II		U III		P I		P II		P III	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
C. albicans	36	61,0	32	55,2	26	81,3	61	70,1	20	66,7	18	72,0
C. glabrata	11	18,6	14	24,1	1	3,1	14	16,1	8	26,7	3	12,0
C. tropicalis	0	0,0	3	5,2	0	0,0	5	5,7	0	0,0	1	4,0
C. parapsilosis	8	13,6	2	3,4	1	3,1	3	3,4	1	3,3	1	4,0
C. krusei	2	3,4	2	3,4	1	3,1	3	3,4	0	0,0	0	0,0
Sonstige	2	3,4	5	8,6	3	9,4	1	1,1	1	3,3	2	8,0
gesamt	**59**		**58**		**32**		**87**		**30**		**25**	

Auch die Empfindlichkeiten gegenüber den meisten Antimykotika (Tabelle 4.20) variierten zwischen den einzelnen Häusern. Amphotericin B-resistente Isolate wurden allerdings an keinem der untersuchten Häuser gefunden. Gegenüber Flucytosin schwankte der Anteil sensibler Isolate an universitären Häusern zwischen 81,3% (U III) und 94,9% (U I) und an peripheren Kliniken/Praxen zwischen 93,1% (P I) und 100,0% (P II). Ursächlich für diese Differenzen waren entweder lokalisierte Resistenzaufkommen von *C. albicans* (23,1% U III), *C. glabrata* (9,1% U I) oder *C. tropicalis* (33,3% U II und 60,0% P I). Bei Fluconazol reichten die Anteile sensibler Isolate von 93,0% (U II) bis 100,0% (U III, PII, P III). Auch hierfür waren hausspezifische Resistenzmuster mit resistenten Isolaten von *C. albicans* (2,8% U I), *C. glabrata* (14,3% UII) und dosisabhängig sensible *C. krusei* (50,0% U II; 66,7% P I) verantwortlich. Gegenüber Itraconazol schwankten die Empfindlichkeiten zwischen 21,4% (P II) und 45,6% (U II). Besonders breit gestreut waren dabei die Anteile sensibler *C. albicans* (26,9% U III vs. 71,9% U II) und resistenter *C. glabrata* (0% U III vs. 71,4% P II). Die selteneren Spezies wurden zumeist dosisabhängig sensibel getestet. Gegenüber Voriconazol reichte die Empfindlichkeit von 96,5% (U II) bis 100% (U III, P I, P II, P III). An zwei universitären Häusern fanden sich dosisabhängig sensible Isolate bei *C. albicans* (2,8% U I) oder *C. glabrata* (14,3% U II). Gegenüber Caspofungin reichte der Anteil sensibler Isolate von 73,7% (U II) bis 87,5% (U III). Große Schwankungen ergaben sich auf der Seite der Resistenzen bei *C. glabrata* (0% U III, P III vs. 57,1% P II) und *C. parapsilosis* (0% U I, U II, U III, P II, P III vs. 33,3% P I).

Tabelle 4.20: Zusammenfassung der Resistenzlage verschiedener Häuser (3 Universitätskliniken U I-III und 3 periphere Kliniken P I-III). Zur Darstellung kamen die relativen Häufigkeiten (%) sensibler und resistenter Isolate gegenüber den getesteten Antimykotika.

Antimykotikum/*Spezies*	Anteil (%) der Isolate											
	S						R					
Amphotericin B	U I	U II	U III	P I	P II	P III	U I	U II	U III	P I	P II	P III
C. albicans	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. tropicalis	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0
C. parapsil.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. krusei	100,0	100,0	100,0	100,0	Ø	Ø	0,0	0,0	0,0	0,0	Ø	Ø
alle Isolate	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Flucytosin												
C. albicans	100,0	100,0	76,9	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	23,1	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	90,9	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	9,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. tropicalis	Ø	66,7	Ø	40,0	Ø	100,0	Ø	33,3	Ø	60,0	Ø	0,0
C. parapsil.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
C. krusei	0,0	0,0	100,0	0,0	Ø	Ø	0,0	100,0	0,0	0,0	Ø	Ø
alle Isolate	94,9	93,0	81,3	93,1	100,0	95,8	1,7	5,3	18,8	3,4	0,0	4,2
Fluconazol												
C. albicans	97,2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	100,0	85,7	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	14,3	0,0	0,0	0,0	0,0
C. tropicalis	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0
C. parapsil.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. krusei	100,0	50,0	100,0	33,3	Ø	Ø	0,0	0,0	0,0	0,0	Ø	Ø
alle Isolate	98,3	93,0	100,0	97,7	100,0	100,0	1,7	3,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Itraconazol												
C. albicans	36,1	71,9	26,9	47,5	30,0	38,9	2,8	0,0	3,8	1,6	5,0	0,0
C. glabrata	9,1	7,1	0,0	7,1	0,0	0,0	27,3	42,9	0,0	64,3	71,4	66,7
C. tropicalis	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	100,0
C. parapsil.	0,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. krusei	0,0	0,0	0,0	0,0	Ø	Ø	0,0	0,0	0,0	33,3	Ø	Ø
alle Isolate	23,7	45,6	25,0	34,5	21,4	29,2	6,8	10,5	3,1	12,6	21,4	12,5
Voriconazol												
C. albicans	97,2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	100,0	85,7	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. tropicalis	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	100,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0
C. parapsil.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. krusei	100,0	100,0	100,0	100,0	Ø	Ø	0,0	0,0	0,0	0,0	Ø	Ø
alle Isolate	98,3	96,5	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Caspofungin												
C. albicans	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	94,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C. glabrata	9,1	7,1	0,0	14,3	0,0	0,0	27,3	7,1	0,0	35,7	57,1	0,0
C. tropicalis	Ø	66,7	Ø	80,0	Ø	100,0	Ø	0,0	Ø	0,0	Ø	0,0
C. parapsil.	100,0	100,0	100,0	66,7	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0
C. krusei	100,0	50,0	0,0	0,0	Ø	Ø	0,0	0,0	0,0	0,0	Ø	Ø
alle Isolate	81,4	73,7	87,5	80,5	75,0	83,3	6,8	1,8	6,3	6,9	14,3	0,0

5. Diskussion

5.1 Einführung

Die Bedeutung systemischer Pilzinfektionen hat in den vergangenen 30 Jahren deutlich zugenommen. Ein Grund hierfür sind effizientere Therapieoptionen, die einer steigenden Anzahl kritisch kranker Patienten zur Verfügung stehen. So wurde von Martin et al. 2003 für den Zeitraum zwischen 1979 und 2000 für die USA eine über 200 prozentige Zunahme der Pilzseptitiden beschrieben. Das veränderte Patientengut führte im gleichen Zug zu einem Anstieg der durch invasive Mykosen bedingten Mortalität um über 400% zwischen 1980 und 1997 (Mc Neill et al. 2001). Diese erschreckenden Zahlen belegen die Bedeutung epidemiologischer Untersuchungen, die wiederum zur Gewinnung suffizienter therapeutischer Ansätze unabdingbar sind.

Dass zum Teil erhebliche geographische Unterschiede in der Speziesverteilung und den Antimykotika-Empfindlichkeiten bestehen, zeigen die jeweiligen nationalen sowie große multinationale Studien der Global Antifungal Surveillance Group oder der European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (Pfaller und Diekema 2007, Tortorano et al. 2004).

Die erste speziell Deutschland fokussierende Epidemiologie-Studie basierte auf der Isolate-Sammlung und der Datenbank des MykoLabNet-D am NRZ für systemische Mykosen (Borg-von Zepelin et al. 2007) und umfasste einen Zeitraum von Juli 2004 bis August 2005. Die vorliegende Arbeit stellt hierzu die epidemiologische Fortsetzung dar. Die Aufarbeitung der Daten erfolgte jedoch zusätzlich aus neuen Blickwinkeln. So wurden beispielsweise (bundes-)länder- und versorgungsstufen-spezifische Besonderheiten ebenso herausgearbeitet wie - bisher kaum berücksichtigte - bakterielle und Candida-Koinfektionen. Dieses erlaubt eine subtile innerdeutsche und interinstitutionelle Betrachtungweise.

5.2 Risikofaktoren

Die meisten Risikofaktoren für IC werden in der Literatur seit fast vierzig Jahren diskutiert (Blumberg et al. 2001, Hajjeh et al. 2004, Ostrosky-Zeichner et al. 2007, Pappas et al. 2003, Stone et al. 1974, Wey et al. 1989) und sind möglicherweise entscheidender für die Prognose als die Art der isolierten Spezies (Klevay et al. 2009, Pappas et al. 2003).

Betroffen sind zumeist Patienten der Altersgruppen < 1 Lebensmonat und > 65 Lebensjahre, desweiteren solche mit hämatoonkologischen Erkrankungen, nach operativen Eingriffen am Gastrointestinaltrakt und multilokulärer Candidabesiedlung (Blumberg et al. 2001, Hajjeh et al 2004, Martino et al. 1994, Slotman et al 1994). Treten zu diesen individuellen dann noch weitere therapieimmanente Risikofaktoren hinzu, steigt die Wahrscheinlichkeit, an einer invasiven Candidose zu erkranken noch einmal deutlich an. Zu diesen therapieabhängigen Faktoren zählt in erster Linie eine prolongierte intensivmedizinische Therapie und alle damit verbundenen Interventionen wie die Anlage intravaskulärer Kathetersysteme, die invasive Respiratortherapie, die totale parenterale Ernährung, die Hämodialysetherapie und die Breitspektrumantibiose (Ostrosky-Zeichner et al. 2007). Darüber hinaus lässt jeder Zustand der Immunsuppression, z.B. sowohl durch Knochenmarksablation oder Chemotherapie als auch aufgrund von zusätzlichen Erkrankungen wie aktive HIV-Infektionen oder Diabetes mellitus – das Erkrankungsrisiko für eine IC deutlich ansteigen (Blumberg et al. 2001, Hajjeh et al. 2004, Pappas et al. 2003).

Unglücklicherweise steigt mit zunehmender Anzahl und Schwere der Begleiterkrankungen und höherem Lebensalter aber nicht nur das Risiko an einer IC zu erkranken, sondern auch an ihr zu versterben. Dies konnten Pappas und Kollegen eindrucksvoll anhand des APACHE II-Scores nachweisen: So lag die Dreimonats-Mortalität eines Patienten mit einer *C. albicans*-Candidämie bei einem APACHE II-Score von unter 11 etwas über 10%. Stieg der Score auf über 25 an, betrug die Dreimonats-Mortalität plötzlich über 70% (Pappas et al. 2003).

Dass ein gehobenes Lebensalter ein wesentlicher Risikofaktor ist, konnte auch durch die eigenen Daten untermauert werden. So waren 60,4% (n=397) der Patienten 61 Jahre oder älter und auch das Durchschnittsalter wurde auf 61 Jahre berechnet. Hämatoonkologisch erkrankte Patienten entwickeln unter laufender myelosuppressiver Therapie häufig eine Neutropenie, die seit längerem als wesentlicher

Risikofaktor für IC gilt (Goodman et al. 1992). In der eigenen Arbeit fanden sich Erkrankungen des hämatoonkologischen Formenkreises bei 7,8% (n=117) der Betroffenen zu einem eher geringradigen Anteil. Insgesamt hatten über 3% (n=22) der Patienten eine immunsuppressive Therapie erhalten, 3% (n=15) eine Neutropenie entwickelt und 2% (n=11) eine Knochenmarkstransplantation erhalten.

Invasive Candidainfektionen sind zumeist endogenen Ursprunges und können ihren Ausgang von oberflächlichen Schleimhautbesiedlungen, z.B. des Darmes, nehmen (Pfaller 1996). Die Suppression der physiologischen bakteriellen Darmflora durch Breitspektrumantibiotika bewirkt ein mikrobielles Ungleichgewicht mit der Folge eines exzessiven und schwer kontrollierbaren Hefe-Wachstums (Blumberg et al. 2001, Giuliano et al. 1987, Pappas et al. 2003, Pittet et al. 1994, Richet et al. 1991, Samonis et al. 1993,). Bei Blumberg et al. 2001 standen 76% (n=32) der Patienten mit einer invasiven Candidose unter einer antibiotischen Therapie (RR=2,2).

Auch die Freisetzung von Hefen aus dem Gastrointestinaltrakt, z.B. bei operativen Eingriffen oder Perforationen gilt als wesentlicher Risikofaktor für eine IC (Blumberg et al. 2001). Und obwohl auch nach operativen Eingriffen im Fragebogen nicht explizit gefragt wurde, fiel bei der genaueren Auswertung der Anmerkungen doch auf, dass abdominelle Eingriffe deutlich häufiger vermerkt wurden als Operationen an anderen Lokalisationen: Diese Gruppe machte 83% (n=99) aller gemeldeten Operationen aus. In 60% (n=59) der Fälle wurde dabei *C. albicans* isoliert. Nur 21 operative Eingriffe waren aus dem Bereich der Neurochirurgie und Herz-/ Thoraxchirurgie. Diese Feststellung bettet sich gut in die Aussagen prospektiver Multicenter-Studien ein: So fand sich bei Blumberg et al. 2001 die mit Abstand höchste Infektionsrate in der Abdominalchirurgie (1,78 pro 1.000 Intensivtage).

In den vormals genannten großen prospektiven Risikostudien fiel mit 67% (Blumberg et al. 2001) und 56% (Pappas et al. 2003) auch ein gehäuftes Auftreten invasiver Candidosen beim männlichen Geschlecht auf, was mit den eigenen Daten 58% (n=377) konform lief.

Diese Risikofaktoren wurden – wenn auch in unterschiedlicher Wichtung – zu verschiedenen Scoringsystemen, wie beispielsweise dem „Candida Score“, zur frühzeitigen Detektion von Risikopatienten weiterentwickelt (Dupont et al. 2003, León et al. 2006) und ergeben so für den klinischen Alltag wichtige differentialdiagnostische und therapeutische Entscheidungshilfen (Pappas et al. 2009, Piarroux et al. 2004, Prentice et al. 2000, Sobel et al. 2001).

5.3 Speziesverteilung

Die Speziesverteilung unterliegt geographischen Besonderheiten (Arendrup 2010, Nucci et al. 2010, Pfaller et al. 2007, Tortorano et al. 2004). Die nachfolgenden Abschnitte sollen helfen, Deutschland diesbezüglich in den internationalen Kontext einzuordnen. Dem Großteil der IC-Epidemiologiestudien entsprechend, wurde daher auch ausschließlich Bezug auf Blutkulturisolate genommen:

5.3.1 *C. albicans*

Mit einem Anteil von 60,4% dominierten hier *C. albicans.* Diese Zahl lag etwas über dem gesamteuropäischen Durchschnitt von 56,4% (Tortorano et al. 2004), ließ sich jedoch gut in das bestehende Nord-Süd-Gefälle mit den höchsten *C. albicans*-Anteilen in Finnland und Norwegen (70%) und den niedrigsten in Spanien und Italien (~50%) einordnen (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cisterna et al. 2010, Poikonen et al. 2003, Sandven et al 2006). Im Vergleich zu der zeitlich vorgelagerten Arbeit des NRZSM (Borg-von Zepelin et al. 2007) war zudem eine Zunahme des *C. albicans*-Anteiles um 2% zu verzeichnen. Dies steht im Widerspruch zu der von Trick et al. 2002 veröffentlichten Arbeit, die einen Rückgang der Inzidenz von *C. albicans* um fast 75% (bei unveränderter Non-*albicans*-Inzidenz) zwischen 1989 und 1999 beschrieb. Mehrere Autoren (Abi-Said et al. 1997, Bassetti et al. 2009, Gleason et al. 1997) sahen die Ursache für diesen Wandel in einer Zunahme des prophylaktischen bzw. therapeutischen Einsatzes von Fluconazol.
Da *C. albicans* in der Regel allen antimykotischen Therapien gut zugänglich ist (s. Abschnitt 5.4), bestehen für Deutschland mit einem überdurchschnittlich hohen und tendenziell steigenden Anteil von über 60% günstige epidemiologische Verhältnisse.

5.3.2 *C. glabrata*

C. glabrata findet sich gehäuft bei immungeschwächten älteren Patienten mit einer (soliden) Tumorerkrankung. Der invasiven Infektion mit diesem opportunis-tischen Erreger ist oftmals eine Fluconazolexposition, eine Breitspektrumantibiose und/oder ein abdominalchirurgischer Eingriff vorausgegangen (Cohen et al. 2010). Die *C. glabrata*-Candidose geht mit einer hohen Mortalitätsrate von bis zu 55% einher (Girmenia et al. 2011, Hajjeh et al. 2004, Viscoli et al. 1999, Wisplinghoff et al. 2004), die neben der Schwere der Grunderkrankung auch auf vielfältige

Anpassungsmechanismen dieser Spezies zurückzuführen ist: Kurze Generationszeiten, eine asexuelle Reproduktion über umweltresistente Sporen, Produktion hydrolytischer Enzyme zur Gewebeinfiltration sowie die hohe intrinsische Resistenz gegenüber Antimykotika der Azolgruppe durch ATP-abhängige Effluxpumpen sind nur einige Beispiele, die die die epidemische Ausbreitung dieser Spezies stichhaltig erklären und die Therapieoptionen gefährlich einschränken (Roetzer et al. 2011). Mit einem Blutkultur-Anteil von 18,1% bekleidete diese Spezies in der vorliegenden Studie den zweiten Rang. Diese Besonderheit war von Borg-von Zepelin et al. 2007 bereits beschrieben worden. Und obwohl dieser Anteil in anderen, vor allem nördlichen Ländern wie Schottland (Odds et al. 2007), Dänemark (Arendrup et al. 2011) und Belgien (Swinne et al. 2009), mit bis zu 25,7% deutlich höher ausfiel, lag der gesamteuropäische Durchschnitt nur bei 13,6% (Tortorano et al. 2004). Besonders niedrige *C. glabrata*-Anteile unter 10% wurden für den mediterranen (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cuenca-Estrella et al. 2002) und lateinamerikanischen Raum (Colombo et al. 2006, Cuenca-Estrella et al. 2002, Nucci et al. 2010, Pfaller et al. 2007), aber auch für Finnland (Poikonen et al. 2003) beschrieben.

Mit einem Anteil von fast 20% lag Deutschland - neben anderen v.a. nördlich gelegenen Staaten - im internationalen Vergleich unverändert an der Spitze der invasiven *C. glabrata*-Infektionen. In der vorliegenden Arbeit konnte für diese Spezies ein aktuell günstiges Empfindlichkeitsprofil (vgl. Abschnitt 4.2.1.7) erstellt werden. Dieses sollte jedoch auch in Zukunft streng kontrolliert werden.

5.3.3 *C. parapsilosis*

C. parapsilosis ist die Hefe mit der niedrigsten Mortalität (bis 23%) der fünf untersuchten Spezies (Hajjeh et al. 2004, Ortega et al. 2011, Viscoli et al. 1999, Wisplinghoff et al. 2004) und findet sich gehäuft bei ambulant erworbenen Candidämien, bei Neonaten und im Rahmen katheterassoziierter Candidosen (Almirante et al. 2006, Brito et al. 2006, Hajjeh et al. 2004, Levy I et al. 1998, Martino et al. 1993, Rangel-Frausto et al. 1999, Sandven 2006, Sofair et al. 2006,). Das Auftreten dieser Spezies im neonatologischen Bereich scheint nach jüngsten Tiermodellen an jungen Ratten in spezifischen (auch *C. albicans* verfügbaren) Lipasen begründet zu sein (Nagy et al. 2011, Trofa et al. 2011). Darüber hinaus sind v.a. filamentös wachsende Vertreter zu ausgeprägter Kunststoffadhärenz und

Biofilmbildung in der Lage (Laffey und Butler 2005). Zentrale Bedeutung bei der Ausbildung dieser Formationen wird dem *BCR1*-Gen beigemessen (Ding et al. 2007) und steigert durch ausgeprägte Antimykotikaresistenz die Mortalitätsrate um das 2,5-fache (Tumbarello et al. 2007).

Im mediterranen und lateinamerikanischen Raum stand *C. parapsilosis* mit relativen Häufigkeiten zwischen 16 und 40% an der Spitze der Non-*albicans spp.* (Almirante et al. 2006, Bassetti et al. 2011, Cisterna et al. 2010, Colombo et al. 2006, Cuenca-Estrella et al. 2002, Nucci et al. 2010, Pfaller et al. 2007). Der gesamteuropäische Durchschnitt von *C. parapsilosis* lag hingegen deutlich niedriger bei 13,3% (Tortorano et al. 2004). In Deutschland entstammte nur jedes 16. Isolat (6,6%) dieser Spezies. Verglichen mit den Daten der Vorgängerstudie des NRZSM (Borg-von Zepelin et al. 2007) war somit ein Rückgang des *C. parapsilosis*-Anteils um 2,3% zu verzeichnen, der diese Spezies sogar auf Rang vier versetzte. Der Anteil der Unter-Einjährigen lag dabei mit 1,4% in einem ähnlichen Bereich wie in der vorangegangenen Studie (1,7%). Ob ein tatsächlicher Trendwechsel die Ursache für diesen Rückgang ist, werden nachfolgende Studien zeigen. Ursächlich hierfür könnte ebenso eine Veränderung in der Einsenderstruktur sein. Verglichen mit anderen Regionen dieser Erde war *C. parapsilosis* in deutschen Blutkulturisolaten selten zu finden.

5.3.4 *C. tropicalis*

C. tropicalis-Candidämien wiesen bezüglich des betroffenen Patientengutes eine ähnliche Risikostruktur und Mortalität wie *C. glabrata* auf (Bassetti et al. 2011, Hajjeh et al 2004, Viscoli et al. 1999,). Diese Spezies imponiert durch eine Vielzahl an Virulenzfaktoren: Neben einer ausgeprägten Biofilm-Produktion vermag sie durch verschiedenste hydrolytische Enzyme - wie (sekretorische) Aspartat-Proteasen und Phospholipasen - in Gewebe und Makrophagen einzudringen, hämorrhagisch wirksam zu werden und Kapillarlecks (Borg und Rüchel 1990, D'Eça Júnior et al. 2011, Mohandas und Ballal 2011, Okumura et al. 2007) zu erzeugen.

C. tropicalis trat mit einer Häufigkeit von 6,6% in Blutkulturen auf. Damit war ihr Anteil unverändert zur vorangegangenen NRZSM-Studie (6,3%) (Borg-von Zepelin et al. 2007) und entsprach auch in etwa dem europäischen Durchschnitt (7,2%) (Tortorano et al. 2004). International wurde jedoch eine große Schwankungsbreite registriert: So fanden sich beispielsweise in Schottland (Odds et al. 2007) und

Finnland (Poikonen et al. 2003) besonders niedrige *C. tropicalis*-Anteile von 2 bzw. 3%. Bezogen auf Europa wurde diese Spezies mit einem Anteil von über 10% am häufigsten in Spanien (Cisterna et al. 2010, Pfaller et al. 2007) isoliert. Im lateinamerikanischen Raum (Colombo et al. 2007, Cuenca-Estrella et al. 2002, Nucci et al 2010) sowie in weiten Teilen Asiens (Adhikary und Joshi 2011, Chakrabarti et al. 2002, Jung et al 2010, Kothari und Sagar 2009, Ruan und Hsueh 2009, Yapar et al. 2011) trat diese Spezies sogar mit relativen Häufigkeiten zwischen 15 und 45% in Erscheinung.
Im internationalen Vergleich konnte für Deutschland eine anhaltend niedrige Inzidenz für *C. tropicalis*-Candidosen bestätigt werden.

5.3.5 *C. krusei*

C. krusei ist als Pathogen systemischer Infektionen zumeist mit hämatologischen Erkrankungen - insbesondere akuten Leukosen - und ausgeprägter, anhaltender Neutropenie vergesellschaftet (Viscoli et al. 1999). Diese Konstellation - verbunden mit eingeschränkten Therapieoptionen aufgrund der sehr ausgeprägten Neigung zur Organisation im Biofilm (Baillie und Douglas 2000, Mohandas und Ballal 2011) - führt zu Mortalitätsraten von bis zu 50% (Girmenia 2011, Ortega et al. 2011, Viscoli et al. 1999). In den 80er und 90er Jahren war eine Inzidenzzunahme zu beobachten, deren Ursache heute in der flächendeckend praktizierten Fluconazol-Prophylaxe und dem damit verbundenen Selektionsvorteil bei intrinsischer Resistenz gegen ebendieses Antimykotikum gesehen wird (Abbas et al. 2000, Merz et al. 1986, Wingard et al. 1991). Mit einem Anteil von 2,6% zeigte diese Spezies ebenfalls eine signifikante Inzidenzzunahme gegenüber der vorangegangen Studie des NRZSM (1,6%) (Borg-von Zepelin et al. 2007). Im gesamteuropäischen Vergleich lag dieser Wert etwas über dem Durchschnitt von 1,9% (Tortorano et al. 2004). Die von Pfaller et al. 2007 veröffentlichten Daten zu einer gesamteuropäischen Inzidenz von 9% konnten in dieser Arbeit aber nicht bestätigt werden. Im Gegensatz zu europäischen Studien berichteten Autoren aus Ost- und Südostasien über *C. krusei*-Anteile von unter 1% (Adhikary und Joshi 2011, Jung et al. 2010, Ruan und Hsueh 2009). Für Europa wurden die höchsten Inzidenzen in Finland (8%) und Ungarn (9%) gefunden (Dóczi et al. 2002, Poikonen et al. 2003). An dieser Stelle muss jedoch angemerkt werden, dass sich die Seltenheit dieser Candidosen und eine offensichtlich interhospital stark differierende Inzidenz in ebenso differierenden Gesamtinzidenzen

verschiedener Studien eines Landes widerspiegelte (Cisterna et al. 2010, Nucci et al. 2010).
Trotz der aktuell noch verhältnismäßig niedrigen deutschen Inzidenz von unter 3% mahnt die offensichtliche Progression beim Blick auf die Mortalität zur äußersten Vorsicht.

5.4 Resistenzlage

5.4.1 Amphotericin B

Amphotericin B ist derzeit der einzige in einer intravenösen Formulation verfügbare Wirkstoff aus der Gruppe der Polyenantimykotika. Diese Stoffgruppe bewirkt durch irreversible Komplexbildung mit dem Ergosterol der Pilzzellmembran eine Erhöhung der Membranpermeabilität. In der Folge gehen lebenswichtige Nährstoffe verloren und es kommt zum Zelltod. Die Potenz hängt dabei maßgeblich von der Größe des Makrolidringes ab. In der vorliegenden Arbeit präsentierte sich Amphotericin B, entsprechend den von Borg-von Zepelin 2007 veröffentlichen Daten, mit einer uneingeschränkten Gesamtempfindlichkeit. Die allgemein niedrigen Resistenzraten dieses Antimykotikums (Park BJ et al. 2006, Pfaller et al. 2004 a) sind seit langem bekannt und konnten für Deutschland durch die eigenen Daten gestützt werden. Von den in der internationalen Literatur berichteten resistenten Isolaten bei *C. glabrata, C. krusei* und *C. parapsilosis* (Krogh-Madsen et al. 2006, Ostrosky-Zeichner et al. 2003, Pfaller et al. 2004 b, Yang et al. 2005) fand sich hierzulande keine Spur. Aufgrund der anhaltend guten Resistenzlage von Amphotericin B fand die lipidformulierte Form auch 2009 erneut Eingang in die Leitlinie der Infectious Diseases Society of America (IDSA) zur Behandlung invasiver Candidosen (Pappas et al. 2009).
Als limitierender Faktor und zugleich wichtigste Nebenwirkung der Amphotericin B-Therapie ist die Nephrotoxizität – besonders der deoxycholierten Form - zu nennen. Deray veröffentlichte 2002 Daten, nach denen bis zu 50% der Patienten unter der Therapie ein akutes Nierenversagen erlitten. Dies schränkt die Einsatzmöglichkeiten vor allem bei Intensiv-Patienten, die an einer schweren Sepsis bzw. an einem septischen Schock (Levy MM et al. 2003) leiden, deutlich ein. Wenngleich mehrere Studien (Miller et al. 2004, Ullmann et al. 2006) bewiesen, dass die Lipidformulation ungleich verträglicher als die deoxycholierte Formel ist, stellt die nachfolgende Gruppe der Triazol-Antimykotika eine sicherere - dabei aber nicht minder effektive -

Alternative zum Amphotericin B dar (Boogaerts et al. 2001, Charlier et al. 2006, Chen und Sobel 2005, Kullberg et al. 2005, Pappas et al. 2009).

5.4.2 Flucytosin

Flucytosin wird seit nunmehr über 40 Jahren erfolgreich in der Behandlung invasiver Mykosen eingesetzt (Tassel et al. 1968). Dieser Antimetabolit des Cytosins wird mittels der Cytosinpermease in die Pilzzelle eingeschleust und dort durch Abspaltung seiner Aminogruppe in die aktive Form – das 5-Fluorocytosin (5-FC) – umgewandelt. Als falsche Base erfolgt dann über den Einbau in die RNS eine Störung der Proteinsynthese der Zelle. Darüber hinaus wird FC auch zu 5-Fluorodeoxyuridin (5-FU) transformiert und hat somit ebenfalls direkten Einfluss auf die DNA-Synthese der Pilzzelle. Von einer FC-Monotherapie wird mittlerweile jedoch Abstand genommen, da es durch Mutationen in den Genen (*FCY1-/FCY2-und FUR1*-Gen) der beteiligten Enzyme (Chen et al. 2011, Dodgson et al. 2004, Edlind und Katiyar 2010, Erbs et al. 1997, Hope et al 2004, Paluszynski et al. 2006) bzw. durch Hochregulation der Pyrimidinproduktion zu einer primären oder raschen sekundären Resistenz-entwicklung kam. Auch hinsichtlich der schwerwiegenden unerwünschten Arznei-mittelwirkungen Hepatotoxizität und Knochenmarksdepression, welche dosis-abhängig auftreten, werden Kombinationstherapien und ein FC-Drugmonitoring (Francis und Walsh 1992, Vermes et al. 2000) empfohlen.

Offenbarten die Ergebnisse dieser Studie mit 91,5% sensiblen; 2,6% intermediären und 5,9% resistenten Stämmen bei einer MHK_{90} von 1,0 µg/ml auch hierzulande eine zufriedenstellende Gesamtresistenzlage, so fanden sich doch Spezies - allen voran *C. tropicalis* (57,5% resistente Stämme) und *C. krusei* (82,4% intermediäre Stämme) – mit hohen Anteilen intrinsischer Resistenz. Auch im Vergleich mit großen internationalen Studien traten einige Unterschiede zutage. Pfaller et al. beschrieben 2002 für fast 9.000 klinische Isolate zwar ebenfalls eine Gesamt-MHK_{90} von 1,0 µg/ml bei vergleichbarer 95%-iger Sensibilität, 2%-igem intermediärem Ansprechen und 3 % Resistenzen, jedoch unterschieden sich Empfindlichkeit (92%) und MHK_{90} (32 µg/ml) von *C. tropicalis* deutlich von den eigenen Messungen (42,5% S; MHK_{90} >64µg/ml). Viele primär resistente Isolate (67% I und 28% R; MHK_{90} 32 µg/ml) detektierten Pfaller et al. bei *C. krusei*. Die deutschen Stämme waren hier etwas empfindlicher (82,4% I und 11,8% R; MHK 32 µg/ml). Trotz seiner guten Wirksamkeit gegenüber den meisten *Candida spp.* beschränkt sich der Einsatz des Flucytosins

heute als Kombinationspräparat im Wesentlichen auf Candida-bedingte Endokarditiden, Meningitiden und wegen seiner unverändert renalen Exkretion auf komplizierte Candida-Harnwegsinfektionen (Pappas et al. 2009).

5.4.3 Fluconazol

Ähnlich wie bei den Polyenen ist auch bei den Azolantimykotika die Zellmembran der primäre Angriffsort, wobei diese bereits in die Synthese des Ergosterols eingreifen. Mit der Hemmung der 14-α-Demethylase wird ein obligater Demethylierungsschritt unterbunden. Das Produkt 14-α-Methylsterol kann nicht in die Zellmembran eingebaut werden und verhindert somit ein weiteres Wachstum/Vermehrung der Pilzzelle.

Die in der vorliegenden Studie bestimmte Rate Fluconazol-resistenter Hefe-Isolate lag mit 1,2% unter der von Borg-von Zepelin et al. 2007 (3,7%) publizierten und deutlich unter der Resistenzrate der ARTEMIS-DISK-Studie (Pfaller et al. 2010; 8,9 %). 7/8 der resistenten Isolate gehörten der Spezies *C. glabrata* an. 5,8% dieser Spezies war resistent gegenüber Fluconazol. Bei Pfaller et al. lag der Anteil resistenter *C. glabrata* um fast 10% höher. Die deutliche Verschiebung aus dem resistenten in den S-DD-Bereich fand sich unterdessen bei *C. krusei*. Bei Pfaller et al. waren 78,3% der Isolate resistent. In der vorliegenden Studie fanden sich keine resistenten, dafür jedoch 70,6% dosisabhängig sensible Stämme. In zahlreichen inner- (Asmundsdóttir et al. 2002, Chryssanthou 2001, Cuenca-Estrella et al. 2005, Dimopoulos et al. 2009, Tortorano et al. 2003) und außereuropäischen Studien (Hajjeh et al. 2004, Hsueh et al. 2005, St-Germain et al. 2008) fanden sich Belege für eine intrinsische Resistenz von *C. krusei* und für eine oft reduzierte Sensibilität bei *C. glabrata*. Ein Teil der aktuellen Resistenzen und der mancherorts beobachteten relativen Zunahme von Non-*albicans spp.* geht auf den - in der Vergangenheit praktizierten großzügigen - Einsatz des Fluconazols in der Therapie - aber auch in der Prophylaxe – zurück (Bassetti et al. 2009, Pfaller und Diekema 2004). Trotz alledem fand es – nicht zuletzt wegen der nunmehr vergleichsweise niedrigen Therapiekosten und der hohen Sicherheit (Bougnoux et al. 2008) - als eines der First-Line-Antimykotika auch 2009 wieder Eingang in die Leitlinie der IDSA zur Therapie invasiver Candidämien (Pappas et al. 2009).

Bei schweren Erkrankungsfällen wird - wegen der nachweislich höheren Potenz (Cuenca-Estrella et al. 2006, Ostrosky-Zeichner et al. 2003, Pfaller et al. 2004 c) –

(neben den Echinocandinen) zur Initialtherapie jedoch zunehmend auf die nächste Generation der Breitspektrum-Triazole - Itraconazol, Voriconazol und Posaconazol - zurückgegriffen.

5.4.4 Itraconazol

Dem ersten Breitspektrum-Triazol Itraconazol wurde - in Ermangelung einer intravenösen Formulation (und unzureichender Bioverfügbarkeit der oralen Formel) - als therapeutische Option lange Zeit nicht die Beachtung geschenkt, die ihm aus Sicht seiner hohen In-Vitro-Potenz (MHK_{90} ≤ 1 µg/ml) zugestanden hätte (Cuenca-Estrella et al. 2006, Ostrosky-Zeichner et al. 2003, Pfaller et al. 2005). Und obwohl diese MHK_{90} in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden konnte, mag - bei einer Gesamtempfindlichkeit von nur 28,5% und einer relativ hohen S-DD-Rate von 58,8 % - die hohe In-Vitro Potenz zunächst etwas sonderbar erscheinen und an der In-Vivo-Potenz so manchen Zweifel erwecken. Es sei jedoch erstens angemerkt, dass die 1997 vom CLSI (Rex et al. 1997) veröffentlichten Grenzwerte für Itraconazol (≤ 0,125 µg/ml; 0,25-0,5 µg/ml und ≥ 0,5 µg/ml) sehr streng gesetzt und im Verlauf nicht angepasst wurden. Zweitens konnten seit der Markteinführung der löslichen Cyclodextrin-Formulation im Jahre 1999 suffiziente therapeutische Plasmaspiegel mit Plasmaspitzen-Konzentrationen bis 2 bzw. 4 µg/ml erreicht werden (Mohr et al. 2004, Vandewoude et al. 1997). Die Gesamtrate resistenter Isolate lag mit 12,7% über der anderer Azole aber deutlich unter den in der Vorgängerstudie publizierten 17,6% (Borg-von Zepelin et al. 2007). Resistente Isolate waren bei allen Spezies zu finden, wobei *C. glabrata* mit einem Anteil von 58,3% und einer MHK_{90} von 2 µg/ml die höchsten Werte aufwies. Dies deckt sich mit Daten der o.g. Multicenter-Studien, die bei dieser Spezies die höchsten MHK_{90}-Werte (zwischen 1,0 und 4,0 µg/ml) fanden (Cuenca-Estrella et al. 2006, Ostrosky-Zeichner et al. 2003, Pfaller et al. 2005).
Aufgrund der häufig beobachteten Diskrepanz zwischen bedenklicher In-Vitro-Einstufung bei guter klinischer Wirksamkeit fordern einige Autoren (Boogaerts et al. 2011, Takesue et al. 2012, Yamagishi et al. 2009, Zhang und Zhou 2011) eine Anpassung der Grenzwerte. Genau dies könnte jedoch am abgelaufenen Patentschutz und der zurückhaltenden Nachfrage scheitern (Meyer et al. 2007). Dies ist bedauerlich, denn erst jüngst konnten interessante Nebeneffekte wie die Hemmung der Angiogenese beim nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom (Aftab et al. 2011), gezeigt werden. Die Kombination aus zytostatischer und antimykotischer

Wirksamkeit könnten diesem Antimykotikum in Zukunft völlig neue Einsatzmöglichkeiten in der Onkologie eröffnen.

5.4.5 Voriconazol

Voriconazol ist ebenfalls ein Vertreter der potenten Triazolantimykotika mit fungistatisch bis fungizider Wirksamkeit gegen *Candida spp.* Verglichen mit Fluconazol besitzt dieses eine 1,6-fach (für *C. albicans*) bzw. 160-fach (für *A. fumigatus*) höhere Affinität gegenüber der 14-α-Demethylase und vermag zusätzlich noch die 24-Methylen-Dehydrolanosterol-Demethylase verschiedener Hefen und Schimmelpilze zu hemmen (Masiá Canuto und Gutiérrez Rodero 2002).

Auch hinsichtlich der Pharmakokinetik unterscheidet sich Voriconazol erheblich von anderen Antimykotika: Verglichen mit Amphotericin B, Itraconazol und Caspofungin penetriert es besser durch die Blut-Hirn-Schranke und macht es daher für den Einsatz bei zerebralen Pilzinfektionen unentbehrlich (Collette et al. 1989, Heykants et al. 1990, Hajdu et al 1997, Koshy und Malhotra 2010, Lutsar et al. 2003 a, Schwartz et al 2004).

Durch eine orale Bioverfügbarkeit von 96% (Fachinformation VFEND® 2007) ist auch die Fortsetzung einer effektiven oralen Therapie im ambulanten Bereich möglich und verkürzt die Liegedauer damit erheblich. Im kurzfristigen Einsatz zeichnet es sich zudem durch eine gute Verträglichkeit aus. Typische unerwünschte Wirkungen sind die dosisabhängige Beeinträchtigung der Leberfunktion mit entsprechenden Enzym- bzw. Bilirubinerhöhungen und/oder Hypoglykämien, reversible visuelle Beeinträchtigungen und Hautveränderungen (Denning et al. 2002, Lutsar et al. 2003 b) Vor allem im längerfristigen prophylaktischen Einsatz bei immunsupprimierten Patienten häufen sich jedoch Fälle spinozellulärer Karzinome unter Sonnenexposition (Epaulard et al. 2011, Singer et al. 2012), so dass für die Zukunft zumindest streng photoprotektive Maßnahmen für dieses Kollektiv gefordert werden sollten.

Die - verglichen mit Fluconazol - höhere Potenz des Voriconazols konnte in der vorliegenden In-Vitro-Studie für Deutschland bestätigt werden: So fanden sich derzeit gegenüber Voriconazol lediglich 0,3% resistente Isolate. Dies entsprach auch der von Borg-von Zepelin et al. 2007 publizierten Rate von 0,4%. *C. parapsilosis* war die einzige Spezies, bei der, mit einem Anteil von 5,7% (MHK_{90} 0,125 µg/ml), resistente Isolate gefunden wurden. S-DD-Isolate fanden sich ausschließlich bei *C. glabrata* (4,2%). Die MHK_{90} überschritt für keine Spezies die Konzentration von 0,25 µg/ml.

Hingegen fanden sich in den großen Multicenter-Studien (Cuenca-Estrella et al. 2006, Ostrosky-Zeichner et al. 2003, Pfaller et al. 2004 c) mehrere NAC-Spezies mit einer MHK_{90} von 0,5 µg/ml oder höher. *C. glabrata* wurden in diesen Studien als sehr resistente Isolate wahrgenommen (MHK_{90} 1,0 µg/ml). *C. tropicalis* - in der vorliegenden Arbeit durchgehend sensibel getestet (MHK_{90} 0,0625 µg/ml) – erreichte bei Ostrosky-Zeichner et al. 2003 sogar eine um fünf Stufen höhere MHK_{90} (2,0 µg/ml). *C. albicans* wies im internationalen Vergleich ebenfalls eine hohe Empfindlichkeit (MHK_{90} 0,0313 µg/ml versus 0,12 µg/ml bei Pfaller et al. 2004 c bzw. 0,5 µg/ml bei Ostrosky-Zeichner et al. 2003) auf. Da die MHK_{90} - trotz einheitlichem Standard - selbst zwischen den eben angeführten großen Instituten um bis zu 4 Stufen differierten, sind geographische Unterschiede in der Empfindlichkeit verschiedener Spezies sehr wahrscheinlich. Zusammenfassend konnten für Deutschland hinsichtlich des Voriconazols sehr günstige Resistenzdaten - auch bei den NAC - erhoben werden.

5.4.6 Caspofungin

Mit der Zulassung des Caspofungins im Jahre 2001 für EU und USA zur Therapie invasiver Candidosen wurde eine völlig neue Stoffgruppe – die Stoffgruppe der Echinocandine – bereitgestellt. Die Isolation natürlicher Lipopeptide gelang mit dem Wirkstoff Cilofungin bereits 1970, doch verhinderten schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen, wie beispielsweise Gewebsnekrosen, lange Zeit ihren klinischen Einsatz. Durch das semisynthetische Einfügen saurer oder basischer Gruppen und aromatischer Acylkomponenten gelang es, das Nebenwirkungsprofil deutlich zu schmälern und damit die Verträglichkeit der Echinocandine auch in höherer Dosierung deutlich zu verbessern. Mittlerweile existieren neben Caspofungin zwei weitere Wirkstoffe: Anidulafungin und Micafungin. Ihre Wirkungsweise beruht auf der Hemmung der β-(1,3)-Glucan-Synthetase, welche für den Aufbau des Zellwandglucans obligatorisch ist. Durch die gestörte Integrität der Zellwand kommt es zum Untergang der Zelle. Echinocandine wirken gegenüber *Candida spp*. fungizid. In der vorliegenden In-Vitro-Austestung lag der Anteil resistenter Isolate bei 6,9%, die MHK_{50} bei 0,125 µg/ml und die MHK_{90} bei 0,5 µg/ml. In der Gruppe der fünf bedeutendsten Spezies fanden sich resistente Isolate bei *C. glabrata* (27,5%) und *C. parapsilosis* (11,4%). Die ermittelten MHK_{90} lagen für diese Isolate bei 0,25 µg/ml bzw. 16,0 µg/ml. Dass die Caspofungin-MHK für *C. parapsilosis* (und auch *C.*

guilliermondii) bis zu 8 – und 32-mal höher liegen als die von *C. albicans*, ist ein Phänomen, welches auch in anderen In-Vitro-Studien beobachtet wurde (Barchiesi et al. 2006, Fleck et al. 2007, Kuhn et al. 2002, Ostrosky-Zeichner et al. 2003). Als Ursache hierfür wird eine Mutation im *FKS1p* -Gen diskutiert, welches für das aktive Zentrum der Glucansynthase codiert (Douglas et al. 1997, Garcia-Effron et al. 2008, Park S et al. 2005, Perlin 2007). Mit der Überarbeitung der Grenzwerte im Jahre 2011 (Pfaller et al. 2011) verlagerte sich auch ein Großteil (64,7%) der vormals sensiblen *C. krusei* in den neu geschaffenen intermediären Bereich. In klinischen Studien konnte trotzdem vielfach eine hohe klinische Wirksamkeit für unterschiedliche Risikogruppen und sogar vormals erfolglos antimykotisch behandelte Patienten (Kartsonis et al. 2004, Lichtenstern et al. 2010, Winkler et al. 2010) bei guter klinischer Verträglichkeit (Betts et al. 2009, Lichtenstern et al. 2010, Trenschel et al. 2005) nachgewiesen werden. Einige klinische Vergleichsstudien mit Amphotericin B (Hahn-Ast et al. 2010, Mora-Duarte et al. 2002, Sable et al. 2002, Walsh et al. 2004) zeigten sogar, dass Caspofungin diesem bezüglich der Wirksamkeit mindestens gleichrangig ist, dabei jedoch ein ungleich günstigeres Nebenwirkungsprofil - beispielsweise ein 18-fach niedrigeres therapiebedingtes Nierenversagen - aufweist. Diese Erkenntnisse schlagen sich auch in den aktuellen Leitlinien der IDSA (Pappas et. al 2009), aber auch deutscher Fachgesellschaften wie der DGHO, der DMyKG oder der PEG (Böhme et al. 2009, Ruhnke et al. 2011) nieder: Das lange Zeit als First-Line-Medikament für invasive Candidosen geführte Amphotericin B erhält nun häufiger den Status eines Reservemedikamentes. Als kalkulierte Primärtherapie bei nicht-neutropenen und kritisch kranken Patienten sind heutzutage Echinocandine zu bevorzugen (Böhme et al. 2009, Glöckner und Karthaus 2011, Ruhnke et al. 2011).

5.5 Ausgewählte Patientengruppen

5.5.1 Risikofaktoren

Der intensivmedizinische Aufenthalt - als quantitativ bedeutsamster Risikofaktor (n=178) - unterschied sich hinsichtlich der Speziesverteilung kaum von der Gesamtstichprobe. Zum überwiegenden Teil (65,4%) wurden *C. albicans* isoliert. Auch in der großen multinationalen EPIC-Studie (Kett et al. 2011) - in die über 1.200 Intensivstationen aus 76 Ländern einbezogen wurden - lag der *C. albicans*-Anteil bei 70%. Im (inter)nationalen Einzelstudienvergleich traten allerdings erneut erhebliche Unterschiede zutage: Blumberg (USA) sowie Bassetti (Italien) und Kollegen beschrieben für ihre Länder sehr niedrige *C. albicans*-Isolationsraten von unter 50% (Bassetti et al. 2009, Blumberg et al. 2001). Pasero et al. hingegen fanden diese Spezies auf einer italienischen kardiochirurgischen Intensivstation sogar in 73% (Pasero et al. 2011). Auch bei der Verteilung der NAC zeigten sich erhebliche (inter)nationale Differenzen: Während beispielsweise auf deutschen Intensivstationen bei 2,2% der Candidämien *C. parapsilosis* isoliert wurde, fand Bassetti einen für den mediterranen Raum typischerweise zehnmal höheren Anteil. Dass westliche Epidemiologie-Studien nicht auf dem gesamten Globus anwendbar sind, verdeutlichte eine türkische Studie intensivpflichtiger Candidämie-Patienten sehr eindrucksvoll (Horasan et al. 2010): Klinisch bedeutsamste Spezies war dort mit 66,1% *C. parapsilosis*. *C. albicans* erreichte lediglich einen Anteil von 18,6%.

Bedeutsame Differenzen offenbarten sich bei der hämatoonkologischen/ immunsupprimierten Patientengruppe. Hier war bezüglich der Speziesverteilung eine Verschiebung hin zu Non-albicans Candida (57,0% bzw. 50,0%) zu verzeichnen. Am deutlichsten war diese bei neutropenen Patienten ausgeprägt (76,7%). Dieser Fakt wurde durch mehrere hämatologisch-onkologische Studien bestätigt: So berichteten Pagano et al. 2006 bei 175 gesicherten Candidämien ebenfalls über einen NAC-Anteil von 57%. In einer Würzburger Studie an 21 Candida-Isolaten hämatoonkologischer Patienten lag dieser Anteil sogar bei 71,4% (Zirkel et al. 2012). Darüber hinaus scheint die Differenzierung zwischen hämatologischen und soliden Tumoren bei der Speziesverteilung eine Rolle zu spielen. Zwei Studien (Sipsas et al. 2009, Slavin et al. 2010) zeigten, dass der NAC-Anteil mit 75% bzw. 67,3% bei Ersteren noch deutlich höher lag (49% bei soliden Tumoren). Bedeutenster Vertreter der NAC war in beiden Studien *C. parapsilosis* mit 24% bzw. 19,5%, was mit einer

Rangfolgeverschiebung einherging. Auch bei soliden Tumoren rückte *C. parapsilosis* mit 16,0% auf Rang drei. In den eigenen Daten war eine derartige Verschiebung der Rangfolge (*C. parapsilosis* 7,7%) nicht zu beobachten und könnte daher auf geographische oder therapeutische (z.B. Rate an intravenösen Zugängen) Unterschiede hinweisen.

Da sie die häufigste (Intensivstationen) bzw. zweithäufigste nosokiale Infektion mit der zugleich höchsten Letalität (>30%) der Krankenhausinfektionen darstellt, wurde auch die Pneumonie als gesonderter Risikofaktor untersucht (Höffken und Niederman 2002, ITS-KISS-Referenzdaten des NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen Stand 2011, Rello et al. 2002): In 61 Fragebögen (9,3%) wurde im (Verdachts-)Diagnosefeld des Fragebogens „Pneumonie“ angekreuzt. Ob in allen diesen Fällen auch eine Candida-Pneumonie vorlag, muss allerdings nach derzeitiger Studienlage bezweifelt werden (Meersseman et al. 2009). Ebenfalls bei 9,3% lag der Anteil der Candida-assoziierten Pneumonien einer prospektiven amerikanischen Kohortenstudie (Brozek et al. 2007). Bei deutschen Intensivpatienten dagegen deuteten die ITS-KISS-Referenzdaten auf einen doppelt so hohen Candida-Anteil (18,6%, davon 76,6% *C. albicans*) hin. Eine genaue Analyse des eigenen Pilzspektrums ergab einen vergleichbar hohen Anteil (71,0%) an *C. albicans.* Wichtigste NAC-Spezies war mit 19,4% *C. glabrata. C. parapsilosis* wurde nicht isoliert.

Dass einseitige Therapieausrichtungen mit Selektionsvorteilen für bestimmte Spezies verbunden sind, spiegelte sich einerseits in der allgemeinen Zunahme der NAC durch die lange praktizierte Fluconazolprophylaxe wider (Abbas et al. 2000, Merz et al. 1986, Wingard et al. 1991). Andererseits fiel aber auch bei der gesonderten Betrachtung des hämatoonkologischen - und multipel antimikrobiell vortherapierten - Patienten eine deutliche Verschiebung hin zu den NAC (Anteil bis 75%) auf (Sipsas et al. 2009, Slavin et al. 2010). Die antimykotische Therapie führte daher als gesonderter Risikofaktor ebenfalls zu einem veränderten Speziesprofil: Der *C. albicans*-Anteil lag bei dieser Gruppe lediglich bei 48,5%. Im Gegenzug stiegen die Anteile von *C. glabrata* und *C. parapsilosis* auf 33,3% bzw. 6,1%.

5.5.2 Institutionen

Da die Spezies- und Resistenzspektren auch abhängig von der Größe des Krankenhauses differieren, soll nun abschließend der Blick auf diese Daten gerichtet

werden: So fiel auf, dass Universitätskliniken deutlich seltener *C. albicans* aus Blutkulturen isolierten (55,9%; 41,2…66,7%) als periphere Kliniken und Laborpraxen (67,4%; 40,9…100,0%), die in der Regel nicht-universitäre Kliniken betreuen. Dies könnte der Tatsache geschuldet sein, dass die typischerweise von NAC-Isolaten betroffene Klientel wegen der Schwere der Grunderkrankung häufiger an Häusern der Maximalversorgung behandelt wurde.

Darüber hinaus lag der Anteil isolierter *C. albicans* an den Universitätskliniken im Zentrum der Republik zumeist deutlich höher (58,3…66,7%) als im Norden (41,2…51,9%) oder Süden bzw. Südwesten (54,2…55,2%). Eine Studie der Universitätsklinik Mannheim an 512 Isolaten ordnete sich hier mit einem *C. albicans*-Anteil von 61,5% (Fleck et al. 2007) gut in die eigenen Daten ein. In Norddeutschland wurden zudem unabhängig von der Institution für Deutschland (im Schnitt 6%) extrem wenige *C. tropicalis* isoliert (0…3,3%). Das Auftreten der anderen Spezies schien ansonsten eher vom jeweiligen Standort abhängig zu sein, wobei beispielsweise an einem Haus ein *C. glabrata*-Anteil von fast 53% auftrat.

Daher muss abschließend - anhand der großen Schwankungsbreite der Speziesverteilung bei der institutionsfokussierten Betrachtungsweise – festgestellt werden, dass hausinterne Besonderheiten epidemiologisch bedeutsamer sind.

5.6 Schlussfolgerung

Die von der internationalen bis in die interhospitale Ebene hineinreichenden - teils erheblichen - Differenzen von Spezies- und Resistenzspektren unterstreichen einmal mehr, wie bedeutungsvoll epidemiologische Erhebungen durch die Krankenhaushygiene vor Ort und durch Nationale Referenzzentren sind. Mit der kontinuierlichen Erforschung und Auswertung der Epidemiologie bieten sie aktuelle Daten für die jeweilige Institution/Nation und vermögen Trendentwicklungen frühzeitig zu erkennen. Vor dem Hintergrund speziesabhängig differierender Behandlungspfade (Böhme et al. 2008, Pappas et al. 2009), regionaler Besonderheiten in der Resistenzlage (Adhikary et al. 2011, Pfaller et al. 2004 b) und der hohen Letalität der Betroffenen (Garey et al. 2006, Kumar et al. 2006) beim Beschreiten des falschen Pfades kann die Bedeutung solcher Informationen nicht hoch genug eingeschätzt werden. Mit den gesammelten Daten des NRZ für Systemische Mykosen konnte für Deutschland eine umfassende Übersicht über die aktuelle Epidemiologie und Resistenzlage erstellt werden.

6. Zusammenfassung

Invasive Candidosen stellen aufgrund des großen medizinischen Fortschritts und des demografischen Wandels ein relevantes Problem unseres Gesundheitssystems dar. Während die Risikofaktoren gut untersucht sind, sind Untersuchungen zur Epidemiologie und Resistenz in vielen Ländern rar.
In dieser Arbeit wurden 657 Isolate aus 63 verschiedenen Institutionen des gesamten Bundesgebietes aus dem Zeitraum September 2005 bis Dezember 2006 mit der folgenden Zielsetzung untersucht:

1.) Auswertung der Sammlung epidemiologischer Daten über systemische Mykosen in Deutschland (Zeitraum Sept. 2005 – Dez. 2006),
2.) Bestimmung und Analyse der Empfindlichkeit dieser Isolate gegenüber sechs häufig verabreichten Antimykotika und
3.) Analyse der erhobenen epidemiologischen und Resistenzdaten im Hinblick auf geographische und Klinik-Besonderheiten.

Der überwiegende Anteil der Pilze wurde bei männlichen Patienten (58,4%) höheren Lebensalters (ø 60,6 Jahre) nachgewiesen. Darüber hinaus war der Nachweis der Pilzisolate häufig mit einer intensivmedizinischen Behandlung (41,4%), einer Sepsis (37,3%) und/oder einem malignen Grundleiden (17,8%) assoziiert.
Bei der Untersuchung der Speziesverteilung fanden sich in der Gesamtstichprobe 21 verschiedene Hefe-Spezies. *C. albicans* dominierte mit einem Anteil von 62,3%, gefolgt von *C. glabrata* (18,3%), *C. tropicalis* (6,1%), *C. parapsilosis* (5,3 %) und *C. krusei* (2,6 %). Die untersuchten Hefestämme aus primär sterilen Materialien wurden in der Mehrzahl aus Blutkulturen (68,0%) und zentralvenösen Kathetern (14,2%) isoliert.

Die Analyse der Hefespezies nach Material, Alter und Geschlecht führte zu folgenden Ergebnissen bei ausgewählten Candida-Spezies: In allen Materialien wurden die Spezies *C. albicans* und *C. glabrata* am häufigsten isoliert. Wesentliche Unterschiede zeigten sich jedoch in der prozentualen Verteilung. So lag beispielsweise der *C. albicans*-Anteil bei ZVK-Spitzen mit 76,8% (n=73) deutlich über

dem von Blutkulturen (60,4%), Peritonealflüssigkeit (58,1%) oder Gallenflüssigkeit (41,7%).
Patienten mit *C. glabrata* und *C. tropicalis* wiesen mit 63 Jahren ein um zwei Jahre höheres Durchschnittsalter auf als Patienten mit *C. albicans* (61 a). Bei *C. parapsilosis* und *C. krusei* lag das Durchschnittsalter dagegen bei 58 Jahren. Im Geschlechtervergleich lag das eigentliche Eröffnungssalter (definiert als 25%-Quantil) der durch *C. tropicalis* und *C. parapsilosis* bedingten Infektionen bei Frauen 5 bzw. 12 Jahre unter dem der Männer. Hingegen war bei Männern die überwiegende Anzahl (75%-Quantil) der *C. krusei*-Infektionen mit 56 Jahren abgelaufen, während die eigentliche Erkrankungswelle bei den Frauen erst anlief.

Die Analyse mikrobieller Kobesiedlungen bzw. Koinfektionen wies die Beteiligung grampositiver Kokken (65,4 %) oder gramnegativer Stäbchen (30,8 %) nach, zumeist gepaart mit *C. albicans*. Bei Candida-Doppelinfektionen war die Paarung *C. albicans/C.glabrata* mit 68,2% am häufigsten zu finden.
Die Resistenztestung wurde nach dem CLSI-Standard M27-A mittels Mikrodilutionstestung durchgeführt und erbrachte nachfolgende Ergebnisse: Alle Isolate wurden gegenüber Amphotericin B sensibel eingestuft. Die MHK_{90} lag bei 1,0 µg/ml. 91,5% der Isolate wurden gegenüber Flucytosin sensibel, 2,6% intermediär und 5,9% resistent eingestuft. Die MHK_{90} lag unter 0,125 µg/ml. Die meisten Resistenzen gegenüber Flucytosin (57,5%) und die zugleich höchste MHK_{90} (> 64 µg/ml) fanden sich bei *C. tropicalis*-Isolaten. Die meisten intermediären Isolate (82,4%) wurden bei *C. krusei* nachgewiesen. 95,8% der Isolate wurden gegenüber Fluconazol sensibel, 2,9% dosisabhängig sensibel (S-DD) und 1,2% der Isolate resistent eingestuft. Die MHK_{90} lag bei 4,0 µg/ml. Die höchste Resistenzrate fand sich bei *C. glabrata* (5,8%; MHK_{90} 8 µg/ml). Der höchste S-DD-Anteil wurde bei *C. krusei* nachgewiesen (70,6%). 28,5% aller Hefeisolate wurden gegenüber Itraconazol sensibel, 58,8% S-DD und 12,7% der Isolate resistent eingestuft. Die MHK_{90} lag bei 1,0 µg/ml. Die meisten Resistenzen (58,3%) fanden sich bei *C. glabrata*. *C. parapsilosis* konzentrierte sich im S-DD-Bereich (80,0%). 98,8% aller Isolate wurden gegenüber Voriconazol sensibel, 0,9% S-DD und 0,3% der Isolate resistent eingestuft. Die MHK_{90} lag bei 0,125 µg/ml. Die meisten Resistenzen (5,7%) fanden sich bei *C. parapsilosis.* Unter Berücksichtigung der neuen Caspofungin-Bewertungsgrenzen (Pfaller et al. 2011) wurden 78,2% der Isolate sensibel, 14,8% intermediär und 6,9%

der Isolate resistent eingestuft. Die MHK_{90} lag bei 0,5 µg/ml. Die höchste Resistenzrate (27,5%) wies *C. glabrata* auf. Die höchste MHK_{90} (16 µg/ml) fand sich dagegen bei *C. parapsilosis*.

Die Untersuchungen von Speziesverteilung und Resistenzverhalten zwischen alten (ABL) und neuen (NBL) Bundesländern ergaben die folgenden Unterschiede: Der *C. albicans*-Anteil lag in den alten Bundesländern fast 3% höher als in den neuen Bundesländern. Ähnliche Konstellationen fanden sich bei *C. parapsilosis* und *C. krusei* (5,4% bzw. 2,9% (ABL) vs. 4,8% bzw. 1,6% (NBL)). Dagegen gab es in den NBL höhere Anteile an *C. glabrata* (19,0 vs. 18,0%) und *C. tropicalis* (7,9 vs. 5,4%) als in den ABL. In der Mikrodilutionstestung konnten gegenüber Amphotericin B (100,0% für beide Bundesgebiete), Flucytosin (91,9 vs. 91,1%), Fluconazol (95,9% für beide Bundesgebiete), Itraconazol (28,5 vs. 30,9%), Voriconazol (98,8 vs. 99,2%) und Caspofungin (78,5 vs. 78,4%) für ABL und NBL vergleichbare Empfindlichkeiten über die Gesamtheit der Isolate ermittelt werden. Die Analyse einzelner NAC wies jedoch Unterschiede auf: So war bei *C. tropicalis*-Isolaten in den NBL die Resistenz gegenüber Flucytosin und Itraconazol höher als in den ABL (70,0 vs. 53,6% und 10,0 vs. 7,1%). Auch *C. glabrata* wies gegenüber Itraconazol in den NBL eine höhere Resistenzrate auf (73,9% vs. 55,3% in den ABL).
Die untersuchten Isolate wurden aus 18 Universitätskliniken, 12 peripheren Kliniken, 7 Laborpraxen, 5 Behördenlaboren und 1 Bundeswehrkrankenhaus eingesandt. Der Vergleich der Institutionen zeigte, dass an Universitätskliniken NAC signifikant häufiger (44,1%) isoliert wurden als an Häusern der Grund- und Regelversorgung bzw. Laborpraxen (32,6%) oder gar Behörden (23,6%). Eine Ausnahme stellte *C. tropicalis* dar. Sein Anteil war im ambulanten Bereich am höchsten (8,1%), gefolgt von Behörden (6,9%), Universitätskliniken (6,0%) und peripheren Kliniken 4,0%.
Auch die Resistenzlage unterschied sich zwischen den Einrichtungen z.T. erheblich: Während die Anteile empfindlicher Isolate gegenüber Amphotericin B (allerorts 100,0%), Itraconazol (29,9 vs. 30,6%) und Voriconazol (98,3 vs 99,1%) in den Universitätskliniken nur geringfügig niedriger oder gleich hoch waren wie in peripheren Kliniken und Laborpraxen, klafften die Sensibilitätsraten von Flucytosin (90,7 vs. 93,5%), Caspofungin (75,7 vs. 80,2%) und Fluconazol (93,6 vs. 98,3%) erheblich auseinander.

Wie bedeutsam lokalepidemiologische Kenntnisse sind, ließ sich im interhospitalen Vergleich sehr deutlich darstellen. Hierzu wurden die Isolate der 6 einsendungsstärksten Einrichtungen verglichen: Der *C. albicans*-Anteil wich innerhalb dieser Gruppe um bis zu 26% ab. Bei den NAC schwankte der *C. glabrata*-Anteil um nahezu 24% (3,1% bis 26,7%), der *C. tropicalis*-Anteil um fast 6% (0% bis 5,7%). Das Beispiel *C. norvegensis* (0% bis 66,7%) verdeutlichte, dass die Inzidenzen insbesondere der seltenen Hefen und die damit verbundenen Resistenzproblematiken sehr stark von der Klinik abhängen.

Die Etablierung hauseigener Erreger- und Resistenzstatistiken auf der einen Seite und Untersuchungen und Analysen an Nationalen Referenzzentren im Rahmen gut funktionierender Netzwerke auf der anderen Seite sind wesentliche Bausteine für die Zukunft, um Resistenzprobleme und spezifische Risikofaktoren aufdecken zu können.

7. Literaturverzeichnis

Abbas J, Bodey GP, Hanna HA, Mardani M, Girgawy E, Abi-Said D, Whimbey E, Hachem R, Raad I (2000): Candida krusei fungemia. An escalating serious infection in immunocompromised patients. Arch Intern Med 160(17):2659-64.

Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S (1997): The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different Candida species. Clin Infect Dis 24(6):1122-8.

Adhikary R, Joshi S (2011): Species distribution and anti-fungal susceptibility of Candidaemia at a multi super-specialty center in Southern India. Indian J Med Microbiol 29(3):309-11.

Aftab BT, Dobromilskaya I, Liu JO, Rudin CM (2011): Itraconazole inhibits angiogenesis and tumor growth in non-small cell lung cancer. Cancer Res 71(21):6764-72.

Almirante B, Rodríguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres C, Rodriguez-Tudela JL, Pahissa A (2006): Epidemiology, risk factors, and prognosis of Candida parapsilosis bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. J Clin Microbiol 44(5):1681-5.

Arendrup MC (2010): Epidemiology of invasive candidiasis. Curr Opin Crit Care 16(5):445-52.

Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjaeldgaard P, Knudsen JD, Kristensen L, Møller J, Nielsen L (2011): National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). J Clin Microbiol 49(1):325-34.

Asmundsdóttir LR, Erlendsdóttir H, Gottfredsson M (2002): Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. J Clin Microbiol 40(9):3489-92.

Baillie GS, Douglas LJ (2000): Matrix polymers of Candida biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. J Antimicrob Chemother 46(3):397-403.

Barchiesi F, Spreghini E, Tomassetti S, Della Vittoria A, Arzeni D, Manso E, Scalise G (2006): Effects of caspofungin against Candida guilliermondii and Candida parapsilosis. Antimicrob Agents Chemother 50(8):2719-27.

Barry AL, Pfaller MA, Brown SD, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Knapp C, Rennie RP, Rex JH, Rinaldi MG (2000): Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. J Clin Microbiol 38(9):3457-9.

Bassetti M, Ansaldi F, Nicolini L, Malfatto E, Molinari MP, Mussap M, Rebesco B, Bobbio Pallavicini F, Icardi G, Viscoli C (2009): Incidence of candidaemia and relationship with fluconazole use in an intensive care unit. J Antimicrob Chemother 64(3):625-9.

Bassetti M, Taramasso L, Nicco E, Molinari MP, Mussap M, Viscoli C (2011): Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. PLoS One 6(9):e24198.

Betts RF, Nucci M, Talwar D, Gareca M, Queiroz-Telles F, Bedimo RJ, Herbrecht R, Ruiz-Palacios G, Young JA, Baddley JW; Caspofungin High-Dose Study Group (2009): A Multicenter, double-blind trial of a high-dose caspofungin treatment regimen versus a standard caspofungin treatment regimen for adult patients with invasive candidiasis. Clin Infect Dis 48(12):1676-84.

Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, Rangel-Frausto MS, Rinaldi MG, Saiman L, Wiblin RT; National Epidemiology of Mycoses Survey(NEMIS) Study Group (2001): Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. Clin Infect Dis 33(2):177-86.

Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Enzensberger R, Hebart H, Heinz W, Junghanss C, Karthaus M, Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO) (2009): Treatment of invasive fungal infections in cancer patients--recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). Ann Hematol 88(2):97-110.

Boogaerts M, Winston DJ, Bow EJ, Garber G, Reboli AC, Schwarer AP, Novitzky N, Boehme A, Chwetzoff E, De Beule K; Itraconazole Neutropenia Study Group (2001): Intravenous and oral itraconazole versus intravenous amphotericin B deoxycholate as empirical antifungal therapy for persistent fever in neutropenic patients with cancer who are receiving broad-spectrum antibacterial therapy. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med 135(6):412-22.

Borg M, Rüchel R (1990): Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of Candida albicans and Candida tropicalis. J Med Vet Mycol 28(1):3-14.

Borg-von Zepelin M, Kunz L, Rüchel R, Reichard U, Weig M and Groß U (2007): Epidemiology and antifungal susceptibilities of Candida spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. J Antimicrob Chemother 60:424-428

Bougnoux ME, Kac G, Aegerter P, d'Enfert C, Fagon JY; CandiRea Study Group (2008): Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. Intensive Care Med 34(2):292-9.

Brito LR, Guimarães T, Nucci M, Rosas RC, Paula Almeida L, Da Matta DA, Colombo AL (2006): Clinical and microbiological aspects of candidemia due to Candida parapsilosis in Brazilian tertiary care hospitals. Med Mycol 44(3):261-6.

Brozek J, McDonald E, Clarke F, Gosse C, Jaeschke R, Cook D (2007): Pneumonia observational incidence and treatment: a multidisciplinary process improvement study. Am J Crit Care 16(3):214-9.

Chakrabarti A, Mohan B, Shrivastava SK, Marak RS, Ghosh A, Ray P (2002): Change in distribution & antifungal susceptibility of Candida species isolated from candidaemia cases in a tertiary care centre during 1996-2000. Indian J Med Res 116:5-12.

Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning DW, Lortholary O (2006): Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? J Antimicrob Chemother 57(3):384-410.

Chen A, Sobel JD (2005): Emerging azole antifungals. Expert Opin Emerg Drugs 10(1):21-33.

Chen YN, Lo HJ, Wu CC, Ko HC, Chang TP, Yang YL (2011): Loss of Heterozygosity of FCY2 Leading to the Development of Flucytosine Resistance in Candida tropicalis. Antimicrob Agents Chemother 55(6):2506-14.

Chryssanthou E (2001): Trends in antifungal susceptibility among Swedish Candida species bloodstream isolates from 1994 to 1998: comparison of the E-test and the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the NCCLS M27-A reference method. J Clin Microbiol 39(11):4181-3.

Cisterna R, Ezpeleta G, Telleria O; Spanish Candidemia Surveillance Group (2010): Nationwide sentinel surveillance of bloodstream Candida infections in 40 tertiary care hospitals in Spain. J Clin Microbiol 48(11):4200-6.

Cohen Y, Karoubi P, Adrie C, Gauzit R, Marsepoil T, Zarka D, Clec'h C (2010): Early prediction of Candida glabrata fungemia in nonneutropenic critically ill patients. Crit Care Med 38(3):826-30.

Collette N, van der Auwera P, Lopez AP, Heymans C, Meunier F (1989): Tissue concentrations and bioactivity of amphotericin B in cancer patients treated with amphotericin B-deoxycholate. Antimicrob Agents Chemother 33(3):362-8.

Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, Warnock D, Morgan J; Brazilian Network Candidemia Study (2006): Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. J Clin Microbiol 44(8):2816-23.

Cuenca-Estrella M, Rodero L, García-Effrón G, Rodriguez-Tudela JL (2002): Antifungal susceptibilities of Candida spp. isolated from blood in Spain and Argentina, 1996-1999. J Antimicrob Chemother 49(6):981-7.

Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almela M, Mensa J, Sanchez F, Ayats J, Gimenez M; Barcelona Candidemia Project Study Group (2005): In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of Candida species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. J Antimicrob Chemother 55(2):194-9.

Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Buitrago MJ, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL (2006): Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. Antimicrob Agents Chemother 50(3):917-21.

D'Eça Júnior A, Silva AF, Rosa FC, Monteiro SG, de Maria Silva Figueiredo P, de Andrade Monteiro C (2011): In vitro differential activity of phospholipases and acid proteinases of clinical isolates of Candida. Rev Soc Bras Med Trop 4(3):334-8.

Denning DW, Ribaud P, Milpied N, Caillot D, Herbrecht R, Thiel E, Haas A, Ruhnke M, Lode H (2002): Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis. Clin Infect Dis 34(5):563-71.

Deray G (2002): Amphotericin B nephrotoxicity. J Antimicrob Chemother 49 Suppl 1:37-41.

Dimopoulos G, Velegraki A, Falagas ME (2009): A 10-year survey of antifungal susceptibility of candidemia isolates from intensive care unit patients in Greece. Antimicrob Agents Chemother 53(3):1242-4.

Ding C, Butler G (2007): Development of a gene knockout system in Candida parapsilosis reveals a conserved role for BCR1 in biofilm formation. Eukaryot Cell 6(8):1310-9.

Dóczi I, Dósa E, Hajdú E, Nagy E (2002): Aetiology and antifungal susceptibility of yeast bloodstream infections in a Hungarian university hospital between 1996 and 2000. J Med Microbiol 51(8):677-81.

Dodgson AR, Dodgson KJ, Pujol C, Pfaller MA, Soll DR (2004): Clade-specific flucytosine resistance is due to a single nucleotide change in the FUR1 gene of Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother 48(6):2223-7.

Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A (2007): Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. Neurology 68(5):384-6.

Douglas CM, D'Ippolito JA, Shei GJ, Meinz M, Onishi J, Marrinan JA, Li W, Abruzzo GK, Flattery A, Bartizal K (1997): Identification of the FKS1 gene of Candida albicans as the essential target of 1,3-beta-D-glucan synthase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 41(11):2471-9.

Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, Mantz J, Desmonts JM (2003): Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis? Crit Care Med 31(3):752-7.

Edlind TD, Katiyar SK (2010): Mutational analysis of flucytosine resistance in Candida glabrata. Antimicrob Agents Chemother 54(11):4733-8.

Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S (2007): Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. Intensive Care Med 33(4):606-18.

Epaulard O, Leccia MT, Blanche S, Chosidow O, Mamzer-Bruneel MF, Ravaud P, Thiebaut A, Villier C, Lortholary O (2011): Phototoxicity and photocarcinogenesis associated with voriconazole. Med Mal Infect 41(12):639-45.

Erbs P, Exinger F, Jund R (1997): Characterization of the Saccharomyces cerevisiae FCY1 gene encoding cytosine deaminase and its homologue FCA1 of Candida albicans. Curr Genet 31(1):1-6.

Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y; Alzheimer's Disease International (2005): Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. Lancet 366(9503):2112-7.

Fleck R, Dietz A, Hof H (2007): In vitro susceptibility of Candida species to five antifungal agents in a German university hospital assessed by the reference broth microdilution method and Etest. J Antimicrob Chemother 59(4):767-71.

Francis P, Walsh TJ (1992): Evolving role of flucytosine in immunocompromised patients: new insights into safety, pharmacokinetics, and antifungal therapy. Clin Infect Dis 15(6):1003-18.

Garcia-Effron G, Katiyar SK, Park S, Edlind TD, Perlin DS (2008): A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in Candida parapsilosis, Candida orthopsilosis, and Candida metapsilosis accounts for reduced echinocandin susceptibility. Antimicrob Agents Chemother 52(7):2305-12.

Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, Bearden DT (2006): Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. Clin Infect Dis 43(1):25-31.

Girmenia C, Finolezzi E, Federico V, Santopietro M, Perrone S (2011): Invasive Candida infections in patients with haematological malignancies and hematopoietic stem cell transplant recipients: current epidemiology and therapeutic options. Mediterr J Hematol Infect Dis 3(1):e2011013.

Giuliano M, Barza M, Jacobus NV, Gorbach SL (1987): Effect of broad-spectrum parenteral antibiotics on composition of intestinal microflora of humans. Antimicrob Agents Chemother 31(2):202-6.

Gleason TG, May AK, Caparelli D, Farr BM, Sawyer RG (1997): Emerging evidence of selection of fluconazole-tolerant fungi in surgical intensive care units. Arch Surg 132(11):1197-201

Glöckner A, Karthaus M (2011): Current aspects of invasive candidiasis and aspergillosis in adult intensive care patients. Mycoses 54(5):420-33.

Goodman JL, Winston DJ, Greenfield RA, Chandrasekar PH, Fox B, Kaizer H, Shadduck RK, Shea TC, Stiff P, Friedman DJ (1992): A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. N Engl J Med 326(13):845-51.

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekema D (2003): Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. Clin Infect Dis 37(9):1172-7.

Guzman JA, Tchokonte R, Sobel JD (2011): Septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of shock development. J Clin Med Res 3(2):65-71.

Hahn-Ast C, Glasmacher A, Mückter S, Schmitz A, Kraemer A, Marklein G, Brossart P, von Lilienfeld-Toal M (2010): Overall survival and fungal infection-related mortality in patients with invasive fungal infection and neutropenia after myelosuppressive chemotherapy in a tertiary care centre from 1995 to 2006. J Antimicrob Chemother 65(4):761-8.

Hajdu R, Thompson R, Sundelof JG, Pelak BA, Bouffard FA, Dropinski JF, Kropp H (1997): Preliminary animal pharmacokinetics of the parenteral antifungal agent MK-0991 (L-743,872). Antimicrob Agents Chemother 41(11):2339-44.

Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, Phelan M, Morgan J, Lee-Yang W, Ciblak MA (2004): Incidence of bloodstream infections due to Candida species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. J Clin Microbiol 42(4):1519-27.

Heykants J, Van Peer A, Lavrijsen K, Meuldermans W, Woestenborghs R, Cauwenbergh G (1990): Pharmacokinetics of oral antifungals and their clinical implications. Br J Clin Pract Suppl 71:50-6.

Hirtz D, Thurman DJ, Gwinn-Hardy K, Mohamed M, Chaudhuri AR, Zalutsky R (2007): How common are the "common" neurologic disorders? Neurology 68(5):326-37.

Höffken G, Niederman MS (2002): Nosocomial pneumonia: the importance of a de-escalating strategy for antibiotic treatment of pneumonia in the ICU. Chest 122(6):2183-96.

Hope WW, Tabernero L, Denning DW, Anderson MJ (2004): Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother 48(11):4377-86.

Horasan ES, Ersöz G, Göksu M, Otag F, Kurt AO, Karaçorlu S, Kaya A (2010): Increase in Candida parapsilosis fungemia in critical care units: a 6-years study. Mycopathologia 170(4):263-8.

Hsueh PR, Lau YJ, Chuang YC, Wan JH, Huang WK, Shyr JM, Yan JJ, Yu KW, Wu JJ, Ko WC (2005): Antifungal susceptibilities of clinical isolates of Candida species, Cryptococcus neoformans, and Aspergillus species from Taiwan: surveillance of multicenter antimicrobial resistance in Taiwan program data from 2003. Antimicrob Agents Chemother 49(2):512-7.

Jung SI, Shin JH, Song JH, Peck KR, Lee K, Kim MN, Chang HH, Moon CS; Korean Study Group for Candidemia (2010): Multicenter surveillance of species distribution and antifungal susceptibilities of Candida bloodstream isolates in South Korea. Med Mycol 48(4):669-74.

Kartsonis NA, Saah A, Lipka CJ, Taylor A, Sable CA (2004): Second-line therapy with caspofungin for mucosal or invasive candidiasis: results from the caspofungin compassionate-use study. J Antimicrob Chemother 53(5):878-81.

Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent JL; Extended Prevalence of Infection in ICU Study (EPIC II) Group of Investigators (2011): Candida bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. Crit Care Med 39(4):665-70

Klevay MJ, Horn DL, Neofytos D, Pfaller MA, Diekema DJ; PATH Alliance (2009): Initial treatment and outcome of Candida glabrata versus Candida albicans bloodstream infection. Diagn Microbiol Infect Dis 64(2):152-7.

Koch S, Höhne FM, Tietz HJ (2004): Incidence of systemic mycoses in autopsy material. Mycoses 47(1-2):40-6.

Koshy R, Malhotra P (2011): Treatment of primary aspergilloma of the central nervous system in a diabetic immunocompetent patient with surgical resection and voriconazole: a case report and review of the literature. Turk Neurosurg 21(4):641-4.

Kothari A, Sagar V (2009): Epidemiology of candida bloodstream infections in a tertiary care institute in India. Indian J Med Microbiol 27(2):171-2.

Krogh-Madsen M, Arendrup MC, Heslet L, and Knudsen JD (2006): Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. Clin Infect Dis 42:938-944.

Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA (2002): Antifungal susceptibility of Candida biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. Antimicrob Agents Chemother 46(6):1773-80.

Kullberg BJ, Sobel JD, Ruhnke M, Pappas PG, Viscoli C, Rex JH, Cleary JD, Rubinstein E, Church LW, Brown JM (2005): Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidaemia in non-neutropenic patients: a randomised non-inferiority trial. Lancet 366(9495):1435-42.

Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L (2006): Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit Care Med 34(6):1589-96.

Kumm K: Candida-Blutkulturisolate in Deutschland und Österreich - Spektrum, Klinik und Empfindlichkeit gegenüber sechs ausgewählten Antimykotika. Med. Diss. Göttingen 2008

Laffey SF, Butler G (2005): Phenotype switching affects biofilm formation by Candida parapsilosis. Microbiology 151(Pt 4):1073-81.

León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, León MA; EPCAN Study Group (2006): A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. Crit Care Med 34(3):730-7.

Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK (1998): Emergence of Candida parapsilosis as the predominant species causing candidemia in children. Clin Infect Dis 26(5):1086-8.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL and Ramsay G (2003): 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med 31(4):1250-6.

Lichtenstern C, Pratschke J, Schulz U, Schmoeckel M, Knitsch W, Kaskel P, Krobot KJ, Weigand MA, Winkler M (2010): Caspofungin after solid organ transplantation in Germany: observational study on treatment of invasive fungal infections. Anaesthesist 59(12):1083-90.

Lutsar I, Roffey S, Troke P (2003 a): Voriconazole concentrations in the cerebrospinal fluid and brain tissue of guinea pigs and immunocompromised patients. Clin Infect Dis 37(5):728-32.

Lutsar I, Hodges MR, Tomaszewski K, Troke PF, Wood ND (2003 b): Safety of voriconazole and dose individualization. Clin Infect Dis 36(8):1087-8.

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M (2003): The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 348(16):1546-54.

Martino P, Girmenia C, Micozzi A, Raccah R, Gentile G, Venditti M, Mandelli F (1993): Fungemia in patients with leukemia. Am J Med Sci 306(4):225-32.

Martino P, Girmenia C, Micozzi A, De Bernardis F, Boccanera M, Cassone A (1994): Prospective study of Candida colonization, use of empiric amphotericin B and development of invasive mycosis in neutropenic patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13(10):797-804.

Masiá Canuto M, Gutiérrez Rodero F (2002): Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. Lancet Infect Dis 2(9):550-63.

McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, Warnock DW (2001): Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. Clin Infect Dis 33(5):641-7.

Meersseman W, Lagrou K, Spriet I, Maertens J, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E (2009): Significance of the isolation of Candida species from airway samples in critically ill patients: a prospective, autopsy study. Intensive Care Med 35(9):1526-31

Merz WG, Karp JE, Schron D, Saral R (1986): Increased incidence of fungemia caused by Candida krusei. J Clin Microbiol 24(4):581-4.

Meyer E, Schwab F, Gastmeier P, Ruden H, Heininger A (2007): Antifungal use in intensive care units. J Antimicrob Chemother 60(3):619-24.

Miller CB, Waller EK, Klingemann HG, Dignani MC, Anaissie EJ, Cagnoni PJ, McSweeney P, Fleck PR, Fruchtman SM, McGuirk J (2004): Lipid formulations of amphotericin B preserve and stabilize renal function in HSCT recipients. Bone Marrow Transplant 33(5):543-8.

Mohandas V, Ballal M (2011): Distribution of Candida species in different clinical samples and their virulence: biofilm formation, proteinase and phospholipase production: a study on hospitalized patients in southern India. J Glob Infect Dis 3(1):4-8.

Mohr JF, Finkel KW, Rex JH, Rodriguez JR, Leitz GJ, Ostrosky-Zeichner L (2004): Pharmacokinetics of intravenous itraconazole in stable hemodialysis patients. Antimicrob Agents Chemother 48(8):3151-3.

Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, Colombo AL, Thompson-Moya L, Smietana J, Lupinacci R, Sable C, Kartsonis N, Perfect J; Caspofungin Invasive Candidiasis Study Group (2002): Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. N Engl J Med 347(25):2020-9.

Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH (2005): Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. Antimicrob Agents Chemother 49(9):3640-5.

Nagy I, Filkor K, Németh T, Hamari Z, Vágvölgyi C, Gácser A (2011): In vitro interactions of Candida parapsilosis wild type and lipase deficient mutants with human monocyte derived dendritic cells.BMC Microbiol 11:122.

National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard M27-A Second Edition. NCCLS, Wayne/PA 2002.

Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (2011): Referenzdaten des ITS-KISS, Berechnungszeitraum Januar 2006 bis Dezember 2010. www.nrz-hygiene.de

Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL (2010): Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. Clin Infect Dis 51(5):561-70.

Odds FC, Hanson MF, Davidson AD, Jacobsen MD, Wright P, Whyte JA, Gow NA, Jones BL (2007): One year prospective survey of Candida bloodstream infections in Scotland. J Med Microbiol 56(Pt 8):1066-75.

Okumura Y, Inoue N, Nikai T (2007): Isolation and characterization of a novel acid proteinase, tropiase, from Candida tropicalis IFO 0589. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi 48(1):19-25.

Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martínez JA, López J, Pitart C, Mensa J (2011): Candida species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. J Hosp Infect 77(2):157-61.

Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, Hamill RJ, Larsen RA, Horowitz HW, Powderly WG, Hyslop N, Kauffman CA, Cleary J (2003): Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream Candida isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother 47(10):3149-54.

Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, Kauffman CA, Kett D, Larsen RA, Morrison V (2007): Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 26(4):271-6.

Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, Pastore D, Picardi M, Bonini A, Chierichini A (2006): The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. Haematologica 91(8):1068-75.

Paluszynski JP, Klassen R, Rohe M, Meinhardt F (2006): Various cytosine/adenine permease homologues are involved in the toxicity of 5-fluorocytosine in Saccharomyces cerevisiae. Yeast 23(9):707-15.

Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, Kauffman CA, Hyslop N, Mangino JE, Chapman S; NIAID Mycoses Study Group (2003): A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. Clin Infect Dis 37(5):634-43.

Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, Edwards JE Jr, Filler SG, Fisher JF, Kullberg BJ, Ostrosky-Zeichner L (2009): Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 48(5):503-35.

Park BJ, Arthington-Skaggs BA, Hajjeh RA, Iqbal N, Ciblak MA, Lee-Yang W, Hariston MD, Phelan M, Plykaitis BD, Sofair AN (2006): Evaluation of amphotericin B interpretive breakpoints for *Candida* bloodstream isolates by correlation with therapeutic outcome. Antimicrob. Agents Chemother 50:1287-1292

Park S, Kelly R, Kahn JN, Robles J, Hsu MJ, Register E, Li W, Vyas V, Fan H, Abruzzo G (2005): Specific substitutions in the echinocandin target Fks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical Candida sp. isolates. Antimicrob Agents Chemother 49(8):3264-73.

Pasero D, De Rosa FG, Rana NK, Fossati L, Davi A, Rinaldi M, Di Perri G, Ranieri VM (2011): Candidemia after cardiac surgery in the intensive care unit: an observational study. Interact Cardiovasc Thorac Surg 12(3):374-8.

Patel GP, Simon D, Scheetz M, Crank CW, Lodise T, Patel N (2009): The effect of time to antifungal therapy on mortality in Candidemia associated septic shock. Am J Ther 16(6):508-11.

Perlin DS (2007): Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. Drug Resist Updat 10(3):121-30.

Pfaller MA (1996): Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clin Infect Dis 22 Suppl 2:89-94.

Pfaller MA, Diekema DJ; International Fungal Surveillance Participant Group (2004): Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of Candida. Clin Microbiol Infect 10 Suppl 1:11-23.

Pfaller MA, Diekema DJ (2007): Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 20(1):133-63.

Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Huynh H, Hollis RJ, Diekema DJ (2002): In vitro activities of 5-fluorocytosine against 8,803 clinical isolates of Candida spp.: global assessment of primary resistance using National Committee for Clinical Laboratory Standards susceptibility testing methods. Antimicrob Agents Chemother 46(11):3518-21.

Pfaller MA, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ, and Diekema DJ (2004 a): Evaluation of the Etest method using Mueller-Hinton agar with glucose and methylene blue for determining amphotericin B MICs for 4.936 clinical isolates of *Candida* species. J Clin Microbiol 42:3142-3146

Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, and Diekema DJ (2004 b): Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of Candida glabrata to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS Antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. J Clin Microbiol 42:3142-3146

Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S, Diekema DJ (2004 c): In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of Candida spp. and Cryptococcus neoformans collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. Diagn Microbiol Infect Dis 48(3):201-5.

Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ (2005): In vitro susceptibilities of clinical isolates of Candida species, Cryptococcus neoformans, and Aspergillus species to itraconazole: global survey of 9,359 isolates tested by clinical and laboratory standards institute broth microdilution methods. J Clin Microbiol 43(8):3807-10.

Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, Espinel-Ingroff A, Johnson EM, Andes D, Chaturvedi V, Ghannoum MA, Odds FC, Rinaldi MG (2006): Correlation of MIC with outcome for Candida species tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretive breakpoints. J Clin Microbiol 44(3):819-26.

Pfaller MA, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Alexander BD, Andes D, Brown SD, Chaturvedi V, Ghannoum MA, Knapp CC (2008): Correlation of MIC with outcome for Candida species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin: analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. J Clin Microbiol 46(8):2620-9.

Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, Rodloff A, Fu W, Ling TA; and the Global Antifungal Surveillance Group (2010): Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of Candida Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. J Clin Microbiol 48(4):1366-77.

Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, Motyl M, Perlin DS; CLSI Subcommittee for Antifungal Testing (2011): Clinical breakpoints for the echinocandins and Candida revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. Drug Resist Updat 14(3):164-76.

Piarroux R, Grenouillet F, Balvay P, Tran V, Blasco G, Millon L, Boillot A (2004): Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically ill surgical patients. Crit Care Med 32(12):2443-9.

Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R (1994): Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. Ann Surg 220(6):751-8.

Poikonen E, Lyytikäinen O, Anttila VJ, Ruutu P (2003): Candidemia in Finland, 1995-1999. Emerg Infect Dis 9(8):985-90.

Prentice HG, Kibbler CC, Prentice AG (2000): Towards a targeted, risk-based, antifungal strategy in neutropenic patients. Br J Haematol 110(2):273-84.

Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, Saiman L, Patterson J, Rinaldi M, Pfaller M, Edwards JE Jr, Jarvis W, Dawson J (1999): National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to Candida species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. Clin Infect Dis 29(2):253-8.

Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, Kollef MH; VAP Outcomes Scientific Advisory Group (2002): Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. Chest 122(6):2115-21.

Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Lancaster M, Odds FC, Rinaldi MG, Walsh TJ (1997): Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and candida infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clin Infect Dis 24(2):235-47.

Richet HM, Andremont A, Tancrede C, Pico JL, Jarvis WR(1991): Risk factors for candidemia in patients with acute lymphocytic leukemia. Rev Infect Dis 13(2):211-5.

Robert Koch-Institut: Krebs in Deutschland 2007/2008. 8. Ausgabe 2012; www.rki.de

Roetzer A, Gabaldón T, Schüller C (2011): From Saccharomyces cerevisiae to Candida glabrata in a few easy steps: important adaptations for an opportunistic pathogen. FEMS Microbiol Lett 314(1):1-9.

Ruan SY, Hsueh PR (2009): Invasive candidiasis: an overview from Taiwan. J Formos Med Assoc 108(6):443-51.

Ruhnke M, Rickerts V, Cornely OA, Buchheidt D, Glöckner A, Heinz W, Höhl R, Horré R, Karthaus M, Kujath P, German Speaking Mycological Society, Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy (2011): Diagnosis and therapy of Candida infections: joint recommendations of the German Speaking Mycological Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. Mycoses 54(4):279-310.

Sable CA, Nguyen BY, Chodakewitz JA, DiNubile MJ (2002): Safety and tolerability of caspofungin acetate in the treatment of fungal infections. Transpl Infect Dis 4(1):25-30.

Samonis G, Gikas A, Anaissie EJ, Vrenzos G, Maraki S, Tselentis Y, Bodey GP (1993): Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans. Antimicrob Agents Chemother 37(1):51-3.

Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Haukland HH, Mannsåker T, Gaustad P; Norwegian Yeast Study Group (2006): Candidemia in Norway (1991 to 2003): results from a nationwide study. J Clin Microbiol 44(6):1977-81.

Schmalreck AF, Fegeler W (1996): Criteria for a microdilution susceptibility testing method of fluconazole: proposal of a standardized testing method for yeasts. Mycoses 39 Suppl. 2:12-16

Schwartz S, Thiel E (2004): Update on the treatment of cerebral aspergillosis. Ann Hematol 83 Suppl. 1:42-4.

Singer JP, Boker A, Metchnikoff C, Binstock M, Boettger R, Golden JA, Glidden DV, Arron ST (2012): High cumulative dose exposure to voriconazole is associated with cutaneous squamous cell carcinoma in lung transplant recipients. J Heart Lung Transplant 31(7):694-9.

Sipsas NV, Lewis RE, Tarrand J, Hachem R, Rolston KV, Raad II, Kontoyiannis DP (2009): Candidemia in patients with hematologic malignancies in the era of new antifungal agents (2001-2007): stable incidence but changing epidemiology of a still frequently lethal infection. Cancer 115(20):4745-52.

Slavin MA, Sorrell TC, Marriott D, Thursky KA, Nguyen Q, Ellis DH, Morrissey CO, Chen SC; Australian Candidemia Study, Australasian Society for Infectious Diseases (2010): Candidaemia in adult cancer patients: risks for fluconazole-resistant isolates and death. J Antimicrob Chemother 65(5):1042-51.

Slotman GJ, Shapiro E, Moffa SM (1994): Fungal sepsis: multisite colonization versus fungemia. Am Surg 60(2):107-13.

Sobel JD, Rex JH (2001): Invasive candidiasis: turning risk into a practical prevention policy? Clin Infect Dis 33(2):187-90.

Sofair AN, Lyon GM, Huie-White S, Reiss E, Harrison LH, Sanza LT, Arthington-Skaggs BA, Fridkin SK (2006): Epidemiology of community-onset candidemia in Connecticut and Maryland. Clin Infect Dis 43(1):32-9.

Statistisches Bundesamt (2013): Durchschnittliche fernere Lebenserwartung in den Bundesländern nach der Sterbetafel 2009/2011. www.destatis.de

St-Germain G, Laverdière M, Pelletier R, René P, Bourgault AM, Lemieux C, Libman M (2008): Epidemiology and antifungal susceptibility of bloodstream Candida isolates in Quebec: Report on 453 cases between 2003 and 2005. Can J Infect Dis Med Microbiol 19(1):55-62.

Stone HH, Kolb LD, Currie CA, Geheber CE, Cuzzell JZ (1974): Candida sepsis: pathogenesis and principles of treatments. Ann Surg 179(5):697-711.

Swinne D, Nolard N, VAN Rooij P, Detandt M (2009): Bloodstream yeast infections: a 15-month survey. Epidemiol Infect 137(7):1037-40.

Takesue Y, Oda S, Fujishima S, Mikamo H, Aikawa N (2012): Clinical efficacy and safety of intravenous itraconazole in the management of invasive candidiasis in patients of surgery and critical care. J Infect Chemother 18(4):515-21.

Tassel D, Madoff MA (1968): Treatment of Candida sepsis and Cryptococcus meningitis with 5-fluorocytosine. A new antifungal agent. JAMA 206(4):830-2.

Taur Y, Cohen N, Dubnow S, Paskovaty A, Seo SK (2010): Effect of antifungal therapy timing on mortality in cancer patients with candidemia. Antimicrob Agents Chemother 54(1):184-90.

Tortorano AM, Rigoni AL, Biraghi E, Prigitano A, Viviani MA; FIMUA-ECMM Candidaemia Study Group (2003): The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: antifungal susceptibility patterns of 261 non-albicans Candida isolates from blood. J Antimicrob Chemother 52(4):679-82.

Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, Biraghi E, Canton E, Zimmermann K, Seaton S; ECMM Working Group on Candidaemia (2004): Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23(4):317-22.

Trenschel R, Ditschkowski M, Elmaagacli AH, Koldehoff M, Ottinger H, Steckel N, Hlinka M, Peceny R, Rath PM, Dermoumi H (2005): Caspofungin as second-line therapy for fever of unknown origin or invasive fungal infection following allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 35(6):583-6.

Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP; National Nosocomial Infections Surveillance System Hospitals (2002): Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. Clin Infect Dis 35(5):627-30.

Trofa D, Soghier L, Long C, Nosanchuk JD, Gacser A, Goldman DL (2011): A rat model of neonatal candidiasis demonstrates the importance of lipases as virulence factors for Candida albicans and Candida parapsilosis. Mycopathologia 172(3):169-78.

Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R, de Gaetano Donati K, La Sorda M, Spanu T, Fadda G (2007): Biofilm production by Candida species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. J Clin Microbiol 45(6):1843-50.

Ullmann AJ, Sanz MA, Tramarin A, Barnes RA, Wu W, Gerlach BA, Krobot KJ, Gerth WC; Longitudinal Evaluation of Antifungal Drugs (LEAD I) Investigators (2006): Prospective study of amphotericin B formulations in immunocompromised patients in 4 European countries. Clin Infect Dis 43(4):e29-38.

Vandewoude K, Vogelaers D, Decruyenaere J, Jaqmin P, De Beule K, Van Peer A, Woestenborghs R, Groen K, Colardyn F (1997): Concentrations in plasma and safety of 7 days of intravenous itraconazole followed by 2 weeks of oral itraconazole solution in patients in intensive care units. Antimicrob Agents Chemother 41(12):2714-8.

Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J (2000): Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. J Antimicrob Chemother 46(2):171-9.

Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V (1999): Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Clin Infect Dis 28(5):1071-9.

Voss A, le Noble JL, Verduyn Lunel FM, Foudraine NA, Meis JF (1997): Candidemia in intensive care unit patients: risk factors for mortality. Infection 25(1):8-11.

Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR, Maertens JA, Baden LR, Dmoszynska A, Cornely OA, Bourque MR, Lupinacci RJ, Sable CA (2004): Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. N Engl J Med 351(14):1391-402.

Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP (1989): Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. Arch Intern Med 149(10):2349-53.

Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R (1991): Increase in Candida krusei infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. N Engl J Med 325(18):1274-7.

Winkler M, Pratschke J, Schulz U, Zheng S, Zhang M, Li W, Lu M, Sgarabotto D, Sganga G, Kaskel P (2010): Caspofungin for post solid organ transplant invasive fungal disease: results of a retrospective observational study. Transpl Infect Dis 12(3):230-7.

Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB (2004): Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 39(3):309-17.

Yamagishi Y, Terada M, Ohki E, Mikamo H (2009): [Antifungal susceptibility of Candida species isolated from patient with invasive fungal peritonitis and investigation on clinical breakpoints of itraconazole]. Jpn J Antibiot 62(5):415-34.

Yang YL, Li SY, Chang HH and Lo HJ (2005): Susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of Candida species in TSARY 2002. Diagn Microbiol Infect Dis 51:179-183

Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, Cetin B, Kaya O (2011): Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. Med Mycol 49(1):26-31.

Zhang YY, Zhou X; National Collaborative Group of Sequential Itraconazole Treatment for Invasive Pulmonary Mycosis. (2011): Efficacy and safety of intravenous itraconazole followed by oral itraconazole solution in the treatment of invasive pulmonary mycosis. Chin Med J (Engl) 124(20):3415-9.

Zirkel J, Klinker H, Kuhn A, Abele-Horn M, Tappe D, Turnwald D, Einsele H, Heinz WJ (2012): Epidemiology of Candida blood stream infections in patients with hematological malignancies or solid tumors. Med Mycol 50(1):50-5.

Danksagung

Da jedes größere Projekt - so auch diese Dissertation - im Alleingang unmöglich zu bewältigen ist, möchte ich an erster Stelle den zahlreichen namentlich nicht genannten Unterstützern danken:
Das Fundament bildeten die engagierten und treuen Einsenderinnen und Einsender des MykoLabNet-D.
Als tragender Pfeiler seien die erfahrenen und stets hilfsbereiten Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Mikrobiologischen Institutes hervorgehoben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. M. Borg-von Zepelin, die den Erfolg dieser Arbeit von Anfang an wesentlich durch ein warmherziges und konstruktives Arbeitsklima und ihre Expertise bestimmte.

Meinem guten Freund und Laborpartner Ralf Höch danke ich für seine Antriebskraft, die erfolgreiche Teamarbeit und viele unvergessliche Stunden im Labor.

Für die vielen wertvollen Hinweise auf grammatikalische Fehler und erklärungsbedürftige Begrifflichkeiten danke ich meinen fachfremden Korrektoren Marc Schellworth und meinem Bruder René.

Lebenslauf

Ich wurde am 16. April 1983 als Sohn des KFZ-Elektromeisters Rainer Kahl und der Textilfacharbeiterin Petra Platz in Görlitz geboren.
Meine ersten beiden Lebensjahre verbrachte ich in dieser Stadt. Ein Jahr vor der Geburt meines Bruders René erwarben meine Eltern ein Haus in Cunewalde.
Auf dem Land verbrachte ich meine Kindheit und absolvierte von 1989 bis 1994 auch den ersten Abschnitt meiner schulischen Ausbildung an der „Wilhelm-von-Polenz-Schule“ (vormals „POS Werner Lamberz“). 1994 wechselte ich an das Geschwister-Scholl-Gymnasium nach Löbau, wo ich im Juni 2001 meine Allgemeine Hochschulreife erlangte.
Beginnend im Juli 2001 trat ich meinen neunmonatigen Wehrdienst in Zeithain bei Riesa an. Nach Beendigung des Wehrdienstes war ich bis zum Beginn des Hochschulstudiums als Handelsvertreter für Elektrogeräte tätig.
Im Sommersemester 2003 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Georgia Augusta in Göttingen auf und schloss den vorklinischen Abschnitt im März 2005 erfolgreich ab.
Die Labortätigkeit für die vorliegende Dissertation begann im Oktober 2007 in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. med. M. Borg-von Zepelin, Abteilung Medizinische Mikrobiologie (Prof. Dr. med. U. Groß) des Zentrums für Hygiene und Humangenetik in Göttingen.
Im Mai 2009 schloss ich das Studium mit dem Staatsexamen ab und erhielt meine Approbation als Arzt.
Meine angestrebte Facharztausbildung für Anästhesie begann im Juli 2009 in der Abteilung Anästhesie, Intensiv- und Schmerzmedizin (CA Dr. med. K. Kirchner) des Eichsfeld-Klinikums in Heiligenstadt. Nach zweijähriger Tätigkeit erfolgte eine Rotation innerhalb der Abteilung mit Standortwechsel nach Reifenstein. Dort arbeitete ich bis Juni 2013.
Von Juli 2013 bis März 2014 war ich in der Abteilung Kinder- und Jugendmedizin (CA Dr. med. O. Möller) des Eichsfeld-Klinikums Heiligenstadt tätig.
Seit April 2014 arbeite ich wieder in der Abteilung Anästhesie, Intensiv- und Schmerzmedizin des Eichsfeld-Klinikums am Standort Heiligenstadt zur Weiterbildung in Spezieller Schmerztherapie.
Nebenberuflich nehme ich - seit Abschluss der Weiterbildung Notfallmedizin im April 2013 - zudem regelmäßig am Notarztdienst im Kreis Eichsfeld teil.