

Barbara Klempp-Selb

Dr. sc. hum.

Karyotypisierung von *Candida albicans* und *Candida glabrata* bei Patienten mit transjugulärem intrahepatischen portosystemischen Stent-Shunt (TIPS) und bei Sepsis-Patienten

Geboren am 30.01.1955 in Heidelberg

Reifeprüfung am 07.06.1974 in Heidelberg

Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1984 bis WS 1992

Vordiplom am 15.07.1987 an der Universität Heidelberg

Diplom am 27.02.1992 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. R. Kappe

Von 12 leberzirrhotischen Patientinnen mit einem transjugulären intrahepatischen portosystemischen Stent-Shunt (TIPS) und sechs *Candida*-Sepsis-Patienten sind insgesamt 150 Hefepilz-positive Materialien verschiedenster lokaler Herkunft auf Hefepilz-Species und deren Verwandtschaftsgrad untersucht worden. Die Proben der TIPS-Patienten wurden - auf den einzelnen Patienten bezogen - über Zeitspannen von Wochen und mehr als 14 Monaten gesammelt, während sich die Probengewinnung bei den Sepsis-Patienten - je nach Patient - über einen Tag bis zu 18 Tagen erstreckte.

Candida albicans wurde aus 92 der 150 Hefepilz-positiven Materialien isoliert, die restlichen 58 Proben enthielten *Candida glabrata*; andere gelegentlich isolierte *Candida*-Species wurden molekularbiologisch nicht weiter verfolgt.

Die Karyotypisierung der aus den Materialien der 12 TIPS-Patientinnen angezüchteten Isolate von *C. albicans* und *C. glabrata* ergab, daß jede Patientin „ihren“ eigenen Hefestamm besaß. Trat ein neuer Karyotyp auf, so handelte es sich um eine Neubesiedlung oder eine Co-Besiedlung mit einem weiteren Stamm.

Bei fünf der 6 Sepsis-Patienten wurde eindeutig die Übereinstimmung des Karyotyps des Blutkulturisolates mit den Karyotypen der Isolate aus den übrigen Materialien in der Pulsfeld-Gel-Elektrophorese (PFGE) dargestellt. Bei den Isolaten dieser fünf Patienten kann mit großer Wahrscheinlichkeit von einer klonalen Identität ausgegangen werden. Ein Patient mit einer *C. glabrata*-Sepsis wies zwar in allen 7 Isolaten dasselbe Hauptlaufmuster auf, jedoch kann durch Variationen in der Region 1 des *Glabrata*-Laufmusters nicht eindeutig auf einen einzigen Vorläuferstamm geschlossen werden.

Geringfügige Abweichungen in der Laufstrecke einer Bande, der Verlust einer Bande oder eine zusätzliche Bande in der „variablen“ Region weisen nicht auf einen neuen Stamm hin, sondern sind Ausdruck chromosomaler Umlagerungen (Rearrangements). Voraussetzung hierfür ist, daß die für die jeweilige Species als „konstant“ erachtete(n) Region(en) der verschiedenen Isolate eines Patienten in ihrem Bandenmuster identisch bleibt (bleiben).

Um Stämme in dieser Hinsicht miteinander vergleichen zu können, wurden anhand der Laufmuster aller untersuchten Isolate Kriterien zur Festlegung von Species-eigenen Hauptlaufmustern mit konstanten und variablen Bereichen aufgestellt. Erst diese Einteilung ermöglichte die genaue Zuordnung einzelner Isolate bzw. Patienten-Stämme zu einem gemeinsamen Karyotyp, welcher in der vorliegenden Arbeit in der Bezeichnung des Hauptlaufmusters seine Entsprechung fand.

Die in dieser Arbeit eingesetzte contour-clamped homogeneous electric field (CHEF)-Methode zur Karyotypisierung von *C. albicans*- und *C. glabrata*-Isolaten erwies sich als erfolgreiche und aussagekräftige Typisierungsmethode mit hoher Diskriminationsfähigkeit von Stämmen einer Hefespecies.

Neben der DNA-Typisierung wurden 100 aerobe und 100 anaerobe Pfortader-Blutkulturen, sowie 84 peripher-venöse Blutkulturen von 94 TIPS-Patienten auf Hefepilze untersucht, um die Pathogenese einer Candidämie näher zu beleuchten. Trotz vorgeschädigtem Patienten-Kollektiv mit klinisch relevanten *Candida*-Mengen von 10^7 und mehr pro Gramm Stuhl (25 von 94 TIPS-Patienten; =26,6 %) zeigten sich alle Blutkulturen Hefepilz-negativ.

Alle TIPS-Patientinnen, auch diejenigen mit sehr hohem Pilzkeimzahl-Nachweis im Stuhl hatten keinerlei klinische Symptomatik, die auf eine Candidose hinweisen könnte. Das überrascht, da der Mykoflora im Zusammenhang mit Grunderkrankungen, wie sie eben hier in diesem Kollektiv nicht nur als Leberzirrhose, sondern auch zum Teil in Form von fortdauerndem Alkoholabusus und einem zusätzlich vorhandenen Diabetes mellitus vorliegen, eine schädigende Wirkung für den Wirt nachgesagt wird.

Dies zeigt, daß selbst eine massive intestinale Mykoflora bei Leberzirrhotikern im allgemeinen kommensalen Charakter hat.