

Diplomarbeit

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
(Dr.med.dent.)**

an der Medizinischen Universität Graz

über das Thema

**Die Besiedelung der Mundhöhle mit Hefepilzen bei
langzeitsondierten, essgestörten Kindern im Vergleich zu einer
gesunden Kontrollgruppe**

ausgeführt an der

Medizinischen Universität Graz

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Labor für medizinische Mykologie

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Abteilung für Psychosomatik und Psychotherapie

unter Anleitung von

Priv.-Doz. Ing. Mag. Dr.rer.nat. Walter Buzina

vorgelegt von

Fritz Pöllinger

WS 2008/2009

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich habe sämtliche Autoren- und Verlagsrechte der verwendeten Literaturquellen beachtet, nur die angegebenen Quellen benützt und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Graz, am

Name, Unterschrift

DANKSAGUNG

Priv.-Doz. Ing. Mag. Dr.rer.nat. Walter Buzina danke ich für seine hilfreiche und engagierte Unterstützung im Rahmen seiner Funktion als Betreuer dieser Diplomarbeit, sowie für die Bereitstellung der wissenschaftlichen Infrastrukturen.

Dr. rer. nat. Astrid Helga Paulitsch gebührt großer Dank für die professionelle Auswertung meiner Studienergebnisse, sowie für Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

MTA Heiling Bettina danke ich für tatkräftige Unterstützung bei der Verarbeitung der Mundhöhlenabstriche und Stuhlproben im Labor, des Weiteren für die Erklärung und Demonstration der dafür notwendigen Arbeitsschritte.

Bedanken möchte ich mich auch beim **Team der Ambulanz für Psychosomatik und Psychotherapie** im Bereich der Klinischen Abteilung für Allgemeine Pädiatrie an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde in Graz, vor allem bei **Univ. Prof. Dr. Marguerite Dunitz-Scheer, Univ. Prof. Dr. Peter Scheer, Dr. Katharina Burmucic** sowie dem **Diplompflegepersonal**, den **LehrerInnen**, den **SozialpädagogInnen** und den **SozialarbeiterInnen** für ihre kompetente und freundliche Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank ergeht an meine Mutter **Pöllinger Gertrud**, sowie an meine Geschwister **Mag. Pöllinger Gabriela, Cebular Doris** und **Pöllinger-Zmugg Julia**, ohne deren Unterstützung und Verständnis die Absolvierung meines Zahnmedizinstudiums nicht möglich gewesen wäre.

Rainer Ferrares gebührt großer Dank für den hard- und softwaretechnischen Support.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Zusammenfassung	6
2	Summary	8
3	Einleitung	9
4	Grundlagen der Mykologie	10
4.1	<i>Einteilung</i>	10
4.2	<i>Was sind Hefepilze?</i>	11
4.2.1	Gliederung.....	11
4.2.2	Klinische Relevanz der Hefepilze.....	12
4.2.3	Charakteristische Kennzeichen der Hefepilze.....	13
4.2.4	Vermehrung von Hefepilzen.....	13
4.3	<i>Candida Besiedelung der Mundhöhle</i>	14
4.4	<i>Candida albicans</i>	15
4.4.1	Nachweis von <i>Candida albicans</i>	15
4.4.2	Die Rolle als Krankheitserreger und Virulenzeigenschaften von <i>C. albicans</i>	16
4.5	<i>Andere Candidaarten</i>	17
4.5.1	<i>Candida dubliniensis</i>	17
4.5.2	<i>Candida famata</i>	17
4.5.3	<i>Candida guilliermondii</i>	17
4.5.4	<i>Candida intermedia</i>	18
4.5.5	<i>Candida krusei</i>	18
4.5.6	<i>Candida lipolytica</i>	19
4.5.7	<i>Candida lusitaniae</i>	19
4.5.8	<i>Candida parapsilosis</i>	19
4.5.9	<i>Candida pulcherrima</i>	20
4.5.10	<i>Candida zeylanoides</i>	20
5	Grundlagen der Histologie	21
5.1	<i>Die Mucosa</i>	21
5.1.1	Histologie der Mundhöhlenschleimhaut.....	21
5.1.2	Allgemeiner Aufbau des Verdauungstraktes.....	24

	5
6 Ziel der Arbeit	29
7 Material und Methodik	30
7.1 <i>Probenverarbeitung</i>	31
7.1.1 Pilzuntersuchung	31
7.1.2 Semiquantitative Bestimmung der Hefepilze aus den Stuhlproben	31
7.1.3 Statistische Auswertung	32
8 Resultate	33
8.1 <i>Statistik</i>	33
8.1.1 Verlauf der Isolierungen von Pilzen über die drei Wochen	33
8.1.2 Vergleich isolierte Spezies gesamt	35
8.1.3 Besiedlungsraten (in Prozent)	36
8.1.4 Patientenstatistik	37
9 Diskussion	39
10 Konklusion	42
11 Literaturverzeichnis	43
12 Anhang	46
12.1 <i>Elterninformation und Einwilligung Studienteilnehmer und Kontrollgruppe</i>	46
12.2 <i>Parents information and agreement study participant</i>	50
12.3 <i>Elternprotokoll für Kinder der Kontrollgruppe</i>	53
12.4 <i>Datenerfassungsblatt</i>	56
12.5 <i>Befundtabelle</i>	57
13 Lebenslauf	58

1 Zusammenfassung

Einleitung - Die Station für Psychosomatik und Psychotherapie im Bereich der Klinischen Abteilung für Allgemeine Pädiatrie an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinischen Universität Graz ist weltweit für ihr effektives Programm der Sondenentwöhnung von langzeitsondierten Kindern bekannt. Da die meisten dieser kleinen Patienten noch nie zuvor oral mit Nahrung in Kontakt gekommen sind, stellt sich die Frage, ob es Unterschiede in der Besiedelung der Mundhöhle mit Hefepilzen bei langzeitsondierten Kindern im Vergleich zu gesunden Kindern, die sich normal oral ernähren, gibt. Die Tatsache, dass es wenig Literatur zu diesem Thema gibt war ausschlaggebend dafür, ein klinisches Forschungsprojekt unter Einverständnis der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz, durchzuführen.

Methodik - Für die Studie wurden 15 sondenernährte Kinder zwischen 0,5 und 8 Jahren, welche über eine Magen- bzw. PEG-Sonde (Perkutan Endoskopische Gastrostomie Sonde) oder über eine NG-Sonde (Nasogastrische Sonde) ernährt wurden und 15 altersgleiche gesunde Kinder aus dem Verwandten- und Bekanntenkreis der StudienmitarbeiterInnen herangezogen. Es wurden Mundhöhlenabstriche bei stationärer Aufnahme, nach einer und nach zwei Wochen bei der Patientengruppe jeweils am Montag, bzw. drei Abstriche im Abstand von je einer Woche der Kontrollgruppe mittels Abstrichtupfer entnommen. Pro Probennahme wurden zwei Abstriche entnommen; einmal aus dem Vestibulum oris, sowie von der Zunge. Stuhlproben wurden zu denselben Zeitpunkten sowohl von der Patientengruppe als auch von der Kontrollgruppe über die Eltern in Stuhlgefäßen gesammelt, im Kühlschrank aufbewahrt und bis spätestens nächsten Tag ins Labor gebracht. Die Mundhöhlenabstriche wurden auf Candida-Id Platten und Sabouraud Glucose Agar Röhren für 2-7 Tage bei 35°C (Platten) bzw. 30°C (Röhren) kultiviert, die Stuhlproben auf Sabouraud Glucose Agar ausgespatelt und anschließend für 48 h bei 36°C bebrütet und auf verschiedene Candida Arten untersucht.

Ergebnisse - Candida albicans kommt in der Kontrollgruppe nicht signifikant häufiger vor als in der Patientengruppe. Candida parapsilosis kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger in der Kontrollgruppe als in der Patientengruppe vor.

Konklusion - Das Auftreten von Hefepilzen in der Mundhöhle kann von Individuum zu Individuum verschieden sein. Das Auftreten von Candida albicans im Stuhl ist als normal

anzusehen und es besteht keine Notwendigkeit für eine weitere Diagnostik oder eine therapeutische Intervention.

2 Summary

Introduction - The clinical department for general pediatrics' ward for psychosomatic medicine and psychotherapy at the Medical University of Graz is known worldwide for its effective program in aiding long-term feeding tube patients in the transition back to normal food. Since most of these little patients have never before received oral nourishment, it raises the question, whether there are differences in the population of yeasts in the oral cavity of a long-term tube fed child compared to that of a healthy child, who receives oral nourishment. The fact that there is little literature available on this topic was one of the determining factors for conducting this investigation which has been approved by the University of Graz' ethics commission.

Methodology - Fifteen children who were nourished entirely by PEG-tube (Percutan endoscopic gastrostomy tube) or by NG-tube (nasogastric tube) between the age of 6 months and 8 years, and 15 healthy children of the same age from relatives and friends of those who were involved in carrying out this project were enrolled in the study. Oral swabs were taken from the patients upon admission to the hospital. After the first and after the second week orals swabs were taken on Monday from both the patients and controls. Two swabs were taken for the samples; one from the Vestibulum oris, and one from the tongue. Stool samples were collected at the same time from both the control and test groups by the parents and put into containers to be kept in the refrigerator unfrozen and brought to the laboratory on the next day, at the latest. The oral swabs were incubated on Candida ID plates and Sabouraud glucose agar tubes at 35°C for 2-7 days (plates) or at 30°C (tubes) and stool samples were spread out on Sabouraud glucose agar, incubated at 36°C for 48 h and thereafter to test for several Candida species.

Results - *Candida albicans* is not significant more frequently in the control group than in the patient group. *Candida parapsilosis* is found with $p = 0.01$ highly significant more frequently in the control group than in the patient group.

Conclusion - The incidence of yeasts in the oral cavity may vary from individual to individual. The incidence of *Candida albicans* in stool is to be regarded as normal and there is no need for further diagnostic or therapeutic intervention.

3 Einleitung

Die Station für Psychosomatik und Psychotherapie im Bereich der Klinischen Abteilung für Allgemeine Pädiatrie an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinischen Universität Graz ist weltweit für ihr effektives Programm der Sondenentwöhnung von langzeitsondierten Kindern bekannt. Es werden ca. 50 Kleinkinder/Jahr mit ihren Familien betreut. Die meisten kommen aus Ländern außerhalb Österreichs. Seit Einführung von PEG - Sonden vor etwa 15 Jahren haben viele Kinder eine solche erhalten. Weltweit existieren keine klaren Richtlinien über Indikationen und Kontraindikationen für Sondenernährung, keine Richtlinien für die Art der Sonde und keine Regeln für das Entfernen solcher. Häufige Sondenindikationen sind Atresien, anatomische Missbildungen, Schluckstörungen, Schwerstbehinderungen, aber auch Essverweigerung. Viele dieser Kinder haben aufgrund der frühen Sondenindikation noch nie zuvor oral Nahrung zu sich genommen und können in der Regel nicht selbst essen. Eine ganz besondere Therapieform zur Sondenentwöhnung ist das „Spieleessen“, das an der Station für Psychosomatik und Psychotherapie in Graz angeboten wird (DUNITZ-SCHEER et al. 2000, DUNITZ-SCHEER et al. 2001). Die kleinen Patientinnen und Patienten lernen, unterstützt durch die Anwesenheit ihrer vertrauten Bezugspersonen und des betreuenden Teams, selbständig und autonom das nutritive Schlucken und das Essen.

Aufgrund der Tatsache, dass die meisten dieser kleinen Patienten noch nie zuvor oral mit Nahrung in Kontakt gekommen sind, stellt sich die Frage, ob es Unterschiede in der Besiedelung der Mundhöhle mit Hefepilzen bei langzeitsondierten Kindern im Vergleich zu gesunden Kindern, die sich normal oral ernähren, gibt. Des Weiteren wurden bereits Veränderungen der physiologischen Mundhöhlenflora in Hinblick auf Hefepilze der Gattung *Candida* (*C. albicans* und *C. parapsilosis*) bei langzeitsondierten Kindern beschrieben. Es gibt allerdings sehr wenig Literatur zu diesem Thema. Die Studie von DEWILDE et al. beschäftigte sich mit dem vermehrten Befall der Mundhöhle mit Hefepilzen während und nach Entfernung einer parenteralen Sonde, wobei man zum Ergebnis kam, dass Hefepilze weniger häufig aus der Mundhöhle bei Patienten während des Verweilens einer parenteralen Sonde als bei Patienten nach Entfernung der parenteralen Sonde isoliert wurden. Aber im Gegenteil wurden bei den Stuhlproben vermehrt Hefepilze bei den Patienten mit einer Sonde isoliert (DEWILDE et al. 1982).

4 Grundlagen der Mykologie

4.1 Einteilung

Die botanische Nomenklatur orientiert sich an den Hauptfruchtformen (sexuelles Stadium) der Pilze, welche jedoch für die Medizin keine Bedeutung hat, deshalb ist es aus medizinischer und didaktischer Sicht sinnvoll, die Pilze in folgende vier Gruppen einzuteilen. Diese Einteilung der Pilze erfolgt nach dem sogenannten *D-H-S-System von RIETH*. Danach werden

- *Dermatophyten (D)*
- *Hefen oder Sprosspilze (H)* und
- *Schimmelpilze (S)* sowie sonstige Pilze wie z.B. die
- *dimorphe Pilzgruppe* unterschieden.

Des Weiteren können Pilze nach ihrem pathogenetischen Verhalten eingeteilt werden in:

- *obligat pathogene Pilze*

Sind Pilze, die im Makroorganismus nicht zur Normalflora gehören und auch ohne besondere Prädisposition, Krankheiten auslösen wie z.B. Dermatophyten und die dimorphe Pilzgruppe.

- *opportunistische Pilze*

Sind Pilze, die gewöhnlich als Saprophyten im Wirt vorkommen können und sich bei entsprechender Disposition des Wirtes so stark vermehren, dass sie Krankheiten auslösen können, wie z.B. Hefen (*Candida albicans* und weiter Hefen-Arten) und Schimmelpilze (*Aspergillus*-Arten).

- *apathogene Pilze*

Sind Pilze, die im mykosedisponierten Wirt im Allgemeinen keine Krankheiten hervorrufen, wie z.B. die Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*)

Anbei sei erwähnt, dass die Bezeichnung „pathogen“ und „apathogen“ keine absolute Aussage ist und dass selbst pathogene Pilze mit hoher Virulenz oft erst dann eine Mykose auslösen, wenn der Wirt vorgeschädigt ist. Andererseits sind opportunistische Pilze durchaus keine harmlosen Mikroorganismen und können letal endende Krankheiten hervorrufen.

(HOF H. & DÖRRIES R. 2002, KÖHLER W. et al. 2001, SEEBACHER C. & BLASCHKE-HELLMESSEN R. 1990)

In den nachfolgenden Kapiteln widme ich mich nur den Hefen bzw. Sprosspilzen und behandle diese genauer, da sie für das Verständnis meiner Diplomarbeit die größte Signifikanz haben.

4.2 Was sind Hefepilze?

Unter einer Hefe versteht man einen einzelligen Eukaryonten von meist ovaler Form, der sich nicht durch Querteilung der Zelle vermehrt, wie das bei Bakterien der Fall ist, sondern sich durch Sprossung oder Spaltung vermehrt. Hefezellen sind unbeweglich. Die im englischen als „yeast“ und „yeast-like fungi“ bezeichneten Pilze sind weltweit verbreitet und werden im deutschen Sprachgebrauch auch als Hefen, echte Hefen, hefeähnliche und hefeartige Pilze, Hefe- und Sprosspilze benannt, wobei keiner dieser Begriffe Rückschlüsse auf die Pathogenität dieser Pilze erlaubt. Sie kommen vermehrt an Orten mit reichem Zuckerangebot vor und obwohl diese Pilze schon immer in der menschlichen Umgebung vorhanden waren, hat sich ihre Beziehung zum Menschen grundlegend, durch viele heterogene Faktoren, wie durch Therapie mit Antibiotika, Steroide und Immunsuppressiva, durch intravenöse Ernährung und als Folge von Immunschwäche nach Gabe von Zytostatika und nach Röntgenstrahlung, geändert. Aufgrund dessen finden Sprosspilze eine immer größere Lebens- oder Angriffsbasis und lässt sie mehr und mehr zu Problemkeimen werden.

(HOF H. & DÖRRIES R. 2002, SEEBACHER C. & BLASCHKE-HELLMESSEN R. 1990, SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981)

4.2.1 Gliederung

Sprosspilze gliedern sich in

a.) *Saccharomycetaceae*

Haben im Gegensatz zu den anascosporogenen Hefen die Fähigkeit Asci mit Ascosporen zu bilden und aus diesem Grund werden sie auch als echte oder ascogene Hefen bezeichnet.

b.) Anascosporogenen Hefen

Diese Hefen sehen zwar morphologisch den Hefepilzen ähnlich, jedoch bilden sie keine Asci mit Ascosporen, weshalb sie auch unechte Hefen genannt werden und werden hilfsweise bei den Fungi imperfecti (Deuteromycetes) eingeordnet.

Zu diesen zählen u.a.: • die Sporobolomycetaceae, wie z.B. die Gattung Sporobolomyces
• die Cryptococcaceae wie z.B. die Gattungen Cryptococcus, Torulopsis, Candida, Rhodotorula, Trichosporon

(SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981)

4.2.2 Klinische Relevanz der Hefepilze

Besonders folgende imperfekte Hefen haben klinische Relevanz:

- *Candida albicans*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Candida glabrata*
- *Candida tropicalis*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida kefyr*
- *Candida krusei*
- *Candida guilliermondii*
- *Candida lusitanae*
- *Candida viswanathii*

Die Häufigkeit der einzelnen Arten bei krankhaften Veränderungen der Schleimhaut ist sehr unterschiedlich. Im Gegensatz zu den Bakterien, welche die Schleimhäute des Menschen in sehr großer Zahl besiedeln, gehören Pilze nicht zur normalen Körperflora. Eine Ausnahme bildet der Sprosspilz *Candida albicans*, der auch bei gesunden Menschen (in geringer Zahl) isoliert werden kann.

(HOF H. & DÖRRIES R. 2002, SEEBACHER C. & BLASCHKE-HELLMESSEN R. 1990)

4.2.3 Charakteristische Kennzeichen der Hefepilze

Alle Hefepilze haben eine Gemeinsamkeit, und zwar die Vermehrung durch Sprossung. Die vegetativen Formen der Sprosspilze sind nicht so charakteristisch ausgebildet und deshalb werden sie zu einer relativ schwer differenzierbaren Gruppe von Pilzen. Dies ist auch der Grund, dass man bei den Hefen nur bedingt von einem morphologischen Einteilungsprinzip ausgehen kann. Die Unterschiede sind oft zu gering, wenn überhaupt erkennbar. Aber eine wertvolle Differenzierungsgrundlage liefert die deutliche Unterscheidung in ihren physiologischen Leistungen. Die Fähigkeit der Assimilation und Fermentation bestimmter Zucker- und Stickstoffverbindungen als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle ist artspezifisch und gibt verlässlich Auskunft über ihre Identität. Des weitern wird die Differenzierung durch andere Merkmale, wie die Fähigkeit zur Mycel- oder Pseudomycelbildung, die Entstehung von Ascosporen, die Kolonieform und -größe, die Farbstoffbildung auf festem Nährboden, das Verhalten in flüssigem Milieu und das Wachstum bei bestimmten Temperaturen, erweitert. (SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981)

4.2.4 Vermehrung von Hefepilzen

Hefepilze können sich *asexuell* (anamorphe Form) als auch *sexuell* (teleomorphe Form) vermehren. Der vollständige Lebenszyklus eines Pilzes besteht aus der sexuellen und der asexuellen Fortpflanzungsphase. Pilze bei denen beide Phasen bekannt sind, werden als *perfekte Pilze*, auch *Fungi perfecti* oder *Eumyzeteten* bezeichnet. Hefepilze mit ausschließlich asexueller Vermehrung gehören zu den *imperfekten Pilzen*, auch *Fungi imperfecti* oder *Deuteromyzeteten* genannt. Unabhängig davon, ob eine sexuelle Phase bekannt ist, findet man als Krankheitserreger in der Regel nur die asexuelle, vegetative Fortpflanzungsform. Sprosspilze vermehren sich durch Sprossung, das heißt die Mutterzelle stülpt sich an einer Stelle ihrer Zellwand aus und bildet einen Spross. Gleichzeitig findet eine Zellkernmitose statt, und der neu entstandene Kern wandert in die Tochterzelle. Hat dann die Tochterzelle die Größe der Mutterzelle erreicht, so trennt sie sich und beginnt ihrerseits mit der Sprossung. Die Tochterzellen bleiben meist in Kontakt mit den Mutterzellen. Die so aneinandergereihten Hefezellen erwecken den Eindruck eines Pilzgeflechtes (Myzel), was aber nicht wirklich zutrifft. Man spricht deshalb vom *Pseudomyzel*. Viele Pilze wachsen nur in einer Form, entweder als Hefe oder als Fadenpilz. Es gibt jedoch Arten, die in beiden Formen existieren. Diese Arten werden als *dimorphe Pilze* definiert.

(HAHN H. et al. 2004, HOF H. & DÖRRIES R. 2002, KAYSER F. H. et al. 2005, KÖHLER W. et al. 2001, MIKSITS K. & HAHN H. 2003, SEEBACHER C. & BLASCHKE-HELLMESSEN R. 1990)

4.3 Candida Besiedelung der Mundhöhle

Bei 30-50% der Normalbevölkerung können Pilze aus Mundschleimhautabstrichen isoliert werden, wobei *Candida albicans* mit 80-90% vorherrscht. *Candida* ist ein Kommensale, dessen natürliche Umgebung die Mucosa des Menschen ist. *Candida* ist ubiquitär verbreitet und lässt sich auch bei 20 bis 40% der gesunden Bevölkerung als harmloser Kommensale im Mund, Darm und Vagina nachweisen. Eingeschränkte zelluläre Immunität oder Störungen der physiologischen bakteriellen Flora, wie zum Beispiel während einer antibiotischen Therapie, können eine im klinischen Erscheinungsbild charakteristische Entzündung in der Mundhöhle, der sogenannten Candidiasis (*Abbildung 1*), auch als Candidose in der Literatur bekannt, verursachen. Die Candidiasis von Haut und Schleimhäuten heißt *Soor*. In der Literatur findet man auch Studien, bei denen *Candida albicans* signifikant häufiger in Speichelroben bei Patienten mit kariösen Gebissen als mit naturgesunden Gebissen nachgewiesen wurde. Des Weiteren zeigen auch die Ergebnisse dieser in der Literatur angeführten Studie eine positive Korrelation zwischen einer Candidabesiedelung der Mundhöhle und Kariesbefall und bestätigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Candidabesiedelung der Mundhöhle und des Verdauungstraktes. Ausgehend von kariösen Gebissen lässt sich eine Streuung von Hefepilzen über den Speichel in die Mundhöhle und von dort durch Verschlucken in den Verdauungstrakt vermuten. (KAYSER F. H. et al. 2005, LAMOND R. J. et al. 2006, MIKSITS K. & HAHN H. 2003, SZIEGOLEIT F. et al. 2002, VITKOV L. et al. 2004, Quelle: <http://www.chirurgie-portal.de/infektionen/candidiasis-soor-kandidose.html>)



Abbildung 1: Orale Candidiasis in der Mundhöhle auf Zunge und Gaumen

Auf den Schleimhäuten ist der Soor durch dicke weißliche Auflagerungen und eine umliegende Entzündungsreaktion (Rötung) gekennzeichnet.

(Quelle: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/thumb/6/6f/Oralcandi.JPG/280px-Oralcandi.JPG>;

http://www.visualdxhealth.com/images/dx/webTeen/oralCandidiasisThrush_33528_lg.jpg)

4.4 Candida albicans

Von ca. 200 Candida Arten haben nur einige wenig Bedeutung als Krankheitserreger. Candida albicans ist der häufigste aus klinischem Material isolierte Sprosspilz und ist ein fakultativ pathogener Sprosspilz aus der Abteilung der Ascomycota, welcher bei Infektionen am häufigsten vorkommt.

Candida albicans hat ihren Standort auf der Haut und Schleimhaut des Menschen, andere Hefen sind auch in der Umwelt verbreitet und können daraus isoliert werden, wie z.B. Candida krusei, Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida guilliermondii, Candida lusitaniae und Candida parapsilosis. Weiters ist er empfindlich gegen Austrocknung und daher nur in feuchter Umgebung nachweisbar. Beim gesunden Menschen findet sich manchmal Candida albicans in der oralen, gastrointestinalen und vaginalen Flora in geringer Keimzahl ohne Bedeutung als Krankheitserreger und therapeutischer Konsequenz. Andererseits verursacht die polymorphe Hefe als wichtigste Art ca. 70% der opportunistischen Infektionen wie z.B. oberflächliche Haut- und Schleimhautmykosen, tiefe Organmykosen, katheterassoziierte Infektionen und Sepsis. Er ist der häufigste Mykoseerreger beim Menschen und Leiterreger bei AIDS. Seine Zielgruppe sind immunsupprimierte Patienten, Patienten mit Diabetes mellitus und unter Antibiotikatherapie. (HAHN H. et al. 2004, HOF H. & DÖRRIES R. 2002, KAYSER F. H. et al. 2005, KÖHLER W. et al. 2001)

4.4.1 Nachweis von Candida albicans

Bei Gram-Färbung von Primärpräparaten erscheint Candida albicans als grampositive, sprossende, ovale Hefe, welche einen Durchmesser von ca. 4-6 µm aufweist. Des Weiteren lässt sich Candida albicans auf üblichen Nährmedien kultivieren. Auf Sabouraud-Agar wächst er besonders gut. Nach 48 h Bebrütung bilden sich auf Agarmedien runde, weißliche Kolonien, welche eine etwas raue Oberfläche aufweisen (*Abbildung 2*). Durch morphologische und

biochemische Merkmale kann *Candida albicans* von anderen Hefen differenziert werden.
(KAYSER F. H. et al. 2005)



Abbildung 2: *Candida albicans* und non-*albicans* Arten auf dem Nährboden

(Quelle: <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/medizin/andrade-manuel/HTML/object2.png>.)

4.4.2 Die Rolle als Krankheitserreger und Virulenzeigenschaften von *C. albicans*

Die Entwicklung einer Infektion mit *Candida albicans* bedarf einerseits der Virulenz des Pilzes und andererseits der Prädisposition des menschlichen Organismus. *Candida*-Infektionen entstehen meist endogen, die Infektionsquelle wird von der körpereigenen Flora gebildet, jedoch ist eine Übertragung von Mensch zu Mensch durch Schmierinfektion möglich. Die Kolonisationsresistenz, die zelluläre Immunität, die humorale Abwehr und die Haut und Schleimhäute als mechanische Barriere stehen *Candida albicans* als Hindernisse entgegen.

Candida albicans besitzt folgende Virulenzfaktoren:

- *Adhärenzvermögen* von Pilzzellen an Epithel und Endothel ist eine wesentliche Voraussetzung für die Besiedelung epithelialer Oberflächen des Wirtes und für das Eindringen über die intakte Schleimhaut.
- *Sekretion von lytischen Enzymen* ermöglicht die Gewebeinvasion.
- *Keimschlauch- und Hyphenbildung*: Keimschläuche sind morphologische Strukturen, welche die Gewebeinvasion begünstigen. Eine Hyphe ist ein fädiges Vegetationsorgan eines Pilzes.

- „*phenotypic switching*“ Durch Veränderung des Phänotyps wird die Gewebepersistenz unter Umgehung körpereigener Abwehrmechanismen ermöglicht.
 - „*antigenic mimicry*“ Mittels Maskierung körpereigener Strukturen wird ebenfalls die Gewebepersistenz unter Umgehung körpereigener Abwehrmechanismen ermöglicht.
- (HAHN H. et al. 2004, HOF H. & DÖRRIES R. 2002, KÖHLER W. et al. 2001, MIKSITS K. & HAHN H. 2003)

4.5 Andere Candidaarten

Im nachfolgenden Teil möchte ich noch andere Candidaarten erläutern, die außer *Candida albicans* noch aus den Mundhöhlenabstrichen und Stuhlproben der Studienteilnehmer isoliert werden konnten.

4.5.1 *Candida dubliniensis*

Ist nahe verwandt mit *Candida albicans* und findet sich häufig bei AIDS Patienten. Die Kolonien sind cremefarben, schimmernd oder etwas wachsartig, in der Regel weich und glatt. Die Größe der Sprosszellen beträgt 3.0-8.0 x 2.0-7.0 µm. Pseudomyzel ist vorhanden, mit traubenförmig angeordneten Blastosporen. (DE HOOG G.S et al. 2000)

4.5.2 *Candida famata*

Wird auch als *Torulopsis candida* (sexuelles Stadium) bezeichnet. Auf Sabouraud-Agar bildet der Pilz weiß-graue bis cremefarbene, glatte, matte Kolonien, die mit zunehmendem Alter runzlig werden. Die Sprosszellen haben eine Größe von 3.5-5.0 x 2.0-3.5 µm. Er bildet kein Pseudomyzel, sondern höchstens kurze Ketten aus runden oder ovalen Zellen. (DE HOOG G.S et al. 2000, Quelle: http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)

4.5.3 *Candida guilliermondii*

Ist als Saprophyt auf der menschlichen Haut und Schleimhaut zu finden und kann sich unter günstigen Umständen unliebsam vermehren und bisweilen vergesellschaftet mit anderen Candidaarten auch zu klinischen Erscheinungen führen. Auf Sabouraud-Glucose-Agar wächst er

weiß bis cremefarben, glänzend, glattrandig, in der Mitte ein wenig erhöht und ohne Oberflächenstruktur. Die glatten Kolonien werden nach einigen Tagen matt und faltig. Die jungen Kolonien dieser Art sind kaum von *Candida albicans* zu unterscheiden. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist etwas geringer als bei *Candida albicans*. Bei zunehmender Alterung bleibt meistens die makroskopisch erkennbare Bildung von Pseudomyzel, welche in den submersen Randzonen der Kolonien aus einer Kette von langen, oft gewundenen Zellen gebildet wird. Um deren Trennwände gruppieren sich kleine, längliche traubenförmige Blastosporen. Die länglichen bis zylinderförmigen Sprosszellen sind 2.0-4.5 x 2.5-7.0 µm groß. (SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981, Quelle:

http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)

4.5.4 *Candida intermedia*

Die Kolonien sind cremefarben und butterartig. Die Sprosszellen haben eine ellipsoide Form, sind 4.0-6.0 x 2.0-3.0 µm groß, kohärent, mit schlankem, kurzen Pseudomyzel. (DE HOOG G.S et al. 2000)

4.5.5 *Candida krusei*

Candida krusei ist ein Pilz mit geringer Virulenz aber intrinsischer Resistenz gegenüber Fluconazol. Die Kolonien, welche einen Durchmesser von 1-3 cm innerhalb von 10 Tagen erreichen wenn man sie auf Sabouraud-Glucose-Agar bei 37°C bebrütet, sind ziemlich schnell wachsend, weich, trocken, gelblich bzw. weiß bis cremefarben, mattglänzend mit Oberflächenfaltung (*Abbildung 3*). Die Kolonieränder erscheinen strahlenförmig und unregelmäßig, welche von 18-30 µm langen, terminalem Pseudomyzel umgeben werden. Jedoch gibt es auch glattrandige Kolonien, bei denen das Oberflächenprofil fehlt. Die Kulturen können einen säuerlichen Geruch haben. Die Asci von *Candida krusei* enthalten 1 - 2 runde, glatte oder rauhe Ascosporen. Die Sprosszellen sind oft zylinderförmig und sind 3.0-5.0 x 6.0-20 µm groß. Alle Zellformen erscheinen oval bis langgestreckt. (HOF H. & DÖRRIES R. 2002, SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981, Quelle:

http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)



Abbildung 3: Candida krusei

(Quelle: https://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/refphoto/g301_hccandida_ckrusei_14243_hugo.jpg)

4.5.6 Candida lipolytica

Wird auch als Yarrowia lipolytica (sexuelles Stadium) bezeichnet. Auf Sabouraud-Agar bildet diese Art cremefarbene, glatte oder leicht faltige Kolonien. Weiters bildet diese Species viel Pseudomyzel und Myzel. Die Blastosporen sind als kurze Ketten oder kranzförmig am Myzel angelagert. (Quelle: http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)

4.5.7 Candida lusitanae

Es handelt sich um einen gewöhnlichen Umweltkeim, der von Haut und Schleimhäuten isoliert werden kann. Auf Sabouraud-Agar sind die Kolonien cremefarben, glatt und glänzend. Candida lusitanae bildet ein gut entwickeltes Pseudomyzel, das Ketten von Blastosporen trägt. (DE HOOG G.S et al. 2000, Quelle: http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)

4.5.8 Candida parapsilosis

Diese Hefe ist weit verbreitet und adhärirt an Plastikmaterialien, wie z.B. an Kathetern oder Sonden, weshalb gerade auch von diesem Pilz die Gefahr einer nosokomialen Infektion ausgehen kann. Die Kolonien sind auf Sabouraud-Glucose-Agar rein weiß bis beige (*Abbildung 4*). Sie erscheinen glänzend bei glatter Oberfläche, sonst matt mit kraterförmigem Profil. Der Kolonierand kann bogig oder sternförmig sein. Die Größe der Sprosszellen beträgt 2.4-4.0 x 2.5-9.0 µm. Neben den ovalen oder länglichen Sprosszellen ist das meist schmale Pseudomyzel

gut entwickelt. Als typisches Merkmal für die Art gilt das vereinzelt Auftreten von Zellen doppelter Größe und Pseudomyzel von doppelter Breite. Im Gegensatz zu *Candida albicans* ist *Candida parapsilosis* selten auf Schleimhäuten anzutreffen. Ihr wurden sogar „carcinogene“ Eigenschaften zugeschrieben, ohne dass hierfür schlüssige Beweise erbracht werden konnten.

(HOF H. & DÖRRIES R. 2002, SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981, Quelle:

http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)



Abbildung 4: *Candida parapsilosis* (Quelle: <http://www.dr-haake.de/images/pilzbild3.gif>)

4.5.9 *Candida pulcherrima*

Die Kolonien sind weißlich bis cremefarben, später mit schwach rötlich-braunem Glanz, glatt und wachsartig. Die Sprosszellen sind weitgehend von ellipsoidaler Form, beinhalten einige kleine Öltröpfchen und haben eine Größe von $6.0 \times 4.0 \mu\text{m}$. (DE HOOG G.S et al. 2000)

4.5.10 *Candida zeylanoides*

Häufig in Mundschleimhaut- und Rachenabstrichen und Stuhl zu finden. Die Kolonien sind auf Sabouraud-Glucose-Agar weiß, beige bis gelb. Sie sind glatt oder weich und flach. Ein Pseudomyzel, das aus langen Ketten von leicht gebogenen Zellen besteht, ist oft nur kümmerlich entwickelt. Wenn vorhanden, tragen die ziemlich kräftigen gekrümmten Pseudomyzelzellen an den Trennstellen der neuen Pseudomyzelsegmente runde oder ovale bis längliche Blastosporen, welche einzeln, in kurzen Ketten oder als Trauben angeordnet sein können. Ihre Größe beträgt $1.5 - 5.0 \times 4.0 - 10.0 \mu\text{m}$. (SEELINGER H.P.R. & HEYMER 1981, Quelle:

http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp)

5 Grundlagen der Histologie

5.1 Die Mucosa

Die inneren Oberflächen der Hohlorgane, wie z.B. Mundhöhle und Rumpfdarm, sind von Epithelien bedeckt die nicht verhornen und feucht gehalten werden, damit sie nicht austrocknen. Intraepitheliale Drüsenzellen (z.B. Becherzellen) oder exokrine Drüsen, die vom Epithel ausgehen, sind für die Befeuchtung der Schleimhaut zuständig. Die Sekrete sind mehr oder weniger schleimig, was zum Namen Schleimhaut, Tunica mucosa oder Mucosa führte.

Eine Mucosa besteht immer aus einem Epithel (Lamina epithelialis mucosae) und einer darunterliegenden Bindegewebsschicht (Lamina propria mucosae oder kurz Lamina propria). Das Epithel ist je nach Organregion verschieden, wobei für uns die Histologie der Mundschleimhaut und Darmschleimhaut von besonderem Interesse ist, auf welche in den darauffolgenden zwei Unterkapiteln noch genauer eingegangen wird. Die Lamina propria mucosae besteht meist aus einem lockeren Bindegewebe mit zahlreichen retikulären Fasern, das viele Abwehrzellen – vor allem Lymphozyten – sowie Blut- und Lymphgefäße enthält. Die Abwehrzellen sind besonders wichtig um die Schleimhäute vor dem Eindringen von Fremdkörpern und vor allem Mikroorganismen zu schützen, da die nicht verhornten Epithelzellen der Schleimhäute nur geringen Widerstand entgegensetzen.

Im Darmrohr ist die Schleimhaut mit einer eigenen Muskelschicht ausgestattet, der sogenannten Lamina muscularis mucosae, die unter der Lamina propria liegt, und der Schleimhaut eine gewisse Beweglichkeit unabhängig von jener der Muskelwand des Darmrohrs ermöglicht. Die Mucosa ist entweder direkt mit den darunterliegenden Strukturen verwachsen oder durch eine lockere Verschiebeschicht, der Tela submucosa oder kurz Submucosa, mit diesen verbunden. (DOHR G. et al. 2003, WACHTLER F. 2005)

5.1.1 Histologie der Mundhöhlenschleimhaut

Die Mundhöhle lässt sich in ein Vestibulum oris, darunter versteht man die Unterteilung durch die Zahnreihen vorne und lateral durch Lippen und Wange und in das Cavum oris proprium, die eigentliche Mundhöhle, unterteilen.

Die Schleimhaut besteht aus einem mehrschichtigen Plattenepithel und einer Lamina propria. Das Plattenepithel ist grundsätzlich unverhornt, nur an Stellen starker mechanischer Beanspruchung wie Gingiva, Zungenpapillen und harter Gaumen ist es verhornt (Parakeratinisation). Die Dicke des Epithels schwankt, je nach mechanischer Belastung, zwischen 200 und 500 µm. Das Epithel ist an der Rückseite der Lippen und der Unterseite der Zunge dünn, am Zungenrücken und am harten Gaumen dick. Die Lamina propria besitzt Abwehrzellen wie Lymphozyten und Makrophagen. In manchen Regionen kann darunter noch eine bindegewebige Submucosa folgen, in welche kleine Speicheldrüsen eingelagert sind. Das Plattenepithel enthält Melanozyten (= nicht-epitheliale Zellen), Langerhans-Zellen (=dendritische Zellen) und Merkelzellen. Weiters ist die Mundschleimhaut mit sensorischen Nervenendigungen ausgestattet. (LÜLLMANN-RAUCH R. 2006, ROHEN J.W. 1994, WACHTLER F. 2005)

Es können drei Schleimhauttypen aufgrund struktureller Merkmale unterschieden werden:

a.) Mastikatorische Schleimhaut

Darunter versteht man die Schleimhaut, die beim Kauen mechanisch beansprucht wird. Diese Art der Schleimhaut findet man am Zahnfleisch und am harten Gaumen. Das Epithel ist verhornt und die Schleimhaut unverschieblich an der Unterlage, wie Periost und Zahn befestigt.

b.) Auskleidende Schleimhaut

Die auskleidende Schleimhaut kommt an Lippen, Wangen, Vestibulum, Mundboden, Zungenunterseite und weichem Gaumen vor. Das Epithel ist unverhornt, meist mit Submucosa und Drüsen.

c.) Spezialisierte Schleimhaut

Sie besitzt spezielle Zungenpapillen für die Geschmacks- Tast- und Temperaturwahrnehmung und sie kommt vorwiegend am Zungenrücken vor. (LÜLLMANN-RAUCH R. 2006)

5.1.1.1 Die Wange

Die Wangen besitzen eine gegen die muskuläre Unterlage, welche vom M. buccinator gebildet wird, stark verschiebliche Schleimhaut. Sie besteht aus einem dünnen Epithel und einer lockeren Lamina propria mit reichlich elastischen Fasern. In der Submucosa, welche aus lockerem Bindegewebe und Fettgewebe besteht, findet man gemischte Drüsen, die sogenannten Glandulae buccales. (ROHEN J.W. 1994, WACHTLER F. 2005)

5.1.1.2 Die Zunge

Die Zunge ist ein von Mundschleimhaut überzogener Muskelwulst. An der Zungenspitze, dem Zungenrücken und den seitlichen Rändern ist die Lamina propria der Schleimhaut fest mit der Aponeurosis linguae verbunden und deshalb unverschieblich. An der Zungenoberfläche und am Mundboden ist die Schleimhaut dünn und verschieblich und trägt unverhorntes Plattenepithel. Der Rücken der Zunge ist von einer Vielzahl von Papillen bedeckt, welche Erhebungen des Epithels und der Lamina propria der Schleimhaut sind. (LÜLLMANN-RAUCH R. 2006, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004, WACHTLER F. 2005)

Aufgrund ihrer Gestalt können vier Arten von Papillen unterschieden werden: (Abbildung5)

a.) *Papillae filiformes* (Fadenpapillen)

Sind stachelförmige Erhebungen, deren Spitzen verhornt sind und kommen überall auf dem präsulkalen Teil des Zungenrückens vor. Sie sind die häufigsten Papillen, enthalten aber keine Geschmacksknospen. Die *Papillae filiformes* machen die Oberfläche der Zunge rau und griffig und dienen gleichzeitig der äußerst feinen Tastempfindung der Zunge.

b.) *Papillae fungiformes* (Pilzpapillen)

Kommen an der Zungenspitze und am Zungenrücken vor. Erheben sich pilzförmig über einem bindegewebigen Papillenstock. Ihre oberflächlichen Epithellagen bleiben unverhornt. In ihrem Epithel findet man vereinzelt Geschmacksknospen.

c.) *Papillae foliatae* (Blattpapillen)

Sind Schleimhautfalten, die vorwiegend am hinteren Seitenrand der Zunge lokalisiert sind und enthalten auch Geschmacksknospen.

d.) *Papillae vallatae* (Wallpapillen)

Sind warzenförmige Gebilde, welche V-förmig angeordnet sind. Sie werden durch einen bis zu 0,5 mm tiefen Graben von der Umgebung abgegrenzt. Das Epithel ist unverhornt und enthält in den Wänden des Grabens zahlreiche Geschmacksknospen. Unter den *Papillae vallatae* liegen rein seröse Drüsen, die sogenannten von Ebner Spüldrüsen. Diese können Speisereste aus der direkten Umgebung der Geschmacksknospen entfernen und so neue Geschmacksstoffe analysieren. (LÜLLMANN-RAUCH R. 2006, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004, WACHTLER F. 2005)

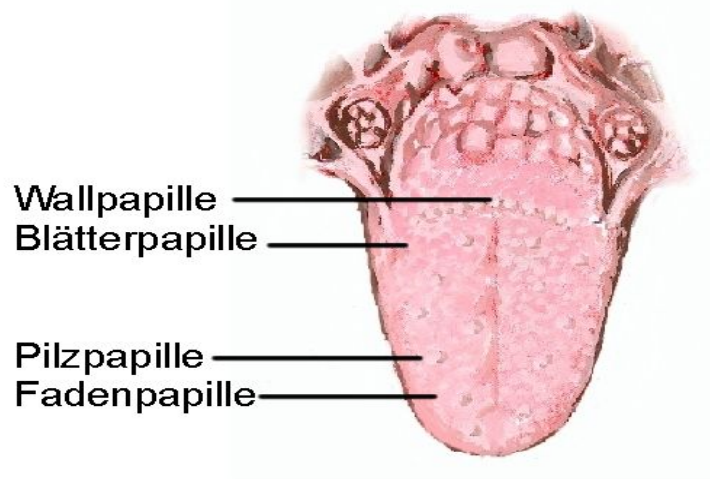


Abbildung 5: Die 4 Arten der Papillen der Zunge

(Quelle: <http://www.airflag.com/Hirn/w4/w4sinne-Dateien/zunge.jpg>)

5.1.2 Allgemeiner Aufbau des Verdauungstraktes

Die Wände der verschiedenen Abschnitte des Verdauungskanal haben ein gemeinsames Bauprinzip. Sie besitzen jedoch regionale Unterschiede und sind den jeweiligen Anforderungen angepasst. Das Epithel der Mucosa des Gastrointestinaltraktes stellt eine selektive Barriere zwischen dem Körper und dem Inhalt des Verdauungskanal dar. Die verschiedenen Zellen des Mucosaepithels fügen der Nahrung Schleim und Verdauungssäfte zu oder resorbieren Nahrungsstoffe und Wasser. Andere Zellen produzieren Hormone, die an der Steuerung von Verdauung und Resorption beteiligt sind. (JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Allgemeines Bauprinzip:

- **Tunica mucosa** (*Lamina epithelialis mucosae, Lamina propria mucosae, Lamina muscularis mucosae*)
- **Tela Submucosa**
- **Tunica muscularis**

außen schließt eine **Tela subserosa** und **Tunica serosa (Peritoneum viscerales)** oder eine **Tunica adventitia** an. (DOHR G. et al. 2003)

Die **Tunica mucosa** (Schleimhaut) besteht auf der luminalen Seite aus Epithel (*Lamina epithelialis mucosae*) und aus lockerem Bindegewebe (*Lamina propria mucosae*). (JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Die *Lamina epithelialis mucosae* zeigt den jeweiligen Anforderungen entsprechend regionale Unterschiede. Der Ösophagus besitzt aufgrund der mechanischen Beanspruchung durch die Nahrungsaufnahme ein unverhorntes geschichtetes Plattenepithel. Magen, Dünndarm und Dickdarm bis zum Analkanal, deren Hauptaufgaben in der Resorption und Sekretion liegen, sind mit einem einschichtigen hochprismatischen Epithel ausgekleidet. (DOHR G. et al. 2003)

Die *Lamina propria mucosae* besteht aus einem lockeren Bindegewebe mit zahlreichen retikulären Fasern und vielen Lymphozyten. (DOHR G. et al. 2003)

Darunter befindet sich die *Lamina muscularis mucosae*, eine Schicht aus spiralgig verlaufender glatter Muskulatur, die die Mucosa morphologisch von der Submukosa abgrenzt und der Schleimhaut eine gewisse Eigenbeweglichkeit ermöglicht. Sie kommt nur im Rumpfdarm vor. (DOHR G. et al. 2003, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Die **Tela submucosa** besteht aus lockerem Bindegewebe, welches auch Fettzellen enthält. In dieser bindegewebigen Verschiebeschicht befinden sich zahlreiche Blut- und Lymphgefäße, Nervenfaserbündel sowie Gruppen von vegetativen Nervenzellen, Plexus submucosus (Meissner) genannt, der an der Steuerung der Funktion der Mucosa beteiligt ist. (DOHR G. et al. 2003, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Die **Tunica muscularis** (Muskelhaut) ist für das Durchmischen und Weiterbefördern des Darminhaltes im Verdauungstrakt verantwortlich. Die Muscularis des Rumpfdarmes ist in der Regel aus zwei Schichten glatter Muskulatur aufgebaut, eine innere Ringmuskelschicht (*Stratum circulare*) und eine äußere Längsmuskelschicht (*Stratum longitudinale*). Zwischen beiden Muskelschichten ist ein vegetativer Nervenplexus, Plexus myentericus (Auerbach), zu finden, welcher unter anderem Tonus und Rhythmus der Kontraktionen der Muscularis steuert. (DOHR G. et al. 2003, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Je nach topographischer Lage des jeweiligen Darmabschnittes folgt auf die Muskelschicht nach außen entweder eine **Tunica serosa** (Peritoneum viscerale) unterlagert von einer **Tela subserosa**, oder aber eine **Tunica adventitia**. (DOHR G. et al. 2003)

Die **Tela subserosa** bildet die Verbindung zwischen seröser Haut mit der Muskelschicht. Sie ist eine Verschiebeschicht, welche aus lockerem Bindegewebe besteht und auch Fettzellen enthält. Diese Schicht ermöglicht dem betreffenden Organ eine gewisse Bewegungsfreiheit gegenüber dem Peritoneum. Magen, Darm, Gallenblase und auch die Harnblase besitzen eine solche Tela subserosa. (DOHR G. et al. 2003)

Die **Tunica serosa** besteht aus einer dünnen Bindegewebsschicht (*Lamina propria mucosae*) und einem einschichtigen Plattenpithel (*Mesothel*). Sie kleidet die gesamte Bauchhöhle aus und wird auch als Bauchfell, das sogenannte *Peritoneum*, bezeichnet. Die Serosa ist reich an Blut- und Lymphgefäßen sowie Fettgewebe und durch ihre glatte Oberfläche erleichtert sie den Darmschlingen ihre Beweglichkeit. (DOHR G. et al. 2003, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004)

Die **Tunica adventitia** besteht aus lockerem faserigem Bindegewebe, kommt überall dort vor wo ein Peritonealüberzug fehlt und ersetzt die Serosa und Subserosa. Man findet sie im Hals- und Brustteil des Ösophagus, in Teilen des Duodenums und des Enddarms. (DOHR G. et al. 2003)

5.1.2.1 Der Dickdarm

Der Dickdarm (*Intestinum crassum*) besteht aus *Caecum* (Blinddarm) mit *Appendix vermiformis* (Wurmfortsatz), *Colon*, *Rectum* (Mastdarm) und *Analkanal*. (LÜLLMANN-RAUCH R. 2006)

Da der Chymus, der aus dem Dünndarm kommt, sehr flüssig und breiartig ist, ist es jetzt die Aufgabe des Dickdarms, Wasser aus dem Brei zu entziehen. So entsteht nach und nach im Dickdarm der braungefärbte Brei, der sogenannte Kot. Der Kotballen wird dann bis zur Defäkation im Rektum (*Ampulla recti*) abgelagert. (ROHEN J.W. 1994)

Die wesentlichen Aufgaben des Dickdarmes sind die Resorption vor allem von Wasser und Elektrolyten, und zwar die Rückresorption der im Dünndarm abgeschiedenen Flüssigkeit sowie körpereigener Substanzen und Wirkstoffe. Im Kolon werden täglich etwa 400-700 ml Wasser resorbiert. Das organische Material, das aus dem Dünndarm in das Colon übertritt, besteht hauptsächlich aus unverdauten Kohlenhydratresten. Der Dickdarm ist von Bakterien besiedelt, die sogenannte Darmflora, welche durch Fäulnis und Gärung den Abbau und die weitere Aufspaltung nicht abgebauter Nahrungsbestandteile bewirken. Die im Kot vorkommenden

Proteine werden weitgehend von den Bakterien, die den Dickdarm in großer Zahl besiedeln (*Escherichia coli*), produziert. Man findet in allen Abschnitten des Digestionstrakts Bakterien und Keime, lediglich der Dünndarm ist keimfrei. Der eingedickte Dickdarminhalt (*Faeces*) wird mit Schleim durchsetzt und gleitfähig gemacht. (DOHR G. et al 2003, ROHEN J.W. 1994, WACHTLER F. 2005)

5.1.2.2 Dickdarmschleimhaut (*Abbildung 6*)

Die Struktur der **Mucosa** ist im Vergleich zu der des Dünndarms einfacher, sie besitzt nur eng und regelmäßig nebeneinander stehende Krypten, keine Zotten und ist von einschichtigem hochprismatischem Epithel bedeckt, das zahlreiche Becherzellen enthält. Die Mucosa ist im gesamten Dickdarm, mit Ausnahme des Analkanals, einheitlich gebaut.

Das Epithel besteht aus vier Zelltypen:

- a.) *Saumzellen* (= Colonozyten) mit kurzen Mikrovilli. Haben die Funktion der Resorption von NaCl und täglich ca. 1,5 l Wasser.
- b.) *Becherzellen*, welche Muzin für den Schleimteppich produzieren.
- c.) *Entero-endokrine Zellen*
- d.) *Indifferente Zellen*

Mucosa und **Submucosa** des Dickdarms bilden zwar oft zirkulär ausgerichtete Falten, die sogenannten *Plicae semilunares*, welche jedoch im Gegensatz zu den Ringfalten des Dünndarms keine Dauereinrichtungen sind, sondern werden vorübergehend durch Kontraktion des Muscularis gebildet. Ihnen entsprechen Einziehungen an der Außenseite, wodurch die *Haustren* entstehen.

Die **Muscularis** besteht aus einer gleichmäßig starken Ringmuskelschicht und einer Längsmuskelschicht, die in Form von drei bandartigen Zügen, den sogenannten *Taeniae coli*, kräftig ausgebildet ist.

Der Dickdarm ist je nach Region von **Adventitia** oder **Serosa** bedeckt.

(DOHR G. et al 2003, JUNQUEIRA L.C. et al. 2004, LÜLLMANN-RAUCH R. 2006, ROHEN J.W. 1994, WACHTLER F. 2005)

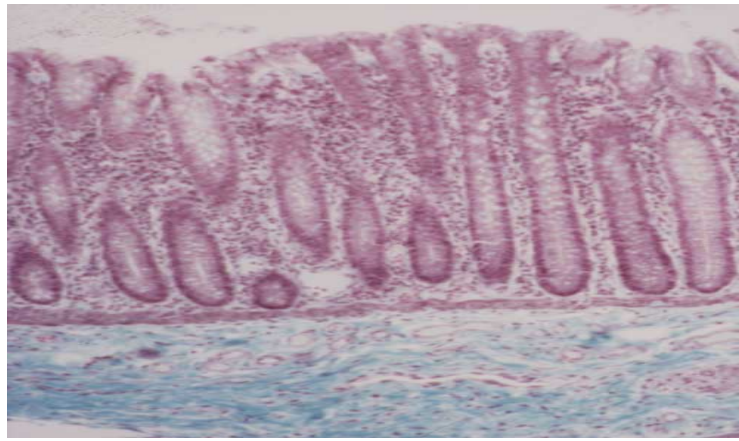


Abbildung 6: Schleimhaut des Colons

(Quelle:

http://www.unifr.ch/anatomy/elearningfree/allemand/biochemie/verdauung/images/ue_colon_gross.jpg)

6 Ziel der Arbeit

Untersuchung der Mundflora auf Hefepilze bei langzeitsondierten Kindern im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe.

Untersuchung der Stuhlflora auf Hefepilze bei langzeitsondierten Kindern im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe.

7 Material und Methodik

Für die Studie wurden 15 sondenernährte Kinder zwischen 0.5 und 8 Jahren und 15 altersgleiche gesunden Kinder aus dem Verwandten- und Bekanntenkreis der StudienmitarbeiterInnen herangezogen. Die sondenernährten Kinder wurden über eine Magen- bzw. PEG-Sonde (Perkutan Endoskopische Gastrostomie Sonde) oder über eine NG-Sonde (Nasogastrische Sonde) durch flüssige Nahrung ernährt, weil sie nicht in der Lage waren, Nahrung über die Mundhöhle aufzunehmen aufgrund unterschiedlichster Grunderkrankungen. Der Großteil der sondenernährten Kinder stammt aus England, der Rest aus Dänemark, Italien und Österreich. Die Studienteilnehmer der Kontrollgruppe waren alle aus Österreich.

Die Erziehungsberechtigten der Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer wurden mittels Informations- und Einwilligungsbücher aufgeklärt. (Anhang 8.1 bis 8.3)

Bei der Patientengruppe wurden Mundhöhlenabstriche bei stationärer Aufnahme, nach einer und nach zwei Wochen jeweils am Montag, bzw. bei der Kontrollgruppe drei Abstriche im Abstand von je einer Woche mittels Abstrichtupfer (Sterile Transport Swabs, Copan, Brescia Italy) entnommen. Pro Probennahme wurden zwei Abstriche entnommen, einmal aus dem Vestibulum oris, sowie von der Zunge. Vor den Abstrichen wurde eine 30-minütige Nahrungskarenz eingehalten.

Stuhlproben wurden zu denselben Zeitpunkten sowohl von der Patientengruppe als auch von der Kontrollgruppe über die Eltern in Stuhlgefäßen (Fecon MW286, MW&E, Corsham England) gesammelt und bis zur Bearbeitung hinsichtlich einer Candidabesiedelung im Kühlschrank aufbewahrt und bis spätestens nächsten Tag ins Labor gebracht. Die Mundhöhlenabstriche wurden auf Candida-Id Platten (Bio Mériex, Marcy L'etoile, France) und Sabouraud Glucose Agar Röhren (Bio Mériex) für 2-7 Tage bei 35°C (Platten) bzw. 30°C (Röhren) kultiviert, die Stuhlproben auf Sabouraud Glucose Agar ausgespatelt und anschließend für 48 h bei 36°C bebrütet und auf verschiedene Candida Arten untersucht.

Des Weiteren wurden patientenbezogene Daten in Bezug auf Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, Grunderkrankung, Medikation, Art der Sonde, Dauer der Sondenernährung, Ernährung vor Sondenentwöhnung, ev. Zahnstatus bzw. Mundhygiene soweit ersichtlich, erfasst. (Anhang 8.4)

7.1 Probenverarbeitung:

7.1.1 Pilzuntersuchung

Kultivieren der Mundhöhlenabstriche auf Candida-Id Platten (BioMérieux) (*Abbildung 7*) und Sabouraud Glucose Agar Röhrchen (BioMérieux) für 2-7 Tage bei 35°C (Platten) bzw. 30°C (Röhrchen) gemäß den Richtlinien für Schleimhautabstriche des mykologischen Labors am Institut für Hygiene.



Abbildung 7 : Kultivieren der Mundhöhlenabstriche auf Candida-Id Platten
(Quelle: http://www.microbialid.com/images/common/petrie_hand_top.jpg)

7.1.2 Semiquantitative Bestimmung der Hefepilze aus den Stuhlproben

Technik: Ca. 1 g Stuhl (kirschkerngroß) wird in Erlenmeyerkolben mit 50 ml 0,25%iger Trypsinlösung und Glasperlen ca. 15 Min bei 36°C geschüttelt (Verdünnung 1:50). Die Probe wird dadurch geruchsärmer und pipettierbar. 5 µl dieses Homogenats werden in 10 ml PBS (= Phosphate buffered saline) pipettiert und gut gemischt (Verdünnung 1:10.000).

50 µl der so erhaltenen Suspension werden auf Sabouraud Glucose Agar (SGA) ausgespatelt, 0,5 µl des ersten Homogenats (Verdünnung 1:50) wird in 20 ml Sabouraud Glucose Bouillon eingepflegt und jedes 48 h bei 36°C bebrütet. 1 Kolonie am Agar entspricht 50 Keime/g Stuhl. Zum Abschätzen der Hefedichte wurden auch direkte Verdünnungsaustriche der Stuhlproben verwendet. Dazu wird die Petrischale in 4 Sektoren aufgeteilt. Mit einem Spatel wird etwas Stuhl im ersten Sektor ausgespatelt. Mit einem frischen Spatel etwas von der Probe im 1. Sektor aufgenommen und im 2. Sektor verteilt usw. Die Auswertung erfolgt semiquantitativ: 1. Sektor Keimdichte im Stuhl entspricht ca. gezählte KBE (=koloniebildende Einheiten) x 10³/g, 2. Sektor Keimdichte im Stuhl ca. gezählte KBE x 10⁴/g etc. (RAINER J. & KIRCHMAIR M. 2002)

7.1.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit herkömmlichen Statistikprogrammen. Ausgehend von einem Verhältnis 90:10 (90% ohne nachweisbare Pilze in der Mundhöhle bzw. 10% mit positivem Pilznachweis) bei nicht sondenernährten Kindern bzw. einem erwarteten Verhältnis von 30:70 in der Studiengruppe ergibt sich, um den Unterschied mit ausreichender Power darstellen zu können, eine Fallzahl von $n=15$.

Berechnung: α 0.05, Power 80%, nQuery 5.0 nach Fleiss JL.

8 Resultate

8.1 Statistik

8.1.1 Verlauf der Isolierungen von Pilzen über die drei Wochen

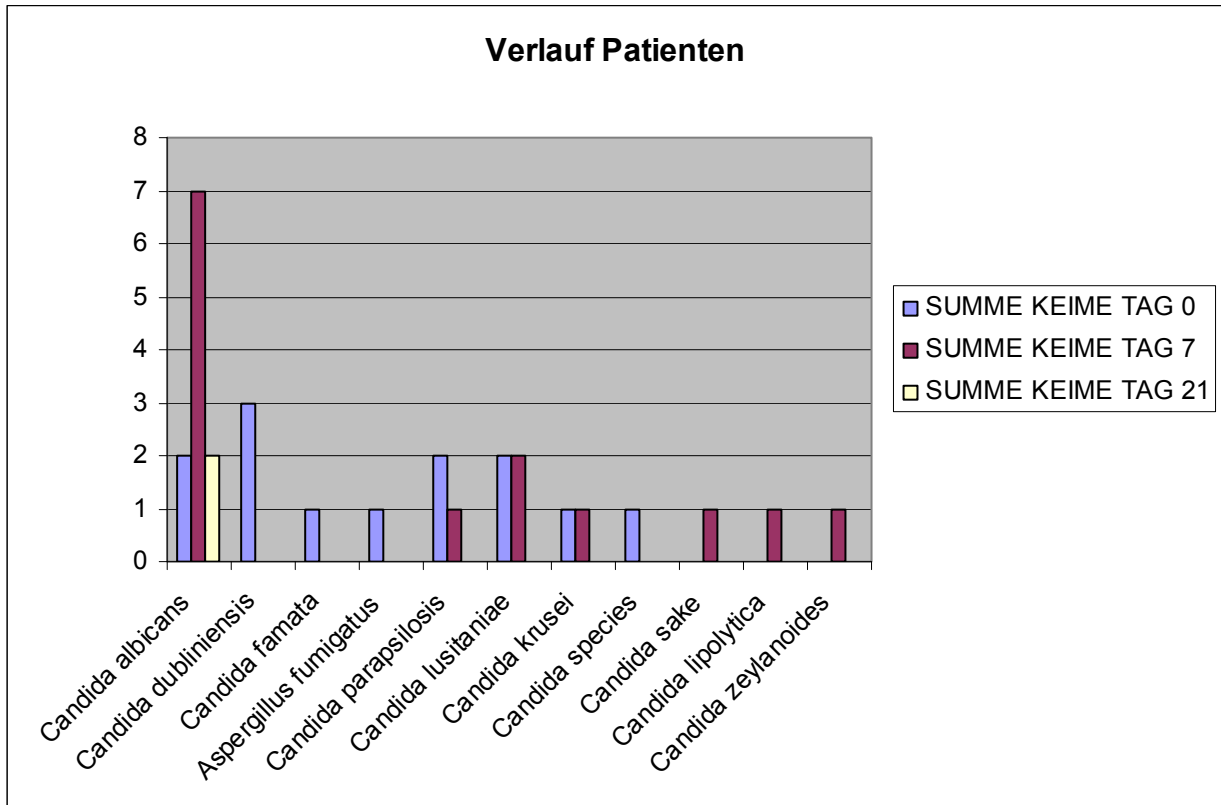


Tabelle1: Verlauf der Isolierungen von Pilzen über die drei Wochen bei der Patientengruppe

Bei der Patientengruppe wurden im Verlauf der drei Wochen folgende 11 Spezies isoliert:

(Tabelle 1)

- Candida albicans
- Candida dubliniensis
- Candida famata
- Aspergillus fumigatus
- Candida parapsilosis
- Candida lusitanae
- Candida krusei
- Candida species
- Candida sake

- *Candida lipolytica*
- *Candida zeylanoides*

Candida albicans wurde bei der Patientengruppe über alle drei Wochen am häufigsten isoliert. *Candida dubliniensis* wurde am zweithäufigsten, aber interessanterweise nur am Tag der stationären Aufnahme, identifiziert.

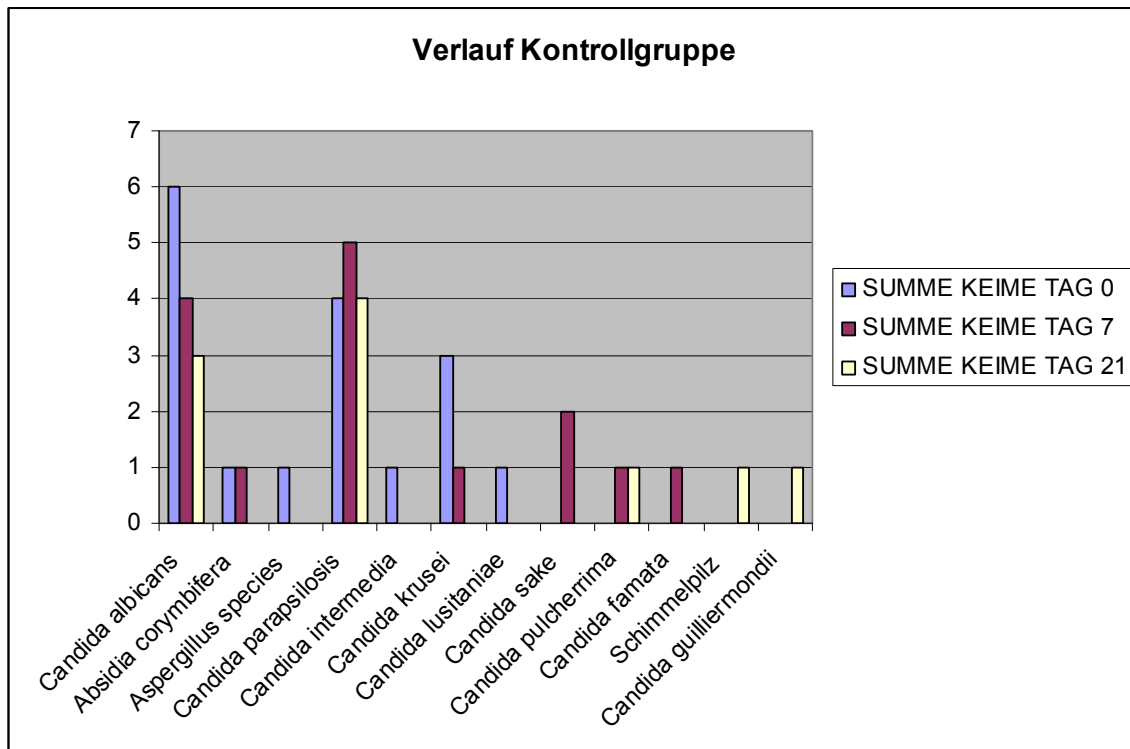


Tabelle 2: Verlauf der Isolierungen von Pilzen über die drei Wochen bei der Kontrollgruppe

Bei der Kontrollgruppe wurden im Verlauf der drei Wochen folgende 12 Spezies isoliert:

(Tabelle 2)

- *Candida albicans*
- *Absidia corymbifera*
- *Aspergillus species*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida intermedia*
- *Candida krusei*
- *Candida lusitaniae*
- *Candida sake*

- Candida pulcherrima
- Candida famata
- Schimmelpilz
- Candida guilliermondii

Candida albicans wurde bei der Kontrollgruppe über alle drei Wochen am häufigsten und Candida parapsilosis am zweithäufigsten isoliert.

8.1.2 Vergleich isolierte Spezies gesamt

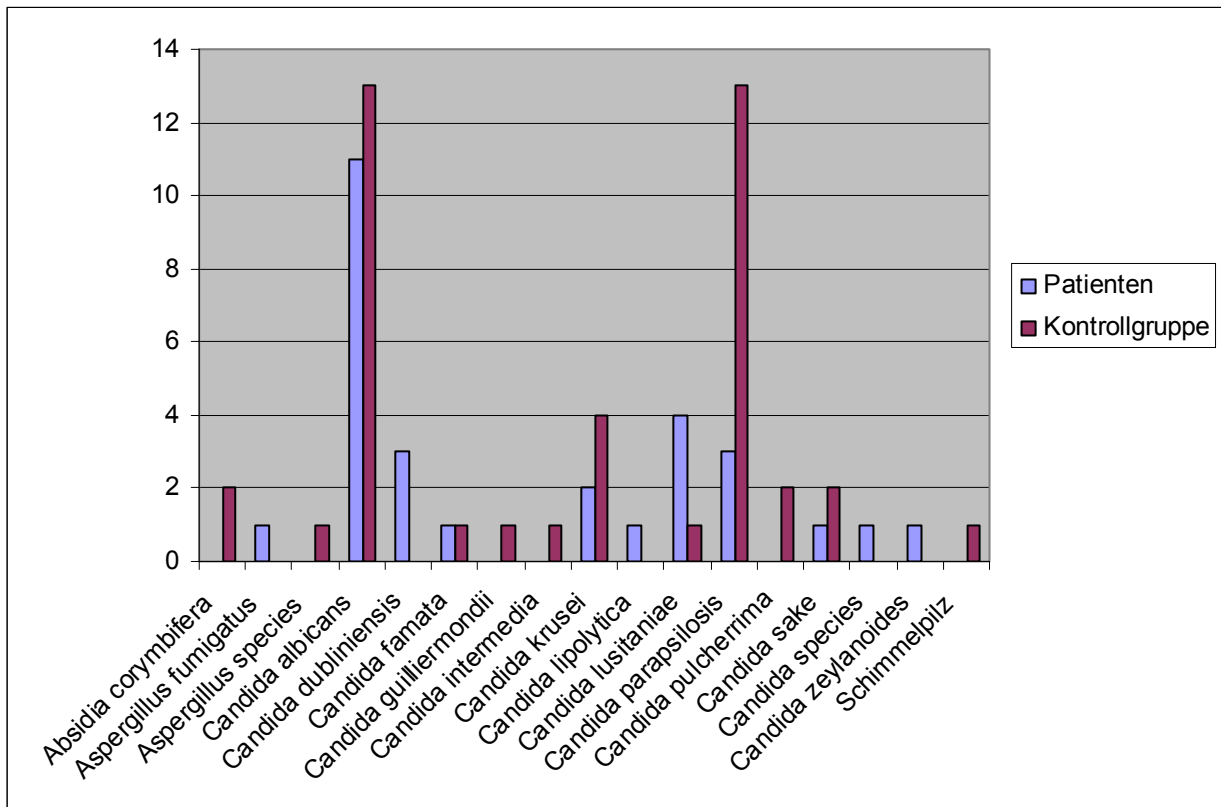


Tabelle 3: Vergleich der isolierten Spezies in der Gesamtheit von Patienten- und Kontrollgruppe

Vergleicht man die isolierten Spezies in der Gesamtheit von Patienten und Kontrollgruppe so zeigt die Statistik, dass...(Tabelle3)

1.Candida albicans und Candida parapsilosis deutlich häufiger als die anderen Spezies isoliert wurden. Candida parapsilosis interessanterweise nur in der Kontrollgruppe.

2. ...insgesamt 17 verschiedene Spezies isoliert wurden. 11 Spezies bei den Patienten, 12 Spezies in der Kontrollgruppe, wobei 6 Spezies in beiden Gruppen anzutreffen sind.
3. ...bei 9 von 15 Patienten zumindest eine Pilzspezies isoliert wurde, wobei bei 4 Patienten 2 Spezies und bei 2 Patienten 3 Spezies nachgewiesen wurden.
4. ...bei 8 von 15 Kindern in der Kontrollgruppe zumindest eine Pilzspezies isoliert wurde, bei 3 Kindern aus der Kontrollgruppe 2 Spezies, bei einem Kind 3 Spezies und bei einem Kind sogar 8 Spezies nachgewiesen wurden.

8.1.3 Besiedlungsraten (in Prozent)

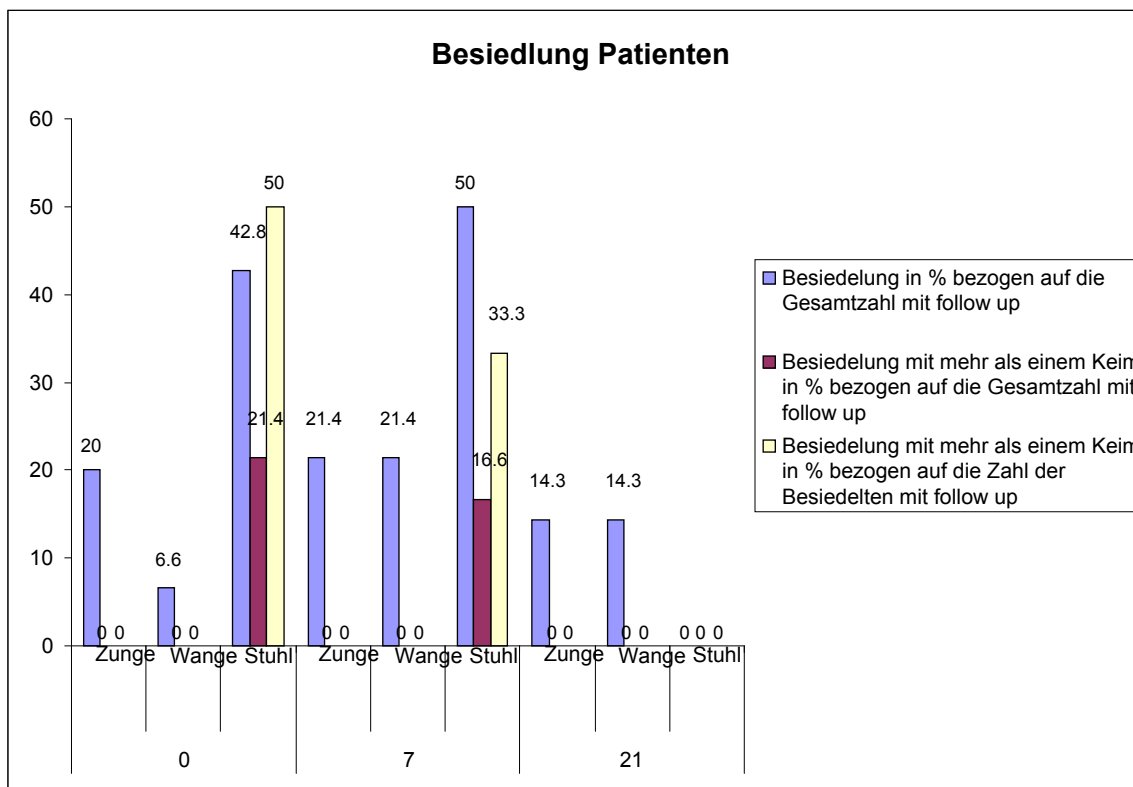


Tabelle 4: Besiedlungsraten der Patientengruppe in Prozent

Interessanterweise nimmt die Besiedlung der Patienten – auf den ersten Blick kaum zu, was man eigentlich erwarten sollte, wenn eine normale Ernährung wieder eintritt, vor allem in Bezug auf die Besiedlung im Stuhl. (Tabelle 4)

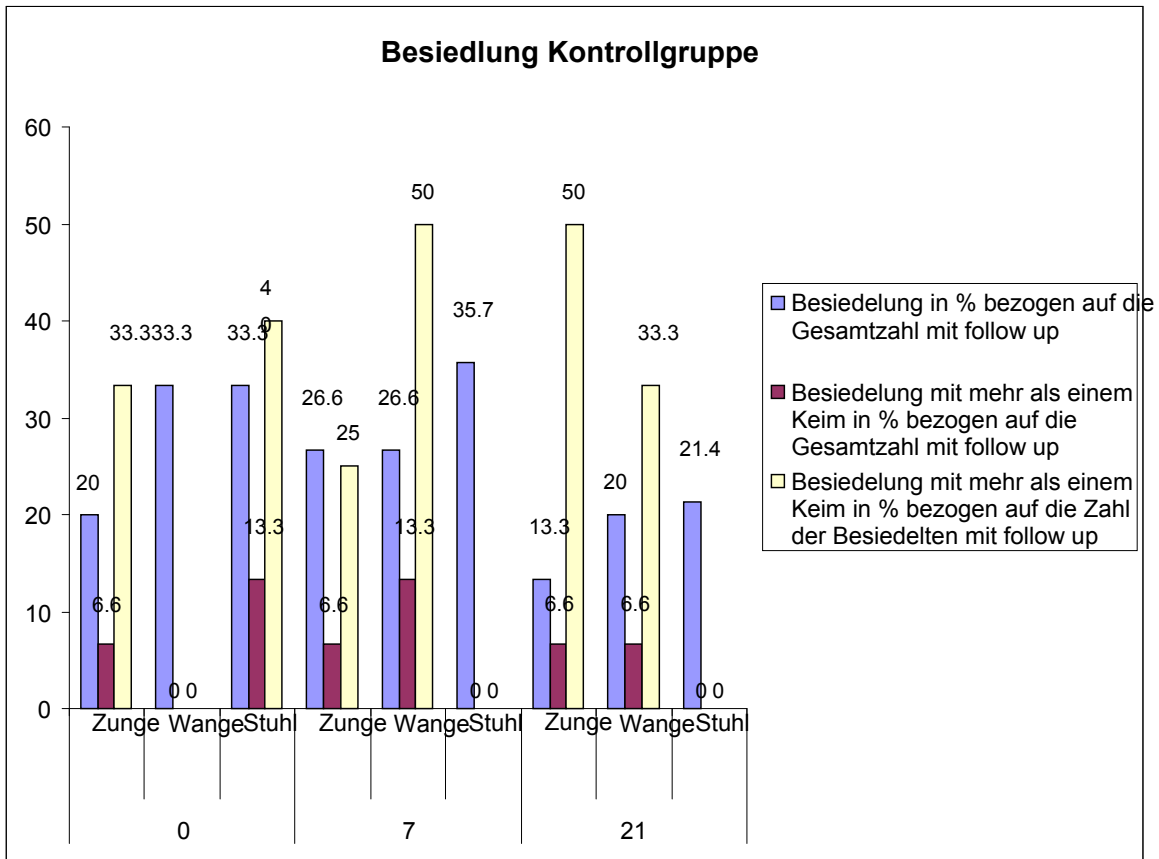


Tabelle 5: Besiedlungsraten der Kontrollgruppe in Prozent

In der Kontrollgruppe gibt es seine ziemlich große Schwankungsbreite. (Tabelle 5)

8.1.4 Patientenstatistik

	Kontrollgruppe	Patienten
Alter in Monaten	45.2±35.2	33.7±30
w	40%	33.30%
m	60%	66.70%
Größe in cm	100.1±22	87.2±18.7
Gewicht in kg	20.8±7.6	7±4.2
follow up	3	2.4±0.6

Tabelle 6: Patientenstatistik

In *Tabelle 6* sieht man die Patientendaten in Bezug auf Alter, Geschlecht, Größe in cm, Gewicht in kg und das Follow up. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe in Bezug auf das Alter und Geschlecht. Der Mittelwert und die Standardabweichung für das Alter der Kontrollgruppe liegen bei 45.2±35.2, die der

Patientengruppe mit einer Nasen- bzw. Magensonde liegt bei 33.7 ± 30 . Der prozentuelle Anteil der weiblichen Studienteilnehmer der Kontrollgruppe macht 40%, die der Patientengruppe 33.30% aus. Der prozentuelle Anteil der männlichen Studienteilnehmer liegt bei 60% in der Kontrollgruppe und bei 66.70% in der Patientengruppe.

9 Diskussion

Vergleicht man die Statistiktabelle der isolierten Spezies in der Gesamtheit von **Patienten-** und **Kontrollgruppe** (Tabelle 3) so fällt auf, dass **Candida albicans** und **Candida parapsilosis** vermehrt in der Kontrollgruppe als in der Patientengruppe und **Candida dubliniensis** nur in der Patientengruppe isoliert wurden. Berechnet man daraus die Signifikanzen, kommt man zu folgenden Ergebnissen.

Spezies	Patienten	Kontrollgruppe	Gesamt
Absidia corymbifera		2	2
Aspergillus fumigatus	1		1
Aspergillus species		1	1
Candida albicans	11	13	24
Candida dubliniensis	3		3
Candida famata	1	1	2
Candida guilliermondii		1	1
Candida intermedia		1	1
Candida krusei	2	4	6
Candida lipolytica	1		1
Candida lusitaniae	4	1	5
Candida parapsilosis	3	13	16
Candida pulcherrima		2	2
Candida sake	1	2	3
Candida species	1		1
Candida zeylanoides	1		1
Schimmelpilz		1	1

Für die Gesamtheit der isolierten Spezies in der Patienten- und Kontrollgruppe gelten folgende Signifikanzen:

- **Candida albicans** kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies.
- **Candida parapsilosis** kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies (mit Ausnahme von **Candida albicans**).
- **Candida krusei** kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies (mit Ausnahme von **Candida albicans** und **Candida parapsilosis**).
- **Candida lusitaniae** kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies (mit Ausnahme von **Candida albicans**, **Candida parapsilosis** und **Candida krusei**).

Für die Patientengruppe gilt folgende Signifikanz:

- *Candida albicans* kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies.

Für die Kontrollgruppe gelten folgende Signifikanzen:

- *Candida albicans* kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies (mit Ausnahme von *Candida parapsilosis*).
- *Candida parapsilosis* kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger vor als alle anderen Spezies (mit Ausnahme von *Candida albicans*).

Die Frage ob eine Spezies in einer Gruppe häufiger vorkommt als in der anderen Gruppe kann nach Berechnung der Signifikanzen wie folgt beantwortet werden:

- *Candida albicans* kommt in der Kontrollgruppe nicht signifikant häufiger vor als in der Patientengruppe.
- *Candida parapsilosis* kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger in der Kontrollgruppe als in der Patientengruppe vor.

Sucht man in der Literatur nach ähnlichen bzw. verwandten Aussagen dann findet man folgende Studien:

Die Studie von DEWILDE et al. beschäftigte sich mit dem vermehrten Befall der Mundhöhle mit Hefepilzen während und nach Entfernung einer parenteralen Sonde. Dabei kam man zum Ergebnis, dass *Candida albicans* weniger häufiger aus der Mundhöhle bei Patienten während des Verweilens einer parenteralen Sonde als bei Patienten nach Entfernung der parenteralen Sonde isoliert wurden. Aber im Gegenteil dazu wurde aus den Stuhlproben bei den Patienten mit einer Sonde vermehrt *Candida albicans* isoliert. In dieser Studie wurden 74 Patienten im Altersdurchschnitt von 58,7 Jahre und einer Range zwischen 11 und 88 Jahren herangezogen (DEWILDE et al. 1982).

In der Studie von Kadir et al. wurden 300 gesunde türkische Kinder im Alter zwischen 0 und 12 Jahren auf das Vorkommen von *Candida* Species in der Mundhöhle untersucht. Die Resultate ergaben, dass *Candida albicans* am häufigsten isoliert wurde (84.8% der Isolate).

Desweiteren wurden *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida famata* und *Candida tropicalis* isoliert. Es wurden bei 22.3% der gesunden türkischen Kinder *Candida albicans* und bei 3.9% *Candida parapsilosis* nachgewiesen. Die Studie Kadir et al. geht davon aus, dass die Besiedelung der Mundhöhle mit *Candida* bei jedem Individuum variiert bzw. auch von der jeweiligen geographischen Lage sowie von sozio-ökonomischen Unterschieden in der Bevölkerung abhängig ist. Bei dieser Studie wurde eine weitere Untersuchung durch Odds als Grundlage genommen, wobei er in 41 Studien die Häufigkeit der Besiedelung der Mundhöhle mit Hefepilzen bei gesunden Individuen untersuchte. Die vier am höchsten berichteten Häufigkeiten kamen mit 71% bei Schulkindern in England, mit 69% bei deutschem Pflegepersonal, gefolgt von 56% der Kinder in Israel und als viert häufigsten mit 54% bei Säuglingen in England vor (ALDRED M.J. et al. 1989, KADIR T. et al. 2005, ODDS F.C. 1988).

Eine weitere Studie von Aldred et al. untersuchte die Häufigkeit des Auftretens von *Candida albicans* in der Mundhöhle bei unterernährten Kindern im Vergleich zu einer normal ernährten Kontrollgruppe. Es wurden 106 Kinder aus Südafrika untersucht, welche in eine unterernährte- und in eine Kontrollgruppe unterteilt wurden. Mittels Wangen- und Zungenabstrichen wurden Proben isoliert und dementsprechend im Labor weiterverarbeitet. Man fand keinen Unterschied zwischen der Häufigkeit der Besiedelung der Mundhöhle mit *Candida albicans* bei unterernährten Kindern (66.7%) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (65.5%) (ALDRED M.J. et al. 1989).

Die vorliegende Studie bestätigt Daten anderer Studien über die Prävalenz von *Candida albicans* im Stuhl, wie zum Beispiel die Studie von Jobst & Kraft über „*Candida* Spezies im Stuhl, Symptome und Beschwerden in der allgemeinen Praxis“ in der 308 ambulante Patienten untersucht wurden. Es wurde postuliert, dass *Candida* Spezies vermutlich unspezifische Symptome hervorrufen, wie Antriebslosigkeit, chronische oder akute Kopfschmerzen, Hautirritationen, Blähungen oder sogar eine Lebensmittelintoleranz, welches zusammen als "Candida-(Überempfindlichkeits-) Syndrom“ bezeichnet wird. Man stellte sich die Frage, ob Patienten mit *Candida* Spezies im Stuhl mehr unter den oben genannten Beschwerden und Symptomen leiden als Patienten ohne *Candida* Spezies im Stuhl. In dieser Untersuchung zeigten nur wenige Patienten einen statistischen Zusammenhang zwischen angegeben Symptomen, welche in einem Gesundheitsfragebogen erfasst wurden, und dem Auffinden von *Candida* Spezies im Stuhl. (JOBST D. & KRAFT K. 2006)

10 Konklusion

Aus der vorliegenden Studie können folgende Schlüsse gezogen werden:

- *Candida albicans* kommt signifikant am häufigsten in der Gesamtheit von Patienten- und Kontrollgruppe, nur in der Patientengruppe und nur in der Kontrollgruppe vor.
- *Candida albicans* und *Candida parapsilosis* wurden vermehrt in der Kontrollgruppe als auch in der Patientengruppe isoliert.
- *Candida dubliniensis* wurde vermehrt nur in der Patientengruppe allein isoliert.
- *Candida albicans* und *Candida parapsilosis* wurden in der Kontrollgruppe gleich häufig isoliert.
- *Candida albicans* kommt in der Kontrollgruppe nicht signifikant häufiger vor als in der Patientengruppe.
- *Candida parapsilosis* kommt mit $p=0.01$ hoch signifikant häufiger in der Kontrollgruppe als in der Patientengruppe vor.
- Das Auftreten von Hefepilzen in der Mundhöhle kann von Individuum zu Individuum verschieden sein und auch abhängig von der geographischen Lage und sozio-ökonomischen Unterschieden in der Bevölkerung sein.

11 Literaturverzeichnis

- Aldred M.J., Arendorf T.M., Wade W.G., Tschoepe G.A., Brownlow N.P.:** Frequency and density of yeasts in the mouth of malnourished children – Community dent oral epidemiol 1989; 17: 136-8
- De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras:** Atlas of clinical fungi, 2000; 2: 194, 196, 203, 209 & 216
- Dewilde T., Vroey Ch. De., Bosmans J., Hubens A., Vanbreuseghem R.:** Prevalence of *Candida albicans* in patients receiving home total parenteral nutrition. Sabouraudia, 1982; 20: 169–171
- Dohr G., Hartmann M., Pabst M.:** Histologische Übungen für Anfänger Teil 2, 2003; 71: 2-3
- Dunitz-Scheer M., Wilken M., Schein A., Walch G., Scheer P.:** Wie kommen wir von der Sonde los? Kinderkrankenschwester, 2000; 19, 11: 448-457
- Dunitz-Scheer M., Schein A., Wilken M., Walch G., Huber A., Schober P., Scheer P.:** Sondenentwöhnung in der frühen Kindheit, Monatsschrift für Kinderheilkunde, 2001; 149: 1348-1359
- Hahn H., Falke D., Kaufmann S.H.E., Ullmann U.:** Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 2004; 5: 679-686, 689
- Hof H., Dörries R.:** Medizinische Mikrobiologie, 2002; 2: 450-453, 457-463
- Junqueira L.C., Carneiro J., Gratzl M.:** Histologie, 2004; 6: 244-245, 260-263
- Jobst D., Kraft K.:** *Candida* species in stool, symptoms and complaints in general practise – a cross-sectional study of 308 outpatients, Blackwell Publishing Ltd – Mycosis, 2006; 49: 415-420
- Kadir T., Uygun B., Akyüz S.:** Prevalence of *Candida* species in Turkish children: relationship between dietary intake and carriage – Archives of Oral Biology 2005; 50: 33-37

Kayser F.H., Böttger E.C, Zinkernagel R.M., Haller O., Eckert J., Deplazes P.:

Medizinische Mikrobiologie, 2005; 11: 360-363, 375-376

Köhler W., Eggers H.J., Fleischer B., Marre R., Pfister H., Pulverer G.: Medizinische

Mikrobiologie 2001; 8: 668-670, 673, 684-685

Lamond R. J., Burne R. A., Lantz M. S., Le Blanc D. J.: Oral microbiology and immunology

2006; 1: 333

Lüllmann-Rauch R.: Taschenlehrbuch Histologie, 2006; 2: 342-344, 382-384

Miksits K., Hahn H.: Basiswissen Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 2003; 2003:

211-217

Odds F. C.: Candida and candidosis: a review and bibliography 1988; 2: 10-50

Rainer J., Kirchmair M.: Praktikumsskriptum Schimmelpilze I – Medizinisch relevante Hefen und Schimmelpilze. Institut für Mikrobiologie, Leopold-Franzens-Universität Innsbruck, 2002.

Rohen J. W.: Anatomie für Zahnmediziner, 1994; 3: 109-111, 187-188

Seebacher C., Blaschke-Hellmessen R.: Mykosen 1990; 1: 13-19

Seelinger H. P. R., Heymer T.: Diagnostik pathogener Pilze des Menschen und seiner Umwelt

1981; 1: 48-49, 62-67

Sziegoleit F., Weidner N., Sziegoleit A., Wetzel W. E.: Deutsche zahnärztliche Zeitschrift –

Jahresinhaltsverzeichnis 2002; 57: 349-352

Vitkov L., Hannig M., Krautgartner W.D, Otten J.E.: Deutsche zahnärztliche Zeitschrift –

Jahresinhaltsverzeichnis 2004; 59: 12-16

Wachtler F.: Histologie – Lehrbuch der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen, 2005; 7: 286-294, 326-327

Quelle: <http://www.chirurgie-portal.de/infektionen/candidiasis-soor-kandidose.html>, Stand: 09.09.2008

Quelle: http://www.hauss.de/~upload/pages/Neue_Seite_1610_12_7.asp, Stand: 13.09.2008

Quelle: Abbildung 1

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/thumb/6/6f/Oralcandi.JPG/280px-Oralcandi.JPG>,

http://www.visualdxhealth.com/images/dx/webTeen/oralCandidiasisThrush_33528_lg.jpg,

Stand: 12.09.2008

Quelle: Abbildung 2

<http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/medizin/andrade-manuel/HTML/object2.png>, Stand:

12.09.2008

Quelle: Abbildung 3

https://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/refphoto/g301_hccandida_ckrusei_14243_hugo.jpg, Stand: 13.09.2008

Quelle: Abbildung 4

<http://www.dr-haake.de/images/pilzbild3.gif>, Stand: 13.09.2008

Quelle: Abbildung 5

<http://www.airflag.com/Hirn/w4/w4sinne-Dateien/zunge.jpg>, Stand: 14.09.2008

Quelle: Abbildung 6

http://www.unifr.ch/anatomy/elearningfree/allemand/biochemie/verdauung/images/ue_colon_gross.jpg, Stand: 14.09.2008

Quelle: Abbildung 7

http://www.microbialid.com/images/common/petrie_hand_top.jpg, Stand: 14.09.2008

12 Anhang

12.1 Elterninformation und Einwilligung Studienteilnehmer und Kontrollgruppe

Betrifft: Teilnahme an einer wissenschaftlichen Erhebung zum Thema der Besiedelung der Mundhöhle mit Hefepilzen und Bakterien bei langzeitsondierten Kleinkindern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Elterninformation und Einwilligungserklärung für Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer bzw. deren Erziehungsberechtigten

Sehr geehrte Eltern!

1. Einleitung und Studienziel

Sie sind aufgrund der Erkrankung ihres Kindes zur Therapie an unsere Klinik gekommen. Wir werden Sie bestmöglich unterstützen und hoffen, dass Sie und Ihr Kind sich hier wohl fühlen.

Neben der optimalen Unterstützung sind wir auch bemüht, neue wissenschaftliche Erkenntnisse zu gewinnen, um in Zukunft noch besser helfen zu können. Zu diesem Zweck wurde an unserer Abteilung eine Studie gestartet, die sich mit dem Befall der Mundhöhle mit Hefepilzen bei langzeitsondierten Kindern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beschäftigt. Wir sind vor allem daran interessiert zu beobachten, ob es zu Veränderungen der physiologischen Mundhöhlenflora in Hinblick auf vermehrtes Auftreten von Hefepilzen bzw. Bakterien bei Kleinkindern, die per Magensonde oder Nasogastrischer Sonde ernährt werden, kommt.

2. Was bedeutet die Teilnahme an der Studie für Ihr Kind?

Wir würden uns sehr freuen, Ihr Kind als TeilnehmerIn an der Studie gewinnen zu können. Die Teilnahme an der Studie bedeutet für Ihr Kind folgendes:

- 30 min vor Probenentnahme keine orale Nahrungsaufnahme mehr
- Durchführung eines schmerzfreien Mundhöhlenabstriches (Zungenabstrich bzw. Wangenabstrich) bei Behandlungsbeginn, nach einer Woche und bei Behandlungsende bzw. nach zwei Wochen
- Abgabe einer Stuhlprobe bei Behandlungsbeginn, nach einer Woche und bei Behandlungsende

Sollte die Sonde ihres Kindes im Rahmen der Therapie an unserer Abteilung entfernt werden, würden wir uns freuen, auch diese für eine mikrobiologische Untersuchung zu erhalten.

Natürlich werden Sie über alle Untersuchungsergebnisse genau informiert und über deren Bedeutung aufgeklärt.

3. Freiwilligkeit der Teilnahme und Abbruchmöglichkeiten

Die Teilnahme an der Studie ist natürlich freiwillig. Bei Nichtteilnahme entstehen Ihnen und Ihrem Kind keinerlei Nachteile. Sie können die Teilnahme an der Studie jederzeit ohne Angabe von Gründen beenden.

Eine Teilnahme an der Studie ändert nichts an der Behandlung. Die zusätzlichen, nicht-invasiven und schmerzlosen Untersuchungen dienen nur dem wissenschaftlichen Wissensgewinn und Ihrer Information.

Selbstverständlich entstehen Ihnen durch eine Teilnahme an der Studie auch keine Kosten für die darin enthaltenen Untersuchungen.

4. Anonymität

Die erhobenen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und werden vom Studienleiter bzw. Studienmitarbeiter anonymisiert. Das bedeutet, dass niemand außerhalb des Projektteams zurückverfolgen kann, von welchem Studienteilnehmer welche Daten stammen. Die gesammelten, anonymisierten Daten werden elektronisch verarbeitet und statistisch ausgewertet.

5. Rückfragen

Falls Sie noch Fragen zur Studie und zu den Untersuchungen haben, wenden Sie sich bitte direkt an die/den Studienleiterin/-leiter bzw. den Studienmitarbeiter oder ihren behandelten Arzt/ ihre behandelnde Ärztin.

Studienleiter Hygieneinstitut: Dr. Walter Buzina Telefon: (0316)-380-7719

Studienleiterin Kinderklinik: Univ. Prof. Dr. Marguerite Dunitz-Scheer

Studienmitarbeiter: Fritz Pöllinger

Wenn zu Hause Fragen auftreten, können Sie uns gerne jederzeit telefonisch erreichen: An Werktagen von 8-15 Uhr unter (0316)-385-83759, (0316)-380-7719 und zu jeder anderen Zeit erreichen Sie die Abteilung für Psychosomatik und Psychotherapie unter der Nummer (0316)-385-3784.

Wir stehen für Fragen auch gerne per E-Mail zur Verfügung:

walter.buzina@meduni-graz.at.

6. Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie

Name der Patientin/des Patienten:.....

Geburtsdatum:.....

Name und Adresse des

Erziehungsberechtigten:.....

Telefon/Email:.....

Name der/des aufklärenden Studienverantwortlichen:

.....

Ich bin von oben genannter/m Studienverantwortlichen eingehend über die Studie informiert worden. Der Ablauf und Zweck wurde mir verständlich erläutert. Ich wurde über Freiwilligkeit der Teilnahme und über die Möglichkeit die Studie jederzeit abubrechen aufgeklärt. Ich wurde über alle Fragen eingehend informiert, und die Telefonnummern für später auftretende Fragen sind mir bekannt.

Eine Kopie der Elterninformation und Einwilligung habe ich erhalten, gelesen und verstanden.

Ich wurde über Art und Weise der Datenverarbeitung und über die Datenschutzmaßnahmen informiert.

Hiermit erkläre ich, dass ich alle mir erteilten Informationen verstanden habe, ich zur Teilnahme meines Kindes an der Studie bereit bin und mit der anonymen Verarbeitung meiner Daten einverstanden bin.

Ort, Datum

Unterschrift Erziehungsberechtigte/r

Ort, Datum

Unterschrift Studienverantwortliche/r

12.2 Parents information and agreement study participant

Participation in a scientific study concerning the topic of yeast and bacterial colonisation of the oral cavity of long term tube fed children compared to healthy children

Information and agreement for study participants and their parents

Dear Parents!

1. Introduction and aim of the study

You have come to our hospital for treatment. We will support you by all means and hope that we can help you and your child to feel as comfortable as possible.

Besides the need for assessment and therapeutic procedures to meet the current state of the art we are also obliged to gather new scientific knowledge that might help you and other patients even more in the future. This is why we have started a special study that deals with yeast and bacterial colonisation of the oral cavity of long term tube fed children or children with other eating disorders compared to unaffected patients. We are particularly interested to find out about a shift in the physiological flora of the oral cavity, focusing on a possible increase in the appearance of yeasts.

2. What would a participation in the study mean for your child?

We would really appreciate your support by letting your child take part in this scientific study. The participation would mean:

- No oral feeding for 30 minutes until the oral sample is taken
- Obtaining a completely painless oral swab (tongue swab or buccal mucosa swab) at the start of the treatment, one week later and at the end of treatment
- A stool sample from your child will also be taken in the beginning, one week later and in the end of treatment.

3. Voluntariness of the participation

The participation in this scientific study is completely voluntarily. If you decide not to participate there will be absolutely no disadvantages for you and your child. At any time during the study you are able to finish your involvement without having to state any reasons for your decision.

Taking part in the study does not affect you child's treatment in any way. The additional, non invasive and pain free examinations are only for gaining knowledge and information, allowing better treatment in the future.

Of course, a participation in this scientific collection will not cost you anything with regards to the necessary examinations.

4. Anonymity

Collected data of any kind adheres to complete doctor-patient confidentiality and will be made anonymous by study co-workers or the project director. This means that nobody outside the project team will be able to trace which data came from which participant. The collected and anonymized data will be processed electronically and evaluated statistically.

5. Further inquiries

In case you have any questions regarding our scientific study and the examinations, please contact the project director or the study coworker or the treating physician.

Project leader at the Institute of Hygiene: Dr. Walter Buzina Tel: (0316)-380-7719
Project leader at the paediatric clinic: Prof. Dr. Marguerite Dunitz-Scheer
Study coworker: Fritz Pöllinger

If you have any questions whilst at home, please don't hesitate to contact us:
From Monday to Friday, from 8am to 3 pm: (0316)-385-83759, (0316)-380-7719.
At any other time you can reach the ward for psychosomatics: (0316)-385-3784.
To contact us via e-mail please write to: walter.buzina@meduni-graz.at.

6. Declaration of consent for study participation

Patients name:.....

Date of birth:

Name and address
of parent(s):

Phone/e-mail:

Name of explaining study person responsible:
.....

I have been informed about the details of this scientific study by the responsible study person stated above. I clearly understand the details and purpose of the study. I have been informed about the voluntary nature and the possibility of termination of participation at any time. All my questions have been answered thoroughly, and I know the phone numbers with which I can ring for more information for any questions which might arise later.

I received a copy of the parental information and agreement, which I have read and understood.

I have been informed about the kind of data processing and data protection measures in use.

I hereby accept that I clearly understand all the information given to me, and that I agree with the participation of my child in this study and that I further agree with the anonymous data processing.

Date_____
Signature of the parent(s)_____
Date_____
Signature of the study responsible

12.3 Elternprotokoll für Kinder der Kontrollgruppe

Sehr geehrte Eltern!

1. Einleitung

Benötigt werden insgesamt **drei** Zungenabstriche, **drei** Wangenabstriche (zwischen Wange und der Zahnreihe im Unterkiefer, „Tasche“) und **drei** Stuhlproben im Abstand von je 5-10 Tagen.

z.B. erster Zungenabstrich, erster Wangenabstrich und erste Stuhlprobe am Sonntag
zweiter Zungenabstrich, zweiter Wangenabstrich und zweite Stuhlprobe 7 Tage später am darauffolgenden Sonntag etc.....

2. Durchführung des Zungenabstriches

Am Besten immer gleich in der Früh, vor dem Frühstück, denn das Kind darf 30 min. vor dem Abstrich keine Nahrung zu sich nehmen

- Öffnen Sie die Verpackung des sterilen Abstrichtupfers und weißen Röhrchens
- Führen Sie den Abstrich durch indem Sie mit dem Tupfer ein paar Sekunden auf der Zunge des Kindes hin und her fahren
- Öffnen sie das beiliegende weiße Röhrchen und führen Sie den Tupfer in das Röhrchen ein
- Beschriften Sie das Röhrchen mit „Zunge“ und schreiben Sie den Namen ihres Kindes drauf
- Anschließend führen Sie das weiße Röhrchen samt Tupfer in das Transportgefäß ein und verschließen es

3. Durchführung des Wangenabstriches

Gleich wie Zungenabstrich, Röhrchen bitte mit „Wange“ beschriften

4. Durchführung der Stuhlprobe

Bei der Durchführung der Stuhlprobe ist es egal, ob Ihr Kind vorher was gegessen hat oder nicht oder zu welcher Tageszeit die Stuhlprobe entnommen wird. Aber die Abstände zwischen den einzelnen Stuhlproben sind einzuhalten.

- Öffnen Sie das Stuhlgefäß
- Entnehmen Sie Stuhl Ihres Kindes mit der Stuhlpachtel, eine etwa nussgroße Menge genügt
- Verschließen Sie das Stuhlgefäß
- Beschriften Sie das Röhrchen mit dem Namen ihres Kindes und dem Entnahmedatum
- Bringen Sie das Stuhlgefäß in den Transportbehälter
- Anschließend lagern Sie bitte das Stuhlgefäß kühl, die Stuhlprobe darf für die Weiterverarbeitung nicht älter als 2 Tage sein

5. Datenerfassungsblatt

Weiters ersuche ich Sie folgendes Datenblatt gewissenhaft auszufüllen.

6. Rückfragen

Falls Sie noch Fragen zur Studie und zu den Untersuchungen haben, wenden Sie sich bitte direkt an den Studienmitarbeiter Pöllinger Fritz.

per Mail: fritz_poellinger@gmx.at

per Handy: 0650/ 368 9 368 am besten nachmittags und abends zu erreichen

Dr. Buzina Walter

Tel: 0316 380 7719, 0676 7800545

walter.buzina@meduni-graz.at

7. Vielen Dank für die Mitwirkung!

Datenerfassung für Kontrollgruppe

Bitte notieren Sie immer das Datum der Probenentnahme. Hier eine kleine Hilfe.

	Zungenabstrich	Wangenabstrich	Stuhlprobe
1.			
2.			
3.			

Name:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Größe:

Gewicht:

Medikamente (falls welche dauerhaft eingenommen werden):

.....

.....

.....

Ernährungsgewohnheiten* im groben Überblick (letzte 14 Tage):

.....

.....

.....

* z.B. Stillen, teilweise stillen, Babynahrung, „Normalkost“ etc.

Wie viele Zähne hat Ihr Kind bereits?

12.4 Datenerfassungsblatt

Name:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Aufnahmedatum:

Herkunft:

Größe:

Gewicht:

Grunderkrankung:

.....

Medikamente:

.....

Art der Sonde, Verweildauer:

.....

Ernährung (letzte 14 Tage):

.....

Mundhygiene, Zahnstatus:

.....

12.5 Befundtabelle

Zungenabstrich

Woche:

Probennummer:	Abstrichdatum:	Befunddatum:
Befund:		

Wangenabstrich

Woche:

Probennummer:	Abstrichdatum:	Befunddatum:
Befund:		

Stuhlprobe

Woche:

Probennummer:	Probenentnahme:	Befunddatum:
Befund:		

13 Lebenslauf

FRITZ PÖLLINGER

Schönbrunnngasse 1/15
8043 Graz

Tel. 0650/36 89 36 8

E-Mail: fritz_poellinger@gmx.at



Persönliche Daten:

Geburtsdatum: 18.12.1980
Geburtsort: Gr. St. Florian
Staatsbürgerschaft: Österreich
Familienstand: ledig

Schule & Ausbildung:

1999 BORG mit vertiefendem Unterricht in den Fächern Bildnerische Erziehung und Bildnerisches Gestalten mit Matura erfolgreich abgeschlossen

09/99 – 09/00 Zivildienst im Seniorenwohnheim Deutschlandsberg

10/00 – 10/01 Humanmedizinstudium an der Karl-Franzens-Universität in Graz

seit 10/01 – dato Umstieg auf das Zahnmedizinstudium an der Medizinischen Universität in Graz