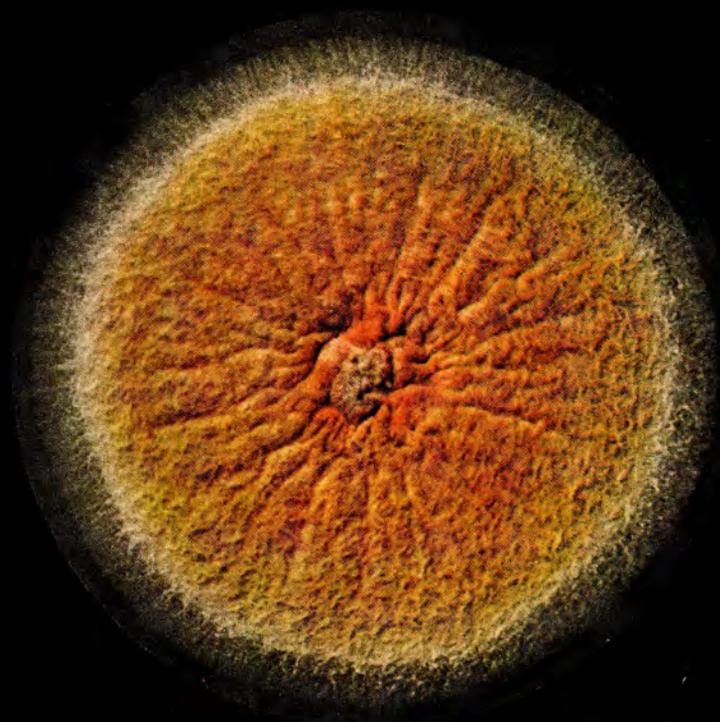


mykosen

Herausgeber und Schriftleiter: Hans Götz, Essen, Heinz Grimmer, Wiesbaden
Detlev Hantschke, Essen, Wolf Meinhof, München, Hans Rieth, Hamburg



8/1970

1. August

Aus dem Mykologischen Labor des Hospital Amazónico „Albert Schweitzer“, Pucallpa, Peru
(Leitender Arzt: Dr. T. BINDER)

Untersuchungen über den Befall mit Hefen bei Patienten des Hospital Amazónico „Albert Schweitzer“ in Peru

1. Mitteilung: Isolierung der Stämme

DIETRICH ADAM und DIETER BAUER

1. Allgemeine Bedingungen

In der Zeit vom Februar bis Juli 1969 hielten wir uns im *Hospital Amazónico* „Albert Schweitzer“ im Urwaldgebiet des mittleren Río Ucayali in Ost-Peru auf. Das 1960 von dem deutsch-peruanischen Arzt Dr. THEODOR BINDER errichtete Hospital hat etwa 40 Betten, in denen pro Jahr rund 650 Patienten behandelt werden. Ambulant durchlaufen jährlich ca. 16.000 Patienten das Krankenhaus.

Unter den *Krankheiten* spielen Fehl- und Mangelernährung, Parasitosen, Dysenterien und Tuberkulosen die dominierende Rolle. Daneben findet man auch das Spektrum der in Europa verbreiteten Erkrankungen, ausgenommen Herz- und Kreislaufkrankheiten, die praktisch unbekannt sind. Obwohl Hautmykosen häufig sind, führen sie die Menschen im allgemeinen nicht zum Arzt.

Das *Einzugsgebiet* umfaßt etwa 200.000 Mestizen und Indianer, von denen ein Großteil zur nahegelegenen Stadt Pucallpa (mit 45.000 Einwohnern) gehört. Der größere Prozentsatz an Patienten entfällt auf Frauen und Kinder.

Das *Klima* ist tropisch, entsprechend der Lage am 8. südlichen Breitengrad auf 800 Meter Meereshöhe. Die Temperaturen halten sich um 30° C, auch in der Nacht kommt es kaum zur Abkühlung. Die Luftfeuchtigkeit beträgt immer um 100 %.

Die *Ernährung* der Bevölkerung, vor allem in der Umgebung des Hospitals, besteht fast ausschließlich aus Kohlenhydraten, da der Ertrag des Fischfanges in Ortsnähe gering und Fleisch für die meisten zu teuer ist. Die in ihrem ursprünglichen Lebensraum verbliebenen Eingeborenen weisen hingegen durch die zu jeder Mahlzeit verzehrten Süßwasserfische eine ausgeglichene Eiweißbilanz auf.

Die *soziale Struktur* der Indianer und Mestizen ist sehr verschieden. Während die Indios im festgefühten Sippenverband in kleinen Dörfern sozial einigermaßen gesichert leben, ist bei den im Ausstrahlungsbereich der „Zivilisation“, d. h. in größeren Orten lebenden Indios und Mestizen infolge des Verlustes der Großfamilie und dem zugehörigen kulturellen Hintergrund, eine zunehmende Verelendung zu verzeichnen. Die Verschlechterung der Ernährungssituation geht mit einer Geburtenzunahme einher.

Das ausreichend ausgestattete *Labor* wurde uns von Dr. BINDER großzügigerweise mit allen Einrichtungen zur Verfügung gestellt.

2. Arbeitsmethoden

Zur Anzucht der Hefen und für die Subkulturen wurde Sabouraud-Fertigagar verwendet. Zur Unterdrückung von Begleitkeimen wurden Antibiotikazusätze in den von Dr. BINDER für dieses Klima erprobten Konzentrationen gegeben, nämlich 250 mg Actidione, 50 mg Chloramphenicol auf 500 ml Agar. Die Zugabe erfolgte, nachdem der Agar zweimal an verschiedenen Tagen je eine Stunde im Dampftopf bei 100° C gekocht worden und entsprechend abgekühlt war. Beim Abfüllen war ein ständiges Abflammen der Gläser unerlässlich. Die Schrägagarröhrchen wurden im Eisschrank bei ca. 3° C, in Plastikbeutel verpackt, zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Es wurde

etwa alle 14 Tage frischer Nährboden hergestellt. Zum Schutz vor Milbenbefall wurden die Stopfen der Röhrchen mit folgender Flüssigkeit getränkt: Alkohol 95 %ig 95 ml, HgCl_2 0,5 g, Glycerin 5 ml und einem Farbstoffzusatz zur Kennzeichnung der behandelten Stopfen (z. B. Gentianaviolett).

Die Bestimmung der Gattungs- und Artzugehörigkeit der Hefe-Reinkulturen wurde nach 2 Methoden versucht.

1. mit Hilfe von Reismagernährböden (RIETH, HANSEN et al. 1959)
2. ■■■■■ des Filamentationstestes (BONFANTE u. BARROETA 1966)

Zu 1. Für die Ausstriche auf den Reisplatten wurden 2—3 Tage alte Subkulturen verwendet. Die beimpften Platten wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und am 2., 4., 6., 8. und 19. Tag kontrolliert.

Die Verunreinigung mit Luftkeimen bereitete bei der Reisplattendifferenzierung Schwierigkeiten. Da zur mikroskopischen Beobachtung der Ausstriche die Petrischalen geöffnet werden müssen, waren praktisch von der 1. Kontrolle an Sekundärinfektionen nicht ausschaltbar, trotz Einhaltung möglichst steriler Bedingungen. Versuchsweise wurden daher zum Reisagar Antibiotika-Zusätze gegeben, nämlich 50 mg Chloramphenicol, 200.000 IE Penicillin und 250 mg Actidione auf 500 ml Nährboden. Trotzdem traten sogar hier in den unbeimpften Platten, die im Kühlschrank aufbewahrt wurden, Infektionen auf.

Um diesen Schwierigkeiten zu entgehen, wurden sämtliche isolierten Stämme nach München übersandt, um hier unter normalen Arbeitsbedingungen die Feindifferenzierung mittels Reisplatten, Gärprobe und Assimilation durchzuführen.

Zu 2. Für den Fil.-Test verwendeten wir 24 Std. alte Kulturen. Eine Öse Hefematerial wurde gleichmäßig in $\frac{1}{2}$ ml Humanserum (Sammelserum) verteilt und bei 37° C inkubiert. Nach einstündiger Bebrütung und dann stündlich wurde ein Tropfen im Objektträgerpräparat untersucht.

Da wir selbst bei der 4. Kontrollprobe noch immer keine eindeutigen Keimhyphen oder gar fortgeschrittenere Elemente fanden, führten wir die Untersuchungen nach dieser Methode nicht mehr weiter.

Sämtliche isolierten Stämme auf Subkulturen wurden vorläufig nach makroskopischen Gesichtspunkten eingeteilt:

- a) Kolonien gewölbt, cremefarbig (weißlich bis bräunlich), porzellanartig glatt.
Konsistenz: weich.
- b) Kolonien faltig aufgeworfen, gelblich-cremefarben,
Konsistenz: krümelig bis fest.
- c) Kolonien nicht gewölbt, flach, rau, wie fein bestäubt, weiß,
Konsistenz: weich.
- d) Kolonien nicht gewölbt, flach, gelatineartig glatt und durchsichtig, braun-rötlich, verfließend im Umriss.
Konsistenz: schleimig.

3. Patientenauswahl

a) Hospitalisierte Patienten

Erfasst wurden hauptsächlich die Patienten, die sich länger als zehn Tage in stationärer Behandlung befanden. Unter diesen sind im weiteren die Tuberkulosekranken und Kinder als besonders große Gruppen berücksichtigt.

b) Ambulante Patienten

Diese Patientengruppe stellte den Großteil der Vaginal- und der Mundhöhlenabstriche. Beide stammen ohne Vorauswahl der Patienten von routinemäßigen Untersuchungen aus einem Zeitraum von Februar bis Juni 1969.

c) *Kindergarten*

Zum Vergleich mit den hospitalisierten Kindern wurden diese „relativ gesunden“ Kinder als Kontrollgruppe herangezogen. Die Bezeichnung „relativ gesund“ wurde deshalb gewählt, weil zwar keines der Kinder in Behandlung des Hospitals stand, jedoch Parasitosen, Dysenterien, Fehlernährung und auch Bronchitiden bei ihnen anzutreffen waren.

4. **Untersuchungsmaterial**

a) *Die Vaginalabstriche* wurden im Rahmen einer gynäkologischen Routineuntersuchung mit einem sterilen Watteträger abgenommen. Dabei wurde der klinische Untersuchungsbefund dem Labor mitgeteilt.

b) *Bei Stuhlproben* wurde das Untersuchungsmaterial entweder direkt mit der Öse ausgestrichen, bei Säuglingen mit sterilen Watteträgern.

c) Watteträger dienten auch zur Abnahme der Abstriche von der *Mundschleimhaut*. Einen Großteil lieferte der Zahnarzt des Hospitals, in dem er zeitweise routinemäßig von jedem seiner Patienten einen Mund- und Rachenabstrich anfertigte.

d) Die Patienten lieferten die *Urinproben* in einem sterilen Reagenzglas. Nach zehnmütigem Zentrifugieren wurde das Sediment in üblicher Weise ausgestrichen.

e) *Hautabstriche* wurden nach vorheriger Desinfektion mit einem sterilen Messer abgeschabt oder bei Ulcera mit der Öse abgenommen und auf dem Agar verteilt.

Der überwiegende Teil der Abstriche stammt aus den drei Hauptgruppen: Stuhl, Vagina und Mundhöhle. Die restlichen Abstriche verteilen sich auf Urin, Haut mit Anhangsgebilden, Sputum und Magensaft.

Von einigen Patienten wurde mehr als ein Abstrich genommen.

Entweder wurde das gleiche Untersuchungsmaterial an verschiedenen Tagen gewonnen (z. B. Stuhl 10. IV, 27. IV, 20. V) oder Material verschiedener Herkunft (z. B. Vagina, 15. IV, Mund 1. V, Stuhl 28. V) abgenommen.

Tabelle I: Herkunft und Verteilung

Herkunft	Anzahl	%	Hefe-positiv %		Hefe-negativ %	
Gesamt	507	100	197	38,9	310	61,1
Stuhl	162	32	116	72	46	28
Vagina	148	29	22	15	126	85
Mundhöhle	144	28	42	30	102	70
Urin	31	6	5	18	26	82
Haut ¹⁾	12	2	6	50	6	50
Sonstige ²⁾	10	2	6	60	4	40

¹⁾ Haut, Nasenschleimhaut, Nägel, Ulcera

²⁾ Sputum, Magensaft

5. Ergebnisse

Von 507 Abstrichen (Tabelle I) konnten in 197 Fällen (38,9 %) Hefen kultiviert werden. Fast 90 % der Abstriche fallen auf Stuhl, Vagina und Mundhöhle, d. h. eine statistisch fundierte Aussage muß sich auf diese drei Gruppen beschränken. Einen bemerkenswert hohen Anteil der Hefe-positiven Kulturen stellen die Stuhlabstriche mit fast 75 % dar.

Mit 15 % war der Kultur-positive Anteil der Vaginalabstriche relativ gering, besonders, wenn man berücksichtigt, daß fast alle Frauen aufgrund gynäkologischer Beschwerden (Fluor, Schwangerschaft, Unterbauchbeschwerden) die Sprechstunde aufsuchten.

Tabelle II: Herkunft und Verteilung der Abstriche (n = 496) nach klinischen Gesichtspunkten

	Total	Stuhl		Vagina		Mund		Urin		Haut		Sonstige	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
I. Hospital													
a) Tbc ¹⁾	85	22	17	1	5	9	11	2	15	—	1	1	1
b) Kinder	75	60	9	—	—	4	2	—	—	—	—	—	—
c) andere	56	18	9	—	5	5	6	1	9	1	2	—	—
II. Ambulanz	232	3	—	19	114	16	62	2	1	6	6	3	—
III. Kindergarten	48	12	9	—	—	8	19	—	—	—	—	—	—

¹⁾ Darunter auch ambulante Patienten und Kinder mit Tuberkulose

Die Zahl von 496 Abstrichen in **Tabelle II** entspricht nicht der Anzahl der Probanden, da häufig von einem Patienten mehrere Abstriche abgenommen wurden.

Da fast die Hälfte der hospitalisierten Patienten an einer Tuberkulose erkrankt war, wurde diese Gruppe als besondere hervorgehoben.

In der Gruppe II „Ambulante“ befinden sich fast ausschließlich Patienten ohne Antibiotika-Behandlung.

Die Gruppe „Kindergarten“ erfaßt „relativ gesunde“ Kinder (s. 3 c). Diese Gruppe ist als Kontrollgruppe gegenüber den stationär behandelten Kindern anzusehen, die zu einem großen Prozentsatz Gastroenteritiden (zusammen mit Parasitosen) als Haupt- oder Nebenkrankheit aufwiesen und von denen etwa die Hälfte unter antibiotischer Therapie stand.

Ein Vergleich von kultur-negativen und kultur-positiven Stuhlabstrichen zeigt ein etwa gleiches Verhältnis (1 : 1,3) bei Kindergarten-Kindern und Tuberkulose-Kranken, wogegen sich bei den stationär liegenden Kindern etwa fünfmal häufiger (1 : 6,5) positive Kulturen ergaben.

Die Mundhöhlenabstriche erbrachten bei der Hälfte der hospitalisierten Patienten ein positives Resultat.

Das Verhältnis positiv/negativ war bei der Gruppe „Kindergarten“ relativ hoch (1 : 2,5) im Gegensatz zu den ebenfalls nicht behandelten ambulanten Patienten (1 : 4).

Tabelle III: Verteilung der vaginalen Abstriche (n = 148) unter Berücksichtigung von Symptomen und beeinflussenden Faktoren

Symptom	Prämenopause		Postmenopause		Schwangerschaft		Gesamt	davon +
	+	-	+	-	+	-		
Trichomonaden-Fluor	4	14	—	—	1	1	20	5
Fluor ohne Trichomonaden	6	54	—	4	1	7	72	7
Fluor negativ	4	30	1	5	3	13	56	8
Gesamt	14	98	1	9	5	21	148	20

Bei 92 Frauen mit Fluor (siehe Tabelle III) konnte in 18 % der Fälle eine Trichomoniasis diagnostiziert werden.

Bei Trichomonaden-positivem Fluor trafen wir dreimal so häufig zusätzlichen Hefebefall an, wie bei Trichomonaden-negativem Fluor. Vergleicht man das Ergebnis der Abstriche von Frauen mit Fluor (n = 92) und Frauen ohne Fluor (n = 56), so waren die Kulturen zum etwa gleichen Prozentsatz (13 % bzw. 14 %) positiv. Dazu muß erwähnt werden, daß im Einzugsbereich des Hospitals die Kenntnisse über weibliche Hygiene äußerst mangelhaft erschienen. Bei Untersuchungen unter europäischen Verhältnissen fanden KIMMIG und RIETH (1961) mit 14 % positiven Ergebnissen und RÜTHER/RIETH/KOCH (1958) mit 17 % positiven Ergebnissen ähnliche Werte. Bei Schwangeren fanden wir fast doppelt so häufig wie bei nicht-graviden Frauen der gleichen Alters-Gruppe einen Hefebefall.

**Tabelle IV: Verteilung nach antibiotischer Therapie (n = 89).
(Der Entnahmetag wird vom Beginn der Behandlung an gezählt)**

Entnahmetag	Vagina		Stuhl		Mund		Urin		Haut		Sonstige	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
bis — 14 ¹⁾	—	3	7	3	1	1	—	1	—	—	1	—
1.—3.	—	1	18	3	1	—	—	—	—	—	—	—
4.—7.	—	—	11	2	—	—	—	3	—	—	—	—
8.—15.	—	—	6	2	1	1	—	—	—	—	—	—
16.—30.	—	—	6	2	2	1	—	1	—	—	—	—
> 30	—	—	8	1	—	2	1	1	—	—	—	—

¹⁾ Falls Antibiotika innerhalb der letzten 14 Tage vor dem Entnahmetag gegeben wurden, aber am Entnahmetag wieder abgesetzt waren

Während sich bei 70 % der mit Antibiotika Behandelten (Tabelle IV) Hefe-positive Kulturen ergaben, waren es bei den mit Tuberkulostatika Behandelten (Tabelle V) nur 40 %. Diese Tendenz wird noch deutlicher, wenn man ausschließlich die Ergebnisse der

Stuhlabstriche miteinander vergleicht. Der Prozentsatz der Hefe-positiven war bei den mit Antibiotika Behandelten etwa viermal größer als bei den tuberkulostatisch Behandelten.

Als Tuberkulostatika fanden in erster Linie Streptomycin (Durchschnittsdosis für einen Erwachsenen 2—3 × 1 g/Woche), PAS (12—16 g/die), INH (300 mg/die) Verwendung.

Als Antibiotika kamen die verschiedensten Präparate zur Verwendung, hauptsächlich jedoch Chloramphenicol (i. v.; i. m.; oral), Tetracyclin (oral), Penicillin (parenteral), Streptomycin (i. m.), Sulfonamide (oral).

Tabelle V: Verteilung nach tuberkulostatischer Therapie (n = 85)

Entnahmetag	Vagina		Stuhl		Mund		Urin		Haut		andere	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
1.—3.	—	2	3	—	1	—	—	—	—	1	—	—
4.—7.	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8.—15.	—	—	1	2	—	—	—	2	—	—	—	—
16.—30.	1	1	4	2	—	1	—	4	—	—	1	—
> 31	—	4	10	14	8	10	2	9	—	—	—	1

Die Abstriche, die innerhalb der ersten sieben Tage der Antibiotikatherapie abgenommen wurden, erwiesen sich fast doppelt so häufig Hefe-positiv, wie die nach mehr als einer Woche abgenommenen.

Bei den Tuberkulosekranken, die oft länger als ein Jahr unter spezifischer Behandlung standen, konnte kein verstärkter Hefebefall nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu den Stuhlproben sind die Mundabstriche von den mit Antibiotika und Tuberkulostatika Behandelten im gleichen Verhältnis Hefe-positiv und -negativ (1 : 1).

Tabelle VI: Verteilung der Abstriche von Patienten ohne Antibiotika- oder Tuberkulostatika-Therapie

Vagina		Stuhl		Mund		Urin		Haut		andere	
+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
18	117	32	11	36	83	2	3	5	4	—	—

30 % der Abstriche der in **Tabelle VI** aufgeführten Patienten ergaben eine Hefe-positive Kultur, wobei der sehr kleine Anteil (13 % pos.) der Vaginalabstriche auffällt.

Der Befall ähnelt also dem Wert der mit Tuberkulostatika Behandelten (40 % pos.). Stellt man das positive Ergebnis der Stuhlproben von mit Antibiotika behandelten Patienten (80 %) dem der Nichtbehandelten (65 %) gegenüber, so zeigt auch die zweite Gruppe mit 65 % einen hohen Befall.

Die Mundabstriche sind bei den mit Antibiotika Behandelten häufiger positiv (50 %) als bei den „Unbehandelten“ (30 %).

Tabelle VII: Vergleich der hospitalisierten Kinder mit den Kindergarten-Kindern

	Stuhl		Mund	
	+	—	+	—
Kindergarten	11	11	1	20
Hospital. Kinder	60	9	4	2

Während bei den „relativ gesunden“ Kindern des Kindergartens 50 % Hefe-positive Stuhlabstriche ermittelt wurden (**Tabelle VII**), lag der Vergleichswert bei den hospitalisierten Kindern, die meist mit Antibiotika behandelt waren, sogar noch höher, nämlich bei 87 %. Bei den Mundabstrichen liegt die Kontrollgruppe mit 31 % ähnlich wie die un- behandelten Erwachsenen.

Tabelle VIII: Vergleich der Mundhöhlenabstriche bei Indianern und Mestizen

	gesund		krank	
	+	—	+	—
Mestizen	18	55	20	16
Indianer	2	24	3	1

Bei den Mestizen fand sich, wie die **Tabelle VIII** zeigt, ein Hefebefall der Mundhöhle viermal häufiger als bei den Indianern.

Zusammenfassung

In der Zeit vom Februar bis Juli 1969 wurden im Hospital Amazónico in Pucallpa/Peru 507 Abstriche auf Hefen untersucht. Von 162 Stuhlproben enthielten 116 (= 72 %) Hefen. Von 148 Vaginalabstrichen waren 22 (= 15 %) hefepositiv, von 144 Mundabstrichen 42 (= 30 %). Bei antibiotischer Behandlung erhöhte sich die Befallsquote in den Stuhlproben, nicht dagegen in den Mundabstrichen. Bei tuberkulostatischer Behandlung war kein Einfluß auf den Hefebefall festzustellen.

Herrn Dr. TH. BINDER sei noch einmal gedankt für die freundliche Aufnahme und die Möglichkeit im Hospital wissenschaftlich und klinisch zu arbeiten.

Für die Stellung des Themas, die Überlassung des Arbeitsplatzes und die Unterstützung in allen mykologischen Fragen sind wir besonders Frau Hochschuldozentin Dr. LUISE KREMPL-LAMPRECHT zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. H. RIETH, Hamburg, der uns bei den Vorbereitungen der Reise aufgrund seines eigenen Aufenthaltes im Hospital Amazónico wertvolle Ratschläge geben konnte, danken wir herzlich.

Die Firma von Heyden, München, ermöglichte durch großzügige Übernahme der Reisekosten den Studienaufenthalt.

Anschrift der Verfasser: c/o Dr. rer. nat. LUISE KREMPL-LAMPRECHT, Hochschuldozentin für Mikrobiologie, Dermato. Klinik u. Poliklinik der TH, München 23, Biedersteinerstr. 21—29