

**Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Klinikums Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Prof. Dr. med. K. Friese

**Lactat bei Schwangeren
mit der Kontrollgruppe Schwangere mit Candidose**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Christian Dinse
aus
München
2008**

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: _____ Prof. Dr. med. E. R. Weissenbacher_____

Mitberichterstatter: _____ Priv. Doz. Dr. Gabriele Rieder_____

Mitbetreuung durch
den promovierten

Mitarbeiter: _____ Prof. Dr. med. habil. H. Spitzbart_____

Dekan: _____ Prof. Dr. med. D. Reinhardt_____

Tag der Promotion: _____ 05.05.2008_____

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1. Candida-Problem in der Schwangerschaft.....	6
1.2. Bisherige Candida-Nachweismethoden	9
1.2.1. Mikroskopie.....	9
1.2.2. Kultur.....	10
1.2.3. Biochemische Diagnostik.....	11
1.2.4. Serologische Methoden	11
1.2.5. Molekularbiologische Methoden	13
1.3. Physiologische Vaginalflora	15
1.4. Pathologische Vaginalflora.....	18
1.5. Vaginale Mykosen	22
1.6. Lactat als möglicher Indikator für die gestörte Vaginalflora.....	30
1.6.1. Lactat	30
1.6.2. Allgemeine Stellung des Lactats im Stoffwechsel	31
1.6.3. Lactat im Vaginalmilieu	33
1.7. Problemstellung	34
2. Material und Methode.....	35
2.1. Patientengut	35
2.2. Material	37
2.2.1. Chemikalien für die Untersuchungsmaterialentnahme.....	37
2.2.2. Chemikalien für die DNA-Extraktion	37
2.2.3. Chemikalien für die Candida-PCR.....	38
2.2.4. Chemikalien für die Gelelektrophorese	38
2.2.5. Chemikalien für die Lactatbestimmung	39
2.3. Methode	40
2.3.1. Entnahme des Untersuchungsmaterials.....	40
2.3.2. Vorbereitung der Reagenzien.....	40
2.3.3. Untersuchungsmethode der Candidabestimmung mittels PCR.....	40
2.3.3.1. DNA-Extraktion.....	41
2.3.3.2. Durchführung der PCR	42
2.3.3.3. Gelelektrophorese	44
2.3.4. Untersuchungsmethoden der Lactatbestimmung.....	46
2.3.5. Statistische Methoden	48
3. Ergebnisse	49
3.1. Ergebnisse zum Candidanachweis mittels PCR	49

3.2.	Vergleich der Parameter von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe.....	49
3.2.1.	Altersvergleich von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe	49
3.2.2.	Vergleich der SSW von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe	51
3.2.3.	Vergleich der Lactatwerte von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe.....	52
3.3.	Analyse der Abhängigkeit der Lactatkonzentration von der SSW.....	54
3.4.	Vergleich der Gruppen in Bezug auf die Lactatkonzentration unter Einbezug des Alters.....	57
3.5.	Detaillierte Analyse der Lactatkonzentration der Patientinnen ohne Pilzerkrankung .	58
3.6.	Untersuchung eines nicht-linearen Zusammenhangs zwischen Lactat-Spiegel und SSW bei Candidose.....	61
4.	Diskussion.....	62
5.	Zusammenfassung	68
6.	Abbildungsverzeichnis	69
7.	Literaturverzeichnis.....	70
8.	Anhang	95
	Danksagung.....	101
	Lebenslauf.....	102

Abkürzungsverzeichnis

In alphabetischer Reihenfolge:

Abb.	Abbildung
aOR	adjustiertes Oddsratio
Candida spp.	Candida-Spezies
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-linked-immuno-sorbent-assay
h	Stunde
IgG	Immunglobulin Typ G
KBE	Kolonienbildende Einheiten
l	Liter
LBG	Lactobacillus-Grad
M	Mol
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimol (mmol)
nm	Nanometer
PCR	Polymerasekettenreaktion
RHG	Reinheitsgrad
RPM	Umdrehungen pro Minute
Sec.	Sekunde
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
U/ μ l	Units pro Mikroliter
μ g	Mikrogramm
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer

1. Einleitung

1.1. Candida-Problem in der Schwangerschaft

Die Candidose ist ein nicht zu unterschätzendes Problem während der Schwangerschaft. Es konnten bisher keine Beweise dafür geführt werden, dass eine Kolonisation der Mutter mit *Candida* spp. während der Schwangerschaft für das Kind harmlos ist (Wiesinger, E.C. et al. 1996). Im Gegenteil, Nablanski et al. haben die höhere Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Verletzungen des Geburtskanals bei Frauen mit symptomatischer Candidose zur Zeit der Geburt beschrieben.

Diese Verletzungen sind auf lokale Entzündungsprozesse zurückzuführen (Nalbanski, B. et al. 2002). Invasive Pilzinfektionen, die zum größten Teil von *Candida* spp. verursacht sind, nehmen in den letzten 20 Jahren in der Population von Frühgeborenen stetig zu, was auf die Unreife des Immunsystems zurückzuführen ist. Die Inzidenz solcher Infektionen in der Gruppe der Neugeborenen unter 1500g wird auf 4% und in der Gruppe unter 1000g auf 10% geschätzt. Candidose ist in 2% der Fälle die Todesursache (McGuire, W. et al. 2004 / Mendling, W. et al. 2003). Die Fortschritte von peri- und neonatologischer Betreuung führten zu einer höheren Überlebenswahrscheinlichkeit Frühgeborener, was die Problematik der Candidosen während der Schwangerschaft verstärkt (Bocking, D. 1998).

Ein großes Problem stellt die Transmission von *Candida* spp. während der Geburt auf das Kind dar, die zur Infektion von Neugeborenen führt. Dies ist nicht nur für Frühgeborene von Bedeutung, sondern auch für reife Neugeborene, da *Candida* spp. während des ersten Lebensjahres obligat-pathogen ist. 90% aller Säuglinge, die innerhalb der ersten Lebenswoche infiziert waren, entwickeln eine Candidose mit dem Häufigkeitsgipfel von 10 % in der 3. Lebenswoche (Blaschke-Hellmessen, R. 1998 / Mendling, W. et al. 2003).

Bei einigen Neugeborenen kann eine kongenitale Candidose entstehen, die in lokaler und systemischer Form beschrieben ist (Pradeepkumar, V. K. et al. 1998).

Am häufigsten entwickelt sich eine Oralcandidose, gefolgt von einer Anogenitalcandidose. Selten kommt Pneumonie, Meningitis sowie durch *Candida* spp. verursachte Mikroabszesse in der Lunge und Leber vor. Sehr ernstzunehmende potenzielle Komplikationen sind Candidämie, Sepsis und systemische Candidose, da der Ausgang oft letal ist. Obwohl die meisten Episoden von septischen Syndromen mit einem Aufenthalt der Neugeborenen auf der Intensivstation verbunden und auf katheterinduzierte Infektionen zurückzuführen sind, kann intrapartale Kolonisation als Übertragungsweg nicht ausgeschlossen werden (Laskus, A. et al 1998 / Xu, J. et al 2004).

Makhoul et al. haben gezeigt, dass 30% aller Frühgeborenen in Israel eine Sepsis entwickeln. Die Mortalität im Falle der Candida-Sepsis in der Gruppe der sehr kleinen Frühgeborenen beträgt 27,6% und ist vergleichbar mit der Mortalität im Falle von gramnegativer Sepsis und wesentlich höher als bei grampositiver Sepsis (8,7%) (Makhoul, I. R. et al. 2002).

Die Frage, welcher Übertragungsweg von *Candida* spp. (vertikal während der Geburt oder nosokomial durch Pflegepersonal) mehr Bedeutung hat, untersuchten die Arbeitsgruppen von Willinger et al. und Waggoner et al. Sie haben die Kulturen von Wöchnerinnen und ihrer Kinder mittels DNA-Analyse verglichen und festgestellt, dass der überwiegende Teil von Mutter-Kind Paaren mit den gleichen Genotypen kolonisiert wurde, was bewies, dass diese Kolonisierung während der Geburt stattgefunden hatte (Waggoner-Fountain, L. A. et al. 1996 / Willinger, B. et al. 1994).

Es wird vermutet, dass 70-85% der Schwangeren, die mit *Candida* spp. kolonisiert sind, diesen Mikroorganismus während der Geburt auf das Neugeborene übertragen.

Bei durchschnittlicher Prävalenz der Kolonisation der Vagina mit *Candida* spp. von 25-30% erhalten 22-24% aller Kinder diesen Mikroorganismus sub partu. Aus diesem Grund wird empfohlen durch präpartale Prophylaxe mit lokalen Antimykotika bei der Mutter und postnataler Prophylaxe bei Neugeborenen, welche Risiken für eine Candidose aufweisen, diese zu senken (Blaschke-Hellmessen, R. 1998).

Nalbanski et al. wiesen darauf hin, dass Frühgeburten im Falle von Candidose nicht ausgeschlossen sind (Nalbanski, B. et al. 2002). Eine Kohortenstudie aus Finnland zeigte den Zusammenhang zwischen vaginalen Infektionen während der Schwangerschaft und einer späteren Entwicklung von Asthma bei Kindern (Xu, B. et al. 1999). Die Prävalenz von Asthma betrug 4,5% in der Gruppe mit Vaginitis, sowie 3,2% in der Gruppe ohne Vaginitis ($p=0,008$). 87,4% aller Frauen mit Vaginitis hatten eine akute Candidose.

Das adjustierte Oddsratio (aOR) für Asthma bei akuten Candidosen in der Schwangerschaft im Vergleich mit Müttern ohne Vaginitis betrug 1,33 (KI 1,01; 1,75).

Gurgan et al. haben in Experimenten *in vitro* mit mittels Sectio gewonnenen Fetalmembranen gezeigt, dass nur *C. albicans* in der Lage ist, die mütterliche Seite zu penetrieren und eine Degeneration von Fetalmembranen zu verursachen. *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida pseudotropicalis* und *Candida glabrata* hatten diese Fähigkeiten dagegen nicht (Gurgan, T. et al. 1994). Die Inzidenz einer Invasion in die amniotische Höhle beträgt nur 0,8-2% und führt nur selten zu einem klinisch relevanten Chorioamnionitis.

Friebe-Hoffman et. al. berichteten von einem Fall von intrauteriner *Candida albicans* Infektion mit Candidasepsis und Chorioamnionitis, was zum Tod des Fötus geführt hat (Friebe-Hoffmann, U. et al. 2000 / Xu, J. et al. 2004).

Eine Besiedlung ist auch für die Mutter nicht ohne Risiken. Daniels et al. demonstrierten, dass eine asymptomatische vaginale Kolonisation während der Schwangerschaft ein Risikofaktor für die spätere Entwicklung von Vulvovaginalcandidosen darstellt (Daniels, W. et al. 2001).

1.2. Bisherige Candida-Nachweismethoden

Bedingt durch die allgemeine Zunahme von Pilzinfektionen wächst einerseits der Bedarf nach leistungsfähigeren, nichttoxischen Antimykotika. Andererseits können gegenwärtige diagnostische Techniken, die Candida, einfach, genau, schnell und reproduzierbar nachweisen durch neue Techniken ergänzt werden, damit es als Routinediagnose einer noch breiteren Masse zur Verfügung gestellt werden kann.

Weitere Studien sind notwendig, um grundlegende Fragen zu der Epidemiologie von Pilzkrankheiten zu klären. Es wäre wünschenswert, daß bestimmte phänotypische oder genetische Marker gefunden werden, die mit dem Fortschreiten der Krankheit korrelieren und Ansatzpunkte für die Diagnostik und Therapie liefern, um dem Kliniker sowohl bei der Behandlung der schwersten Candidoseformen, als auch bei vaginaler Besiedlung, helfen zu können.

Für die Diagnostik der Candida-Infektionen stehen eine Reihe etablierter Methoden zur Verfügung, von denen nicht alle routinemäßig angewendet werden.

Die Identifizierung von *Candida* spp. ist notwendig, da die klinischen Manifestationen sowohl bei Schleimhautinfektion als auch bei invasiver Candidose nicht spezifisch für *Candida* spp. sind und auch von anderen Erregern verursacht sein können. Die Bestimmung der betreffenden *Candida*-Spezies hat therapeutische und prognostische Bedeutung. Die dazu benutzten Labormethoden wurden in den letzten zwei Jahrzehnten weiterentwickelt, um einen schnelleren Nachweis von invasiven Candidosen und die rasche Einleitung einer effektiven antimykotischen Therapie zu gewährleisten. Zu diesen Methoden gehören Mikroskopie, Kultur, Biochemotypie, Serologie, Spaltung der genomischen DNA mit Restriktionsenzymen und Amplifizierung von *Candida*-Genom-Sequenzen mittels PCR.

1.2.1. Mikroskopie

Die traditionellen älteren Methoden wie die native Lichtmikroskopie von ungefärbten Präparaten aus flüssigen Materialien (z.B. Urin) bzw. von Gram- oder Methyleneblaugefärbten Präparaten nach Vorbehandlung mit Kaliumhydroxid, bei der alle anderen Zellen zerstört werden, haben bisher ihre Wertigkeit noch nicht verloren. Diese einfachen, schnellen und kostengünstigen Verfahren für den Nachweis von *Candida*-Hefen versagen allerdings bei niedrigen Keimzahlen und sind nicht in der Lage, zwischen verschiedenen *Candida*-Arten zu differenzieren. Für eine Identifizierung von *Candida albicans*-Isolaten wird häufig der Keimschlauchtest angewendet. Keimschläuche entstehen bei kurzzeitiger Inkubation von *C. albicans* in humanem oder tierischem Serum durch kontinuierliche (ohne Einkerbungen) parallele Verlängerung der Zellwand und stellen eine Übergangsphase zwischen der Hefe-

und der Myzelform dar. Dieser Test kann sehr schnell durchgeführt werden. Probleme bereiten jedoch falschpositive Resultate bedingt durch die Fehlinterpretation von langgezogenen Blastokonidien oder auch bedingt durch verlängerte Inkubationszeiten. Falschnegative Ergebnisse können durch ein zu großes Inokulum zustande kommen. Das macht diesen Test, zusammen mit dem Zeitfaktor, der bei genauen mikroskopischen Untersuchungen von Bedeutung ist, in Laboratorien anfällig für Fehler. Es wurde außerdem berichtet, daß bis zu 5% der *C. albicans*-Isolate im Keimschlauchtest negativ sind (Quindos, G. et al. 1997 / Salkin, I. F. et al. 1987).

1.2.2. Kultur

Für die Anzucht von *Candida* stehen verschiedene feste und flüssige Nährmedien zur Verfügung. Bewährt haben sich für die primäre Anzucht die klassischen Medien Sabouraud 2-%- Glukose-Agar (mit oder ohne Antibiotika) und Kimmig-Agar. Auf ihnen wachsen alle Hefen der Gattung *Candida* als elfenbeinfarbene, meist glatte Kolonien ohne Luftmyzel. Bei einer Inkubation bei 25°C werden jedoch auch Veränderungen in der Koloniemorphologie beobachtet, die als „phenotypic switching“ bezeichnet werden (Soll, D. R. 1996 / Slutsky, B. et al. 1985). Differentialnährmedien, die eine Differenzierung unterschiedlicher *Candida*-Arten gestatten, werden von verschiedenen Herstellern angeboten.

Bei dem ALBICANS ID-Agar handelt es sich um einen kommerziell erhältlichen Nährboden, welcher ein chromogenes Substrat für das für *C. albicans*-spezifische Enzym Hexosaminidase enthält. Kolonien von *C. albicans* und der engverwandten Spezies *C. dubliniensis* können durch ihre blaue Färbung direkt identifiziert werden aber nur, wenn man diese als einheitliche Spezies ansieht. Auf CHROM-Agar-Platten können *C. albicans* / *C. dubliniensis*, *C. krusei* und *C. tropicalis* aufgrund ihrer Pigmentbildung voneinander unterschieden werden. Andere Spezies, wie z.B. *C. guilliermondii* und *C. famata*, werden nicht in ihrem Wachstum gehemmt, können aber nicht diskriminiert werden, da ihre Kolonien die gleiche Färbung aufweisen (Sullivan, D. et al. 1998 / Baumgartner et al. 1996 / San-Milán, R. et al. 1996 / Odds, F. C. et al. 1994).

Solche Differentialnährmedien eignen sich besonders für die Primäridentifizierung von *Candida*-Stämmen und die Erkennung von Mischkulturen. Die Bildung von Chlamydosporen bei Anzucht auf Reisagar-Platten gilt als spezifischer Nachweis für *C. albicans*. Andere *Candida*-Spezies, wie z.B. *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* bilden auf Reisagar Pseudohyphen, was ebenfalls für ihre Diagnostik genutzt wird. Durch ihre typische Chlamydosporenbildung auf dem Reisagar können bereits die Biotypen 1 und 2 (*C. stellatoidea*) von *C. albicans* sowie die *C. albicans* sehr eng verwandte Spezies *C. dubliniensis* von anderen *Candida*-Spezies unterschieden werden.

1.2.3. Biochemische Diagnostik

Candida-Isolate, bei denen keine Chlamydosporen nachweisbar sind, werden einer weiteren Differenzierung mit biochemischen Methoden unterzogen. Die biochemische Identifizierung von Candida-Spezies beruht auf unterschiedlicher Assimilation bzw. Fermentation von Kohlenhydratsubstraten. Die Kohlenhydratassimilationsteste API-20C und -32C sind die am häufigsten eingesetzten Identifizierungssysteme für Hefen. Es gibt zwar andere schnell durchführbare Systeme von verschiedenen Herstellern, die für den Nachweis der häufig isolierten Hefen auch geeignet sind, bei denen aber Probleme mit seltener vorkommenden Hefen auftreten (Odds, F. C. et al. 1997).

1.2.4. Serologische Methoden

Mit Hilfe des indirekten Hämagglutinations-Testes, der Immunfluoreszenz, des Enzymimmunoassays oder des Radioimmunoassays lassen sich Antikörper gegen *C. albicans* nachweisen. Die Bewertung der Ergebnisse ist allerdings schwierig, da auch Gesunde grenzwertige Antikörpertiter gegen Candida bilden können. Somit ist es nicht immer möglich, Besiedlung und Infektion voneinander zu unterscheiden. Bei immunkompetenten Patienten ist ein Titeranstieg am ehesten diagnostisch verwertbar. Aber gerade bei den immunsupprimierten Patienten, die besonders von einer invasiven Candidose bedroht sind, läßt sich in der Regel keine adäquate Immunantwort erwarten. In solchen Fällen, können serologische Tests für die Antigen-Bestimmung nützlich sein. Die neuesten Fortschritte in der Antigenreinigung, in der Produktion monoklonaler Antikörper, beim Epitop-Mapping, wie auch in DNA-Rekombinationstechniken und in der PCR-Methodologie haben neue Möglichkeiten für die Diagnostik invasiver Pilzinfektionen eröffnet. Potentielle Marker für eine invasive Candidose sind z.B. Zellwandantigene, wie die Mannane, Candida-Metabolite, insbesondere d-Arabinol und zytoplasmatische Candida-Antigene wie beispielsweise eine immundominante Candida-Enolase.

Große Hoffnungen haben Tests geweckt, mit deren Hilfe Pilz-Antigene oder Metabolite in Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden können. Aufgrund der niedrigen Konzentration zirkulierender Antigene bei vielen Infizierten, sind hoch sensitive Tests erforderlich. Die Zellwände von *Candida albicans*, der am besten untersuchten Spezies, enthalten die Polysaccharide Mannane und Glukan, Mannoproteine, Chitin und Proteine. Glukan, der wichtigste Bestandteil und die Mannoproteine stellen mindestens 80% und Chitin ca. 0,6% der Zellwand dar. Weder Glukan noch Chitin wirken als Antigen. Die Zellwandproteine sind wichtig für die Adhärenz an verschiedenen Oberflächen und sind differenzierter bei *C. albicans* als bei anderen Hefespezies und bei Pseudohyphen als bei Blastosporen (Kwon-Chung, K. J. et al. 1992).

Candida-Mannan, ein für die Adhäsion wichtiges Polysaccharid der Zellwand, ist ein potentiell Immunogen. Praktisch alle Humanseren enthalten IgG-Antikörper gegen dieses Antigen, bereits seit dem passiven Transfer von mütterlichen Antikörpern. Daher sind serologische Tests für den Nachweis von Anti-Mannan-Antikörpern, wie allgemein die meisten serologischen Testverfahren in der Mykologie, in ihrer Sensitivität und Spezifität sehr eingeschränkt (Sander, A. 1997). Außerdem muß bei der Bestimmung von Anti-Candida-Antikörpern in Abhängigkeit vom Alter ein normaler Durchseuchungstiter berücksichtigt werden und die relative Insensitivität und die Notwendigkeit an seriellen Bestimmungen haben die diagnostische Nützlichkeit dieses Tests erheblich limitiert (Greenfield, R. A. et al. 1983).

Der alleinige Einsatz der Serologie zur Diagnostik einer Candidose ist sicherlich nicht möglich. Bei Immunsupprimierten ist der Antikörpernachweis oft nicht zuverlässig. Hier sollte besonders auf den Nachweis von Candida-Antigen geachtet werden. Bei Patienten mit disseminierter Candidose wurden zirkulierende Mannan-Antigene in der Regel als Präfinalereignisse nachgewiesen, d.h. zu spät um von diagnostischem Wert zu sein. Außerdem die ELISA- und Latextests zur Bestimmung des Mannanantigens im Serum mangeln an Sensitivität was genauso wie bei der Antikörperbestimmung auch die diagnostische Nützlichkeit dieses Tests erheblich limitiert. Verschiedene oberflächliche Proteine von *Candida albicans* wurden charakterisiert. Unter diesen hebt man die „secreted acid Proteinase“, die „heat-shock proteins“ und die Enolase hervor, die immunogenische Eigenschaften besitzt. Gegen die Letztere wurden schon monoklonale Antikörper hergestellt und es wurde ein Testkit zum Nachweis von Serum-Enolase-Antigen bei Patienten mit invasiver Candidose eingeführt (Mason, A. B. et al. 1989), welcher allerdings später vom Markt genommen wurde. Der Cand-Tec®-Test (Ramco Laboratories, Houston) ist ein kommerziell verfügbarer Latex-Agglutinationstest zum Nachweis von hitzelabilen Glykoproteinen. In der Literatur findet man unterschiedliche Angaben, was die Empfindlichkeit betrifft; sie schwankt zwischen 50% und 70% wenn als Grenzwert die Serumverdünnung von 1:4 herangezogen wird. Erhöht man den Grenzwert auf 1:8, sinkt die Empfindlichkeit auf 30% oder 40%, die Spezifität wird dadurch allerdings verbessert. Falsch-positive Resultate werden durch den Rheumafaktor und auch eine Kolonisierung der Schleimhaut verursacht. So geht aus verschiedenen Studien hervor, dass 42% bis 44% der kolonisierten Patienten einen Titer von 1:4 oder mehr und 15% einen Titer von 1:8 hatten (Sanchez, M. L. et al. 1992).

Zusammenfassend kann man sagen, dass gerade in letzter Zeit die Ergebnisse verschiedener Studien den verhältnismäßig teuren Test in Frage stellen.

1.2.5. Molekularbiologische Methoden

Für den molekularbiologischen Nachweis der unterschiedlichen Infektionserreger werden vor allem spezifische DNA- oder RNA-Sonden, die an komplementäre Abschnitte in der zu untersuchenden DNA hybridisieren und durch geeignete Markierungen sichtbar gemacht werden können, und die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), bei der ausgewählte Sequenzen in der DNA amplifiziert und detektiert werden, genutzt. Eine für den Direktnachweis der Erreger im biologischen Material ausreichende Empfindlichkeit wird allerdings mit der PCR erreicht. Fluoreszenzmarkierte DNA- oder RNA-Sonden haben meist Bedeutung für den mikroskopischen Nachweis der Erreger in Gewebeproben nach in situ-Hybridisierung (Lischewski, A. et al. 1995).

Die PCR basiert auf wiederholten Zyklen von Denaturierung der Doppelstrang-DNA, der Anlagerung definierter Startermoleküle (Primer) und der Synthese neuer DNA-Stränge durch das Enzym Taq-Polymerase. Die so erfolgte Amplifikation der zu testenden Sequenz führt zu einer im Vergleich zu anderen Methoden deutlich höheren Sensitivität des Nachweises. Die bisher beschriebenen PCR-Verfahren für den Nachweis von *Candida* spp. nutzen unterschiedliche Zielsequenzen, wie beispielsweise Abschnitte der nukleären wie auch der mitochondrialen ribosomalen DNA, multi-copy-Genen, die für das Aktin oder das Hitzeschockprotein 90 kodieren, und das single-copy-Gen für das Enzym Cytochrom P-450-Lanosterol-a-Demethylase (Morace, G. et al. 1997 / Van Deventer, A. J. M. et al. 1995 / Holmes, A. R. et al. 1994 / Maiwald, M. et al. 1994 / Makimura, K. et al. 1994 / Crampin, A. C. et al. 1993 / Hopfer, R. L. et al. 1993 / Kann, V. L. 1993 / Miyakawa, Y. et al. 1993 / Niesters, H. G. M. et al. 1993 / Olsson, M. et al. 1993 / Burgener-Kairuz, P. et al. 1994 / Miyakawa, Y. et al. 1992 / Buchman, T. G. et al. 1990).

Nur wenige dieser Nachweissysteme sind jedoch in der Lage, andere *Candida*-Spezies als *C. albicans* nachzuweisen. *Candida*-PCR-Nachweise wurden bisher aus unterschiedlichen klinischen Materialien, wie Blut, Liquor, Pleura, Galle, Bronchiallavage, Trachealsekret, Sputum, Urin, Eiter, Peritonealflüssigkeit, Wundflüssigkeit, und Vaginalabstrich, erbracht.

Jeder PCR-Nachweis besteht aus drei wesentlichen Arbeitsschritten:

- a) der Probenaufbereitung (DNA-Extraktion),
- b) der Amplifizierung geeigneter Zielsequenzen und
- c) der Charakterisierung (Detektion) des amplifizierten Produkts.

Der Einsatz der PCR-Technik ist sinnvoll, insbesondere für den Nachweis von schwer bzw. nicht anzüchtbaren oder sehr langsam wachsenden Erregern, wie auch für den Nachweis von Erregern bei immunsupprimierten Patienten, bei denen konventionelle serologische Verfahren häufig versagen. Die bisher publizierten PCR-Methoden für den Direktnachweis von *Candida* spp. geben berechtigten Anlaß zu der Hoffnung, dass mit dem Nachweis einer geringen Anzahl von Erregern direkt in klinischen Materialien die Grenzen der bisher zur Verfügung stehenden kulturellen und serologischen Verfahren überwunden werden können. Vor einem Einsatz im mykologischen Routinelabor sind jedoch noch umfangreiche Optimierungen und Evaluierungen dieser Technologie erforderlich. Die zur Zeit erreichten Sensitivitäten sind meist noch nicht zufriedenstellend. Durch die Auswahl einer geeigneten Zielsequenz, durch Optimierung der PCR-Bedingungen sowie durch verbesserte Techniken zur DNA-Extraktion aus klinischen Proben und zur spezifischen Detektion des amplifizierten Produkts sollten Nachweisgrenzen von unter 100 KBE/ml (möglichst 1-10 KBE/ml) erreicht werden. Umfassende klinische Testungen der PCR-Nachweise, die die Fragen nach der tatsächlichen Sensitivität und Spezifität der PCR im Routineeinsatz beantworten könnten, stehen noch aus. Auch der Vergleich mit den bisher etablierten Nachweisverfahren (Antigenserologie) müsste noch erbracht werden. Die Bedeutung PCR-positiver und Kultur-negativer Ergebnisse, der Einfluß abgestorbener Erreger oder persistierender Erreger-DNA nach Chemotherapie usw. stehen ebenfalls noch aus. Bisher ist auch noch ungeklärt, ob mittels Quantifizierung der PCR-Ergebnisse zwischen einer Kolonisierung und einer invasiven Infektion unterschieden werden kann.

1.3. Physiologische Vaginalflora

Die Vagina ist neben der Oberhaut, der Mundschleimhaut und dem Dickdarmepithel die am meisten keimbesiedelte Körperregion. Die Vaginalflora asymptomatischer Frauen gestaltet sich als äußerst vielfältig (Spitzbart, H. 1965). Es handelt sich um ein Ökosystem, das durch vielerlei Faktoren beeinflusst werden kann, und in dem die Lactobazillen eine Kontrollfunktion zur Erhaltung und Stabilisierung des physiologischen Gleichgewichts übernehmen (Redondo-Lopez, V. et al. 1990 / Weissenbacher, E. R. 2001).

Meistens setzt sich die Scheidenflora aus zwei bis fünf verschiedenen aeroben und anaeroben Bakterienarten in einer Konzentration von 10^8 bis 10^{10} koloniebildenden Einheiten (KBE) / ml zusammen, wobei die fakultativ anaeroben bzw. mikroaerophilen Lactobazillen eindeutig dominieren.

Unter den obligat anaeroben Keimen der physiologischen Vaginalflora finden sich vor allem Peptokokken, Peptostreptokokken, Bacteroides bzw. Prevotella Spezies mit Ausnahme von *B. fragilis*, Eubakterien und Bifidobakterien (Gorbach, S. L. et al. 1973 / Redondo-Lopez, V. et al. 1990).

Anaerobe Bakterien waren bereits seit langem aus der Vagina isoliert worden, jedoch erst 1973 von Gorbach als ebenfalls zur normalen Vaginalflora gehörend postuliert.

Die ersten, aus der Vagina isolierten, von Rogosa und Sharpe genauer differenzierten Lactobazillus Spezies waren *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei*, *L. delbrueckii* und etwas weniger häufig *L. salivarius*.

Giorgi et al., welche die DNA-DNA-Homologie als neue Differenzierungsmethode bei ihren Untersuchungen zugrunde legten, fanden *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. fermentum* und *L. gasseri* als vorherrschende Lactobazillus Spezies (Garber, G. E. et al. 1989). 1972 beschrieb Brzin α -hämolytische Lactobazillen der Vagina, die entweder allein oder in Kombination mit anderen Laktobazillus Spezies auftraten (Brzin, B. 1972).

Lactobazillen, welche physiologisch im Vaginalmilieu vorkommen, können dieses durch verschiedene Mechanismen beeinflussen.

Viele Lactobazillus Spezies sind zur Wasserstoffperoxidproduktion fähig (Eschenbach, D. A. et al. 1989 / Klebanoff, S. J. et al. 1991 / Martius, J. et al. 1988).

Eschenbach et al. fanden bei 96% aller symptomfreien Frauen Wasserstoffperoxidproduzierende Lactobazillen, während diese bei Frauen mit unspezifischer Vaginose nur in 6% zu isolieren waren. Lactobazillen, die kein Wasserstoffperoxid zu bilden vermochten, konnten bei gesunden Frauen in 4% und bei Patientinnen mit unspezifischer Vaginose in 36% isoliert werden (Eschenbach, D. A. et al. 1989).

Wasserstoffperoxid ist eine chemische Substanz, die allein oder in Kombination mit Peroxidasen eine hemmende Wirkung auf Bakterien ausübt (Eschenbach, D. A. et al. 1989 /

Klebanoff, S. J. et al. 1991 / Mardh, P-A. et al. 1983 / Redondo-Lopez, V. et al. 1990). Durch die Fähigkeit der Wasserstoffperoxidproduktion vieler Lactobazillen besteht ein Schutzmechanismus gegen Infektionen. Dabei ist *Lactobacillus crispatus*, als eine der hauptsächlich in der vaginalen Normalflora vorkommenden H₂O₂-produzierenden Spezies, zu nennen (Antonio, M. A. D. et al. 2003)

Einige Lactobazillen sind für ihre Fähigkeit bekannt, antibiotische Substanzen, die keine Eigenhemmung hervorrufen, zu metabolisieren (Mardh, P-A. et al. 1983 / Redondo-Lopez, V. et al. 1990 / Martius, J. et al. 1988). Als Beispiel ist das von Spitzbart beschriebene Lactobacillin zu erwähnen, das sowohl bakteriostatische als auch bakteriozide Wirkung besitzt (Spitzbart, H. 1967).

Auch Silva et al. (1987) beschrieben eine vom Lactobazillusstamm GG produzierte antimikrobielle Substanz, die Ähnlichkeit mit einem Mikrozin aufwies. Der hemmende Einfluß dieses biologisch aktiven Stoffes konnte für *E. coli*, Staphylokokken, *Pseudomonas*, Salmonellen, *Bacteroides fragilis*, Clostridien und Bifidobakterien gezeigt werden. Eine wachstumshemmende Wirkung für Lactobazillen bestand dagegen nicht (Silva, M. et al. 1987).

Axelsson et al. (1988) beschrieben ebenfalls eine antimikrobielle Substanz namens Reuterin, welches von *L. reuteri* physiologisch gebildet wird und ein Zwischenprodukt der Glycerolfermentation darstellt (Axelsson, L. et al. 1988). Es konnte nachgewiesen werden, dass Reuterin einen hemmenden Einfluß auf *Pseudomonas aeruginosa*, ein häufiger Erreger von Infektionen, ausüben kann und damit effizienter als viele andere antimikrobielle Substanzen ist (Hsiang-Fa, L. et al. 2003).

Viele weitere Substanzen, welche von Lactobazillen produziert werden, sind bekannt. Ihre physiologische und pathophysiologische Bedeutung ist in vielen Fällen noch nicht vollständig geklärt.

Der mit Abstand größte und effektivste Kontrollmechanismus zur Erhaltung und Stabilisierung des physiologischen Gleichgewichts seitens der Lactobazillen, ist jedoch die Bildung eines sauren Milieus, welches das Wachstum von Bakterien hemmt.

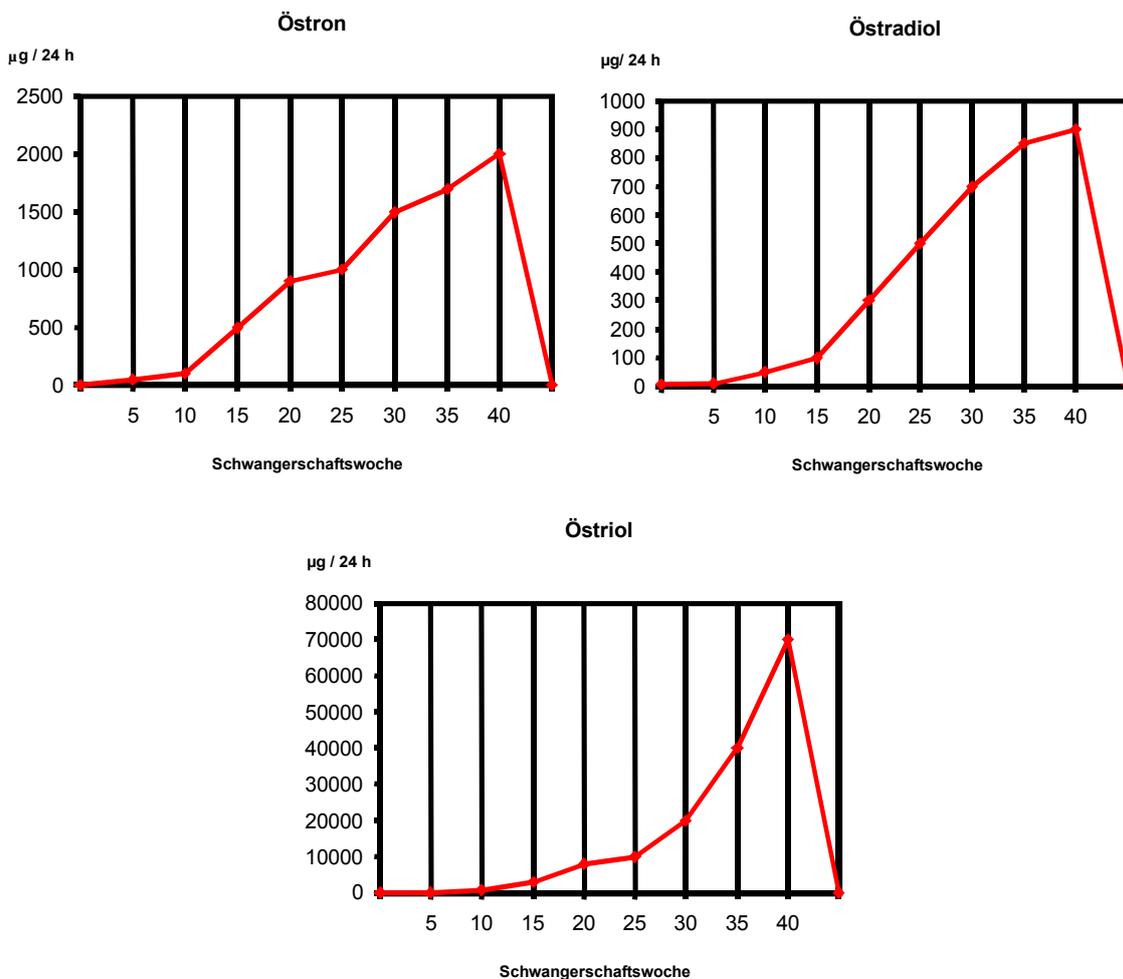
Betrachtet man die klinische Bedeutung von Lactobazillen, so ist wiederholt zu erwähnen, dass sie zur physiologischen Flora der Vaginal- und Mundschleimhaut gehören. Nur selten besteht Pathogenität. Beschrieben sind z. B. eine erhöhte Isolationsrate von *L. casei* aus kariösen Zähnen (Cox, S. M. et al. 1986 / London, J. 1976) und einige Fälle bakterieller Endokarditiden mit dem Krankheitserregern *L. casei* und *L. plantarum* (London, J. 1976).

Während der Schwangerschaft ist die Anzahl der Lactobazillen in der Vaginalflora unter dem vermehrten Östrogeneinfluss erhöht. Östriol, Östron und Östradiol sind die wichtigsten Vertreter der Östrogene. Die Konzentration dieser drei Hormone steigt im Laufe der

Schwangerschaft im Blutserum an (Labhart, A. 1974 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Larsen, B. et al. 1980).

Gleichzeitig wird eine verminderte Anzahl an anaeroben Keimen bei relativ konstanter aerober Flora, mit Ausnahme der zunehmenden Lactobazillenzahl, beschrieben. Dies wiederum bewirkt eine Stabilisierung des sauren Scheidenmilieus mit gleichzeitiger Schutzfunktion vor aufsteigenden Infektionen (Labhart, A. 1974 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Larsen, B. et al. 1980 / Xu, J. et al. 2004).

Abbildung 1: Sekretion von Östron, Östradiol und Östriol in der Schwangerschaft (Labhart, A. 1974)



1.4. Pathologische Vaginalflora

Eine pathologische Vaginalflora kann sich einerseits durch eine Infektion mit bestimmten Erregern ergeben oder andererseits, durch eine Störung des jeweiligen typischen physiologischen Scheidenmilieus (Martius, G. et al. 1994). Im ersteren Fall kommen eine Vielzahl von pathogenen Erreger in Frage. Hierzu zählen unter anderem: Streptokokken, Staphylokokken, andere Kokken, Enterobacteriaceae, obligate Anaerobier, Aktinomyceten, Trichomonas vaginalis, Human Papilloma Virus (HPV), Herpes simplex Virus (HSV), Chlamydien, Mykoplasmen und andere (Seliger et al. 1997).

Im Falle der Störung des Scheidenmilieus ist ein fließender Übergang gegeben, da die Scheidenflora ein biologisches Gleichgewicht darstellt, das individuell unterschiedlich sein kann. Die bakterielle Zusammensetzung des Scheidensekrets welches bei einer Patientin als gesund angesehen wird, kann bei einer anderen als krankhaft gelten (Weissenbacher, E.R 2001).

Eine Pathogenität besteht, wenn sich das Scheidenmilieu zu Lasten der Lactobazillen ändert und sich vermehrt Keime im Sekret nachweisen lassen, die bei einer „gesunden“ Flora nicht, oder nur im geringen Maß, anzutreffen sind (Weissenbacher, E.R 2001) .

Um eine einheitliche Einteilung der Pathogenität des Scheidenmilieus zu erlangen, etablierte K. Schröder die ersten Lactobazillus – Grade, die später verfeinert wurden: (Donders, G. 2004) (siehe Tab.1)

Tabelle 1: Einteilung der vaginalen Lactobazillen nach Pathogenität nach Schröder

Grad	Definition
1. Grad	„gesunde“ Mikroflora mit überlegenen Morphotypen variabler Größe
2. Grad	teilweiser Ersatz der Lactobazillen durch andere Bakterien
a.	weniger schwere Varietät
b.	schwerere Varietät
3. Grad	Lactobazillus – Morphotypen sind vollkommen ersetzt durch andere bakterielle Morphotypen

Zur groben quantitativen, aber auch qualitativen mikrobiellen Übersicht hat sich ebenfalls eine Einteilung des belebten oder unbelebten Scheideninhaltes in Reinheitsgrade (RHG) nach Richter und Weissenbacher bewährt (Weissenbacher, E. R. 2001) (siehe Tab.2).

Tabelle 2: Reinheitsgradeinteilung der Vaginalflora nach Richter und Weissenbacher

Reinheitsgrad	Definition
RHG 0	ausschließlich Epithelzellen, keine oder wenig Mikroorganismen, wie zum Beispiel nach Zytostase oder vaginaler Chemotherapie
RHG 1	Döderlein-Flora: zahlreiche Döderleinstäbchen, keine Bakterien
RHG 2	Mischflora: wenig Döderleinstäbchen, überwiegend Bakterien
RHG 3	„Reine“ Bakterienflora: keine Döderleinstäbchen, massenhaft Bakterien und Leukozyten

Abbildung 2: Lactobacillus-Grad I nach Schröder (Donders, G. 2004)

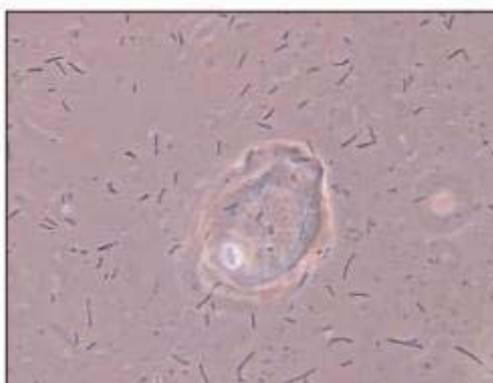


Abbildung 3: Lactobacillus-Grad II nach Schröder (Donders, G. 2004)

links: LBGIIa: Lactobazillen herrschen vor, sind aber vermischt mit anderen Bakterien

rechts: LBGIIb: Lactobazillen noch immer vorhanden, vermehrtes Auftreten anderer Bakterien

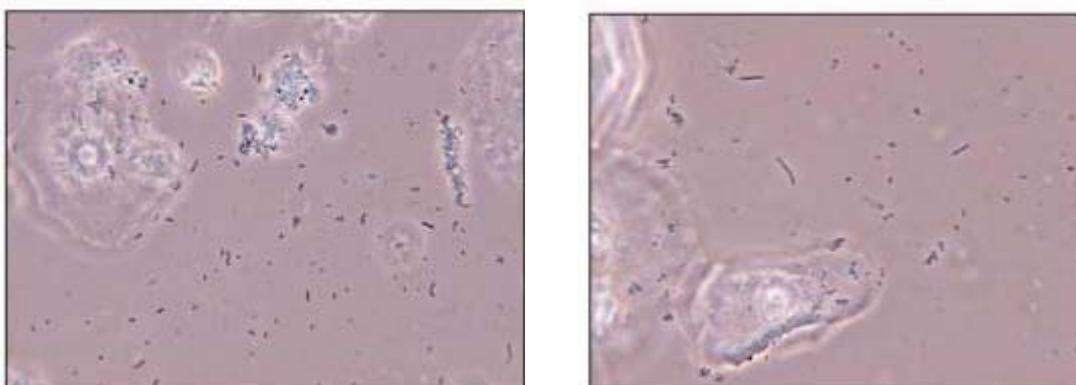
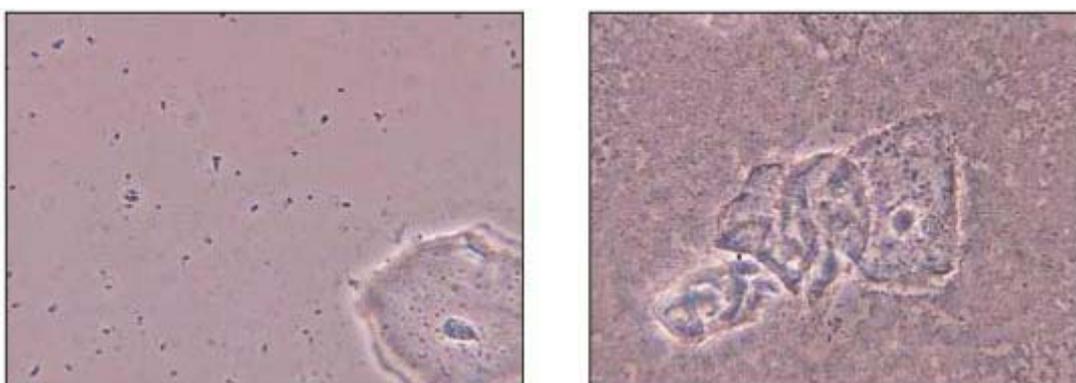


Abbildung 4: Lactobacillus-Grad III nach Schröder (Donders, G. 2004)

links: Kokken-Flora

rechts: Flora der bakterielle Vaginose

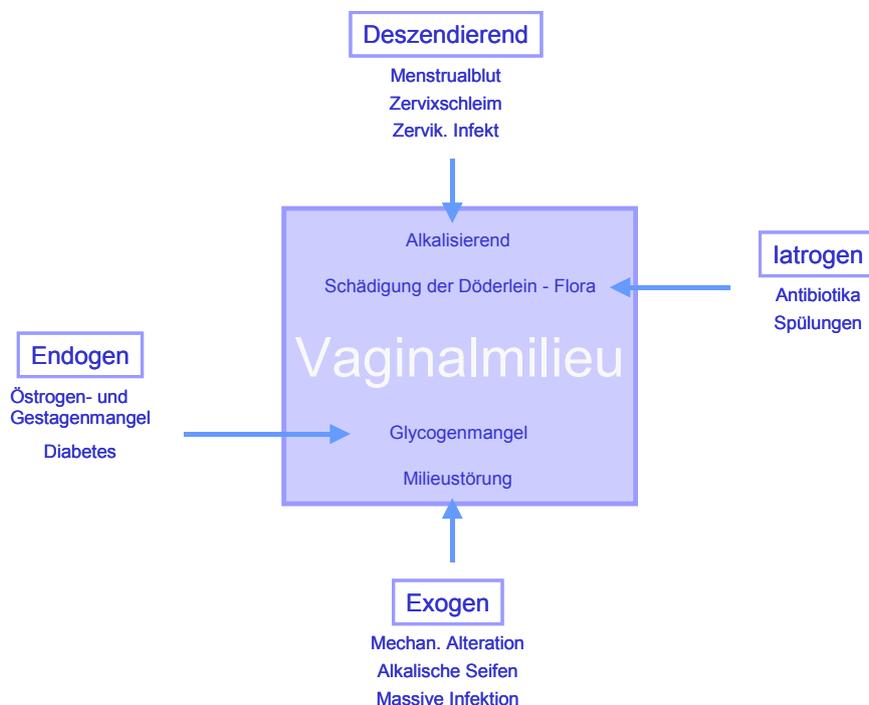


Die pH-Milieustörungen beziehen sich unter anderem auf eine pH-Werterhöhung, welche unspezifisch die Vermehrung der meisten Erreger fördert (Galask, R. P. 1988 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Klein, F. 1991 / Martius, G. et al. 1994 / Weissenbacher, E. R. 2001 / Tara, T. S. 2004). Diese kann exogen erfolgen zum Beispiel durch alkalische Seifen, deszendierend zum Beispiel durch das Menstrualblut oder dem Zervixschleim oder iatrogen durch Antibiotikaeinnahme oder Spülungen, welche die Lactobazillenzahl verringern und somit den pH-Wert erhöht.

Zusammenfassend kann man sagen, dass lediglich eine primäre pH-Milieustörung mit Infektion oder eine Infektion mit sekundärer pH-Milieustörung zur manifesten Erkrankung führt (Ison, C. A. 1984 / Schmidt-Matthiesen, H. 1992).

Ist es zu einer manifesten Entzündung der Vagina gekommen, so spricht man von einer Kolpitis. *C. albicans* ist weltweit die Hauptursache für Kolpitiden.

Abbildung 5: Einige Einflussfaktoren auf das Vaginalmilieu (Martius, G. et al. 1994)



Lediglich in den Vereinigten Staaten ist die bakterielle Vaginose geringfügig häufiger als die Candidose (Sobel, J. D. 1993), aber auch die Protozoen spielen in 10 bis 30% als Erreger einer Kolpitis eine Rolle, wobei darunter *Trichomonas vaginalis* am häufigsten isoliert wird. (Klein, F. 1991 / Weissenbacher E. R. 2001).

Die bakterielle Vaginose, auch Aminvaginose, Kolpitis, anaerobe Dysbiose oder „nonspecific Vaginitis“ genannt, ist, wie bereits erwähnt, eine der häufigsten bakteriell verursachten Infektion im unteren Genitaltrakt (Klein, F. 1991). Ihre Prävalenz wird in den USA auf 16 % bis 20 % geschätzt (Hillier, S.L. et al. 1995) und ist mit einem relativen Fehl- und Frühgeburtsrisiko von 1,4 - 6,9 bedeutsam (Hoyme, U.B. et al. 2004 / Martius, J. et al. 1988). In Europa ist die Häufigkeit geringer (Ancel, P.Y. 2004). Kriterien der Vaginose sind klinisches Aussehen des Fluors, pH - Wert > 5, positiver Amintest mit 10 % KOH, Schlüsselzellen (clue cells) im mikroskopischen Präparat, verminderte bzw. fehlende Lactobazillen und ein massiver Anstieg von anderen Keimen, wie *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides species*, *Mobiluncus species*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* u.a. (Petersen, E. E. 2003 / Weissenbacher E. R. 2001 / Garber, G. E. et al. 1989).

1.5. Vaginale Mykosen

Durch Pilze können die verschiedensten gynäkologischen / vaginalen Erkrankungen verursacht werden. Man unterscheidet zwischen Mykoallergien, Mykotoxikosen, Myzetismus und den Mykosen. Unter den Mykosen werden die durch Pilze bedingten Infektionskrankheiten zusammengefasst (Seeliger, H. P. R. et al. 1994 / Mendling, W. 1987).

Die Erreger der Mykosen werden nach Rieth nach dem D-H-S-System in Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilze unterschieden (Rieth, H. 1973).

Sowohl die Dermatophytosen, als auch die Schimmelpilze spielen in der Gynäkologie eine sehr untergeordnete Rolle (Meinhof, W. 1989 / Nolting, S. 1996 / Schnell, J. D. et al. 1972 / Göttlicher, R. et al. 1997 / Mendling, W. 1997).

Pilze können, je nachdem, ob sie sexuelle Sporen bilden, in perfekte und imperfekte Hefen unterteilt werden. In der Gynäkologie und Geburtshilfe sind es die imperfekten Hefepilze, die die bedeutendste Rolle spielen. Sie werden in der Familie der Cryptococcaceae zusammengefasst, in der es nach Kreger- van Rij 14 Gattungen gibt, zu denen auch die Gattung *Candida* gehört. Für die Vulvovaginalmykose sind im wesentlichen folgende Gattungen verantwortlich: *Candida*, *Cryptococcus neoformans* und *Malassezia furfur*. Am häufigsten wird eine Mykose des Vulvovaginalbereiches durch die Gattung *Candida* ausgelöst (Kreger-van Rij, N. J. W. 1984 / Odds, F. C. 1988 / Grillot, R. 1996 / Spinillo, A. et al. 1995 / Moyal Barraco, M. 1996). Das Genus *Candida* umfasst mehr als 200 Hefearten, von denen nur wenige für Menschen pathogen sind (Kreger-van Rij, N. J. W. 1984 / Braveny, I. et al. 2001 / Merlino, J. et al. 1998 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001 / Odds, F. C. 1987).

Abbildung 6: Erreger der Mykosen im Genitalbereich (Weissenbacher, E. R. et al. 2001)

Candida spp.	Häufigkeit (%)
<i>Candida albicans</i>	60-80
<i>Candida glabrata</i>	18
<i>Candida krusei</i>	6
<i>Candida kefyr</i>	3
<i>Candida tropicalis</i>	2
andere <i>Candida</i> spp	6

In der Gynäkologie und Geburtshilfe wird eine Hefepilzinfektion in 60-90% durch *Candida albicans*, in 5-18% durch *Candida glabrata* und in 1-6% durch *Candida krusei* oder andere *Candida*-Arten, wie *Candida parapsilosis*, *Candida kefyr* und *Candida tropicalis* verursacht (Sobel, J. D. 1994 / Kimmig, J. et al. 1961 / Mendling, W. 2002 / Mendling, W. et al. 1982 / Sonck, C. E. 1978 / Linhares, L. M. et al. 2001 / Maccato, M. L. et al. 1991 / Saporiti, A. M. et al. 2001 / Sobel, J. D. 2002 / Koenig, H. et al. 1989).

Die Hefe *Candida albicans* ist eindeutig der wichtigste Erreger von Humanmykosen, wobei die Krankheitsbilder von unkomplizierten Hautinfektionen, wie z.B. der Windeldermatitis, bis hin zu fatalen, systemischen Infektionen bei immungeschwächten Patienten reichen (Merlino, J. et al. 1998 / Shepherd, M. G. et al. 1985 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001 / Braveny, I. et al. 2001 / Pfaller, M. A. 1995 / Pfaller, M. A. 1989).

Bereits 1968 wurden die verschiedenen klinischen Erscheinungsformen der Vaginalcandidose von Grimmer aufgelistet (Grimmer, H. 1968) und 1991 auf Vorschlag von Spitzbart neu definiert (Weissenbacher, E. R. et al. 2001):

Bei den rezidivierenden Formen der Vaginalcandidose werden die persistierende, die rezidivierende und die chronisch rezidivierende Vaginalcandidose unterschieden (Weissenbacher, E. R. et al. 2001).

Abbildung 7: Klinische Bilder der Vaginalcandidose (Weissenbacher, E. R. et al. 2001)

Erscheinungsform	Symptome
1. Kolonisation	keine Beschwerden, im Nativpräparat Blastosporen nachweisbar
2. Latente Vaginalcandidose	Keine Beschwerden, anamnestisch Candidose bekannt, Blastosporen nachweisbar
3. Leichte Vaginalcandidose	Pruritus, evtl. Brennen, unspez. Fluor, klinisch keine Kolpitis, Blastosporen nachweisbar
4. Mittelschwere Vaginalcandidose	Pruritus, Brennen, evtl. unspez. Fluor, klinisch Entzündungszeichen, im Nativpräparat, Blastosporen und /oder Pseudomyzelien, Leukozytose
5. Schwere Vaginalcandidose	Pruritus, klinisch nekrotisierende Kolpitis, im Nativpräparat Entzündungszeichen
6. Persistierende Vaginalcandidose	Trotz antimykotischer Therapie treten immer wieder die typischen Zeichen einer Candidose, d.h. ein positives mikroskopisches Bild, eine positive Pilzkultur und klinische Beschwerden auf
7. Rezidivierende Vaginalcandidose	Nach einer beschwerdefreien Phase von etwa 4-12 Wochen nach antimykotischer Therapie kommt es erneut zum Auftreten typischer Beschwerden. Im mikroskopischen Bild und der Pilzkultur können Sprosszellen in grosser Menge nachgewiesen werden
8. Chronisch rezidivierende Vaginalcandidose	Bei dieser Form kommt es trotz topischer und systemischer Behandlung mit Antimykotika mindestens viermal im Jahr zum Rezidiv, wobei die typischen Beschwerden in unverminderter Heftigkeit auftreten. Im Nativpräparat und der Pilzkultur werden hohe Keimzahlen von fast ausschliesslich Candida albicans nachgewiesen

In Abhängigkeit von Umweltbedingungen können Hefen eine Reihe verschiedener Zustandsformen annehmen:

- Hefeform (Blastosporen)
- Hyphenform
- Chlamydosporen (große, runde, in der Mikroskopie stark lichtbrechende Sporen, die durch Zellwandverdickung endständig am Pseudomyzel entstehen)

Man findet sowohl Hefezellen mit typischen Sproßungen (Blastosporen) als auch fadenförmige Strukturen. Bei den letzteren handelt es sich um elongierte Sproßzellen (Blastokonidien), die aneinander gereiht bleiben und dadurch echten Hyphen ähneln. Ein solches Geflecht von Pseudohyphen bezeichnet man als Pseudomyzel. (Braveny, I. et al. 2001 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001)

In der Hefeform (Blastospore) ist *C. albicans* ein 3 bis 5 µm großer Organismus. Die Reproduktion erfolgt durch Knospung. Blastosporen sind nicht in der Lage, in epitheliale Gewebe vorzudringen und eine Kolpitis auszulösen (Fidel, P. et al. 1996).

Bei Veränderung der Umweltbedingungen (z. B. Temperaturanstieg, Verschiebungen des pH-Werts) kann *C. albicans* in ein Hyphenwachstum übergehen. Die Hyphenform wirkt sich begünstigend auf das Fortschreiten einer Infektion aus, da Hyphen die Tendenz haben, sich entlang vorgegebener Strukturen wie z. B. Zellgrenzen auszubreiten. Man geht davon aus, dass die Blastosporen die morphologische Zellform bei asymptomatischer Vaginalbesiedelung ist. Die Pseudohyphenformation scheint die gewebsinvasive Form zu sein (Braveny, I. et al. 2001 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001).

Es wird vermutet, dass die Eigenschaft von *C. albicans*, ihre Morphologie zwischen hyphaler und filamentöser Form zu wechseln, den Hauptfaktor darstellt, der die Virulenz bestimmt (Villar, C. C. et al. 2004).

Die Adhäsion, also das Anhaften an Schleimhautoberflächen, ist für das Überleben der Blastosporen entscheidend. Organismen der Gattung *Candida* sind in der Lage, an spezifische Rezeptoren oder an der Zelloberfläche vorhandenes Phospholipid oder Fibronectin von Vaginalepithelzellen zu binden. Im Vergleich zu *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* und *C. krusei* ist die Fähigkeit zur Adhäsion bei *C. albicans* am stärksten ausgeprägt und erklärt das gehäufte Vorkommen von *C. albicans* in klinischen Proben (King, R. D. et al. 1980 / Krivan, H. C. 1989 / Bohbot, J. M. 1996).

So können die individuellen Unterschiede der Frauen im Bezug auf die Empfänglichkeit für das Entstehen einer Vulvovaginalkandidose auch durch die verschiedenen Ausprägungen der Blastosporen-Adhärenz erklärt werden. Die Lactobazillenflora übt ebenfalls Einflussnahme auf die Adhäsion aus. Eine gesunde, dichte Lactobazillenflora schützt durch

das Bedecken der Bindungsstellen die Vaginalschleimhaut vor einer Pilzbesiedelung (Sobel, J. D. et al. 1981). Eine reduzierte Lactobazillenflora begünstigt also über ein mikrobiologische Ungleichgewicht eine Candidose.

Etwa drei Viertel aller Frauen haben mindestens einmal in ihrem Leben eine Episode einer Candidainfektion (Maccato, M. L. et al. 1991 / Mardh, P. A. et al. 2002 / Saporiti, A. M. et al. 2001 / Sobel, J. D. 1985), wobei die Hälfte aller Frauen bereits bis zur Mitte des zwanzigsten Lebensjahres einmal an einer vulvovaginalen Candidose erkrankt waren (Marrazzo, J. 2003).

Bei insgesamt 5-10% kommt es zu mehr als einer Episode (Barousse, M. M. et al. 2001 / Mardh, P. A. et al. 2002 / Metzner, G. et al. 1999 / Saporiti, A. M. et al. 2001).

Bei Patientinnen, die an vier oder mehr Candidainfektionen pro Jahr leiden, wird dann die Diagnose einer chronisch rezidivierenden Vulvovaginal-Candidose gestellt (Mardh, P. A. et al. 2002 / Metzner, G. et al. 1999 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001).

Als wesentliches Symptom einer Vulvovaginalcandidose wird häufig ein prämenstruell beginnender Juckreiz im Introitusbereich angegeben. Weitere häufige Symptome sind Brennen, Dysurie, Fluor, und Dyspareunie (Weissenbacher, E. R. 2001).

Speziell bei der akuten Form der vulvovaginalen Candidose, die eine Vielzahl von Frauen betrifft, lassen sich oft prädisponierende Faktoren als Ursache des Pilzwachstums feststellen. Hinzu kommen hormonelle Schwankungen, insbesondere hohe Östrogen-Spiegel, die sowohl den Krankheitsverlauf als auch die Symptomatik im negativen Sinne triggern (Barousse, M. M. et al. 2001 / Dennerstein, G. J. et al. 2001).

Die klinischen Symptome sind jedoch nicht einheitlich und variieren von Frau zu Frau. Frauen die an einer rezidivierenden Vulvovaginalcandidose erkrankt sind, können trotz Meidung auslösender Faktoren erneut erkranken. Eine Therapie kann zwar auf die momentane Symptomatik ansprechen, aber erneute Attacken nicht verhindern. So erkranken im Durchschnitt 50 % der Frauen etwa drei Monate nach erfolgreicher Behandlung wieder an einer Vulvovaginalcandidose (Fidel, P. et al. 1996).

Nach allgemeiner Auffassung gilt die Vulvovaginalcandidose heute als eine opportunistische Erkrankung. Das bedeutet, dass es neben der Kolonisation der Patientinnen, der Virulenz des Erregers, es auch einer lokalen oder allgemeinen Disposition bedarf, damit eine Infektion und ihre damit verbundenen Symptome entstehen können (Infektion = Kolonisation + Disposition).

Besonders deutlich wird dies bei immunsupprimierten Patientinnen, die zum Beispiel durch Leukosen, HIV-Infektion oder Chemotherapie eine starke Leukopenie aufweisen (Mendling, W. 2002 / Kimmig, J. et al. 1961 / Schnell, J. D. et al. 1972 / Mendling, W. et al. 1984 /

Mendling, W. 1991 / Boerlin, P. et al. 1995 / Van Belkum, A. et al. 1994 / Clemons, K. V. et al. 1991 / Reagan, D. R. et al. 1990 / Whelan, W. L. et al. 1990 / Scherer, S. et al. 1987 / Grillo, R. 1996 / Spinillo, A. et al. 1995 / Moyal Barraco, M. 1996).

Die vaginale Hefepilzkolonisation von immunkompetenten, nichtschwangeren Frauen im östrogenisierten Alter liegt in etwa bei 10% (Mendling, W. 2002). Die Vagina wird erst durch das östrogen- und gestagenbedingte Glucoseangebot im Epithel "attraktiv", weshalb sowohl Mädchen in der hormonalen Ruhephase als auch postmenopausale Frauen nur sehr selten eine Kolonisation aufweisen (Dewhurst, J. 1980 / Huber, A. 1977 / Mendling, W. 1995 / Schnell, J.D. et al. 1972).

Somit ist das Vorkommen der vaginalen Candidose altersabhängig. Episoden einer Pilzinfektion vor Beginn der Pubertät sind selten. Am häufigsten sind Frauen gegen Ende der zweiten sowie in der dritten und vierten Lebensdekade betroffen (Sobel, J.D. et al. 1998 / Weissenbacher, E. R. 2001).

Als wichtigste exogene Faktoren, welche die Entstehung einer Candidose und auch deren Persistenz fördern können, sind die Einnahme von Antibiotika und immunsuppressiven Substanzen zu nennen, wobei die Einnahme von Antibiotika sogar als Risikofaktor bezeichnet werden kann. Endokrinopathien, Diabetes mellitus und Schwangerschaft können ebenfalls für das Auftreten einer Candidose ursächlich sein. (Barousse, M. M. et al. 2001 / Dan, M. et al. 2003 / Linhares, L. M. et al. 2001 / Maccato, M. L. et al. 1991 / Saporiti, A. M. et al. 2001 / Wilton, L. et al. 2003 / Heizmann, W. et al. 1999 / Fidel, P. et al. 1996).

Diabetische Frauen zeigen gegenüber der Normalbevölkerung eine höhere Prävalenz für Candidosen. Stoffwechsellstörungen prädisponieren für Vulvovaginalkandidosen (Reed, B. 1992). Dieser Faktor kann selbstverständlich durch konsequente Einstellung des Blutzuckerspiegels minimiert werden. Typ-I-Diabetikerinnen sind etwa dreimal so häufig betroffen wie Typ-II-Diabetikerinnen. Eine schlechte Blutzuckereinstellung erhöht das Risiko für Kolonisation bzw. eine symptomatische Infektion (de Leon, E. et al. 2002).

Nach systemischer oder lokal in der Vagina applizierter Antibiotikatherapie kommt es häufig zu einer symptomatischen Candidose (Bluestein, D. et al. 1991). Antibiotika reduzieren die Zahl der Lactobazillen in der Scheide, so dass den Candida-Organismen die Adhäsion erleichtert wird und mehr Nahrung und Raum zur Verfügung steht.

In den letzten Jahren wurde eine steigende Inzidenz von Mykosen, die von anderen Candida-Spezies wie z.B. *C. tropicalis*, *C. lusitanae*, *C. glabrata* und *C. krusei* verursacht werden, beobachtet (Becker, K. 2000 / Cirak, M. Y. et al. 2003 / Shin, J. H. et al. 1997 / Hazen, K. C. 1995 / Spinillo, A. et al. 1994 / Kunzelmann, V. et al. 1996 / Nguyen, M. H. et al. 1996 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001).

Non-albicans-Arten sind oft weniger empfindlich gegenüber Antimykotika (Tietz, H.-J. et al. 1999 / Rex, H. J. et al. 1995). Dass diese zunehmend isoliert werden, hat seine Ursache wohl in der weitverbreiteten, inadäquaten Anwendung von Antimykotika (Selbstmedikation, Langzeitanwendungen). Da Non-albicans-Arten teilweise gegen die üblichen Antimykotika resistent sind, kommt es unter dem Selektionsdruck der Therapie zu einer Veränderung der Besiedelung, die dann therapeutische Probleme bereiten. *C. albicans* nimmt dabei in seiner Häufigkeit ab während die anderen *Candida*-Arten zunehmen. Eine Spezies-Differenzierung ist deshalb nicht nur aus epidemiologischer Sicht sondern auch für die Auswahl einer geeigneten Therapie von Bedeutung (Gräser, Y. et al. 1997 / Kunzelmann, V. et al. 1996 / Fidel, P. et al. 1999).

Die steigende Prävalenz von vaginalen Kolonisationen und Infektionen mit *Candida* spp. im Vergleich zwischen Schwangeren und nicht Schwangeren sowie im Laufe der Schwangerschaft wurde in vielen verschiedenen wissenschaftlichen Abhandlungen beschrieben (Glover, D. D. et al. 1998 / Mendling, W. et al. 2003 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001 / Xu, J. et al. 2004).

Eine verstärkte Östrogenausschüttung in der Schwangerschaft führt zur erhöhten Freisetzung von Glykogen mittels Zytolyse von Vaginalepithelzellen durch Lactobakterien. Glykogen liefert die Nahrungsquelle für *Candida* spp. und führt dadurch zur Vermehrung des Mikroorganismus. In diesem Prozess spielt der Östrogenisierungsstatus eine wichtige Rolle, da ein hoher Östrogengehalt in der Schwangerschaft zur Verdickung der Vaginalepithelschicht führt (Baltzer, J. et al. 1994 / Clemons, K. et al. 2004 / Fidel, P. L. et al. 2000 / Weissenbacher, E. R. 2001 / Xu, J. et al. 2004). Zusätzlich produziert *Candida albicans* ein östrogenbindendes Protein und intrazelluläre Rezeptoren für Östrogene und der physiologische Hyperöstrogenismus begünstigt die Vermehrung der *Candida* – Zellen. Diese Tatsachen erklären den kumulativen Effekt auf die Erhöhung der Virulenz von *Candida* spp (Clemons, K. et al. 2004 / Fidel, P. L. et al. 2000 / Xu, J. et al. 2004). Zudem kann durch Östrogene eine myceliale Wachstumsform induziert werden (White, S. et al. 1997).

Wegen des erhöhten Glucoseangebotes verdreifacht sich von Beginn der Schwangerschaft bis zum Entbindungstermin der vaginale Hefepilzbefall und liegt im dritten Trimenon bei unbehandelten Patientinnen etwa bei 30%. Postpartal kommt es wieder zu einem Absinken auf 5-8% der Frauen (Mendling, W. 1991 / Mendling, W. 1995 / Schnell, J.D. 1982 / Spitzbart, H. 1960 / Odds, F. C. 1988).

Die Schweregrade der Kolonisierung variieren innerhalb der Schwangerschaft sehr stark von ganz leichter bis massiver Besiedelung. Nur 60% Schwangere mit Kolonisierung mit *Candida* spp. entwickeln Symptome, wobei das klinische Bild sehr stark variiert und in vielen Fällen aufgrund der Symptomatik keine Behandlung notwendig ist. Es wurden auch starke Unterschiede in der Prävalenz einer Besiedelung mit *Candida* spp. zwischen verschiedenen

Ländern beobachtet (Aboyeji, A. P. et al. 2003 / Akerele, J. et al. 2002 / Balaka, B. et al. 2003 / Bayo, M. et al. 2002 / Blankhart, D. et al. 1999 / bu-Elteen, K. H. et al. 1997 / Claeys, P. et al. 2001 / Rodriguez, M. et al. 2001 / Fonck, K. et al. 2000 / Hidalgo, L. A. et al. 2004 / Ito Vilella, F. J. et al. 2000 / Kamara, P. et al. 2000 / Klufio, C. A. et al. 1995 / Kukner, S. et al. 1995 / Levett, P. N. et al. 1995 / Lisiak, M. et al. 2000 / Mayaud, P. et al. 1998 / Peterek, J. 2003 / Simoes, J. A. et al. 1998 / Thongkrajai, P. et al. 1998 / Weissenbacher, E. R. et al. 2001 / Yim, S. F. et al. 1995).

Die Unterschiede in der Prävalenz sind nicht nur auf unterschiedliche Risikogruppen und Untersuchungsmethoden zurückzuführen, sondern auf tatsächliche Variationen in verschiedenen Populationen. So wurden z.B. ethnische Variationen in den Besiedlungsraten beobachtet (Xu, J. et al. 2004).

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass Frauen, die hormonelle Kontrazeptiva einnehmen, vermehrt mit *Candida*-Arten kolonisiert sind. Diese Beobachtung gilt insbesondere bei Kontrazeptiva mit hohem Östrogenanteil (Denning, D. W. et al. 1995).

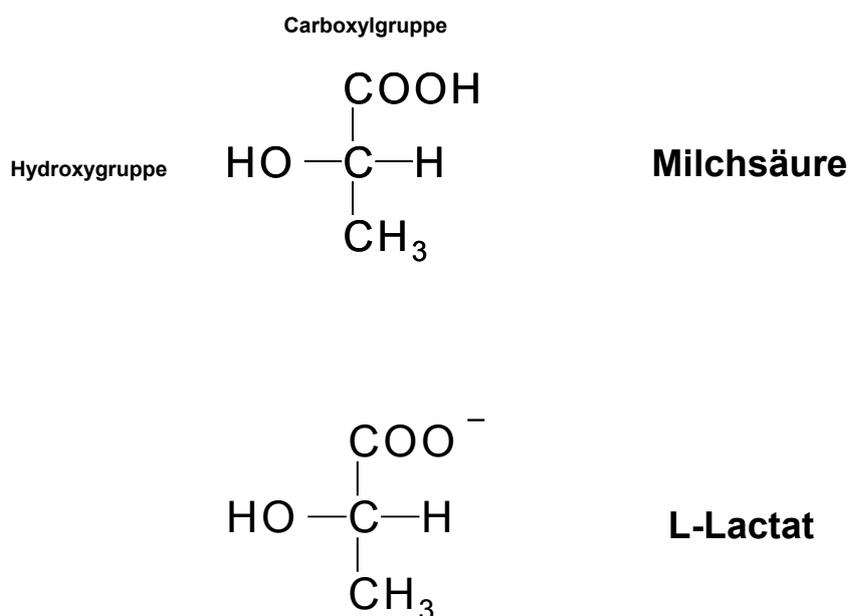
Der Mechanismus beruht also, mit der Schwangerschaft vergleichbar, ebenfalls auf dem Hyperöstrogenismus. Für hormonelle Kontrazeptiva mit geringem Östrogenanteil konnte kein signifikanter Zusammenhang mit dem Entstehen einer Vulvovaginalkandidose hergestellt werden (Foxman, B. 1990 / Geiger, A. M. et al. 1996).

1.6. Lactat als möglicher Indikator für die gestörte Vaginalflora

1.6.1. Lactat

Die chemische Bezeichnung für die Milchsäure ist 2-Hydroxypropionsäure (Löffler, G. 1999 / Zeek, A. et al. 1992). Sie wurde 1780 erstmalig von Scheele aus saurer Milch isoliert (Scheele, C. 1780). Chemisch besteht Milchsäure aus einer Carboxyl- (COOH) und einer Hydroxygruppe (-OH) mit einer C₃-Kohlenwasserstoffkettenlänge. Die niederen Monocarbonsäuren (bis C₄) sind bei Raumtemperatur Flüssigkeiten und in jedem Verhältnis mit Wasser mischbar. Die Carboxylgruppe ist hydrophil und bestimmt die Löslichkeit. Mit zunehmender Länge der Kohlenwasserstoffkette sinkt die Wasserlöslichkeit rapide ab (Löffler, G. 1999 / Zeek, A. et al. 1992). Der physiologische pH-Wert liegt im Bereich 6-8. Die pK_s-Werte der meisten Carbonsäuren sind kleiner als 5. Dies bedeutet, dass die Carbonsäuren in den Zellen als Anionen bzw. Salze vorliegen. Deshalb liegt die Milchsäure im menschlichen Organismus als Lactat vor, das Salz der Milchsäure. Es kommt in zwei verschiedenen stöchiometrischen Konfigurationen, der D- und L-Form vor. Der menschliche Körper bildet jedoch nur L-Lactat (Löffler, G. 1999 / Stryer, L. 1995 / Zeek, A. et al. 1992).

Abbildung 8: Strukturformel von Milchsäure und L-Lactat

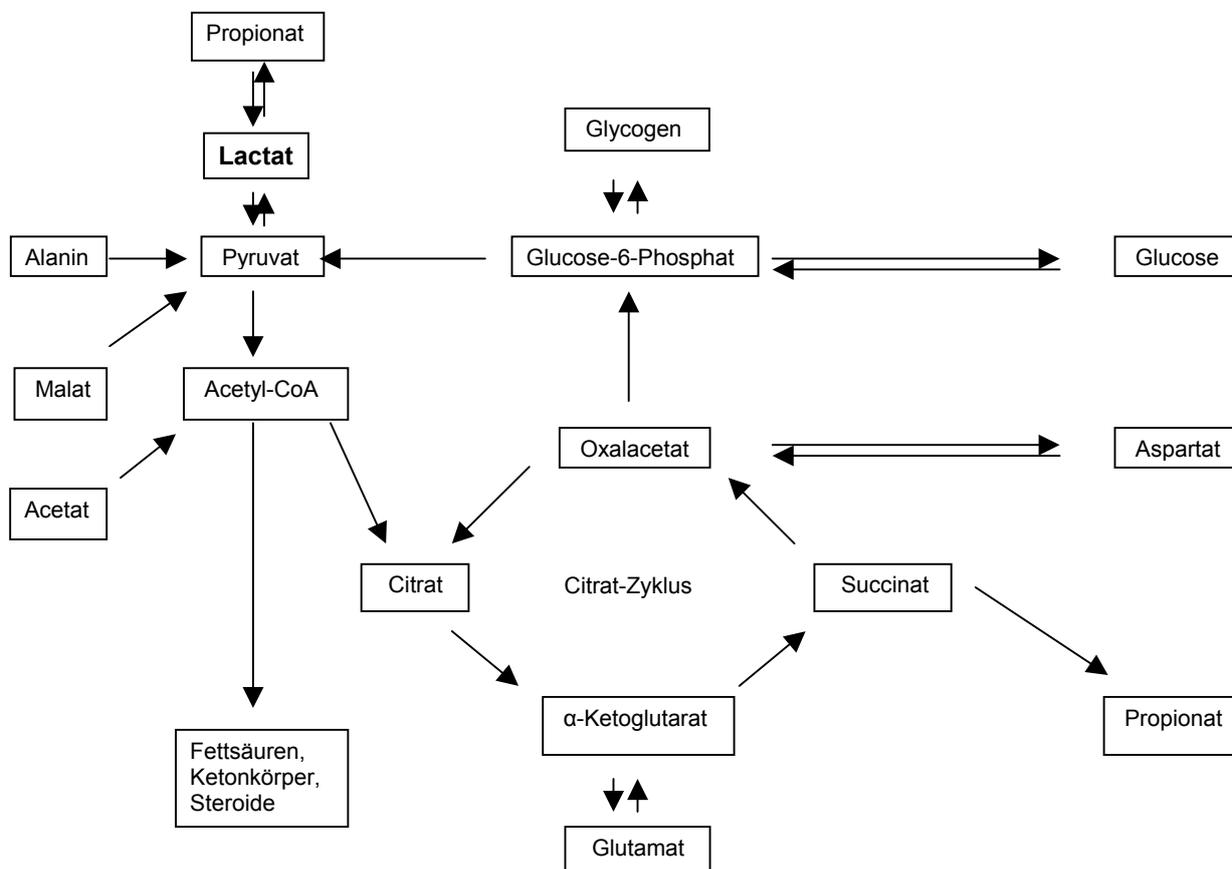


1.6.2. Allgemeine Stellung des Lactats im Stoffwechsel

Lactat ist ein Zwischenprodukt des Kohlenhydrat- und Aminosäurenstoffwechsels.

Die hauptsächlichen Substrate bei der Lactatbildung sind Glucose und Glycogen, jedoch steht Lactat auch mit einer Reihe weiterer Stoffwechselsubstanzen in Beziehung (Luft, D. 1981 / Rehbinder, D. 1971).

Abbildung 9: Stoffwechselwege bei der Bildung und Metabolisierung von Lactat



Als selbständiger Abbauweg stellt die Glycolyse, d.h. der anaerobe Abbau von Glucose-6-Phosphat über Pyruvat zu Lactat, nur bei wenigen Geweben (Retina, embrionales und neoplastisches Gewebe) die bevorzugte Quelle der Energiegewinnung dar. Der glycolytische Abbau von Glucose bis zum Pyruvat ist aber Voraussetzung für den nachfolgenden oxidativen Endabbau der Kohlenhydrate im Citratzyklus.

Bei Sauerstoffmangel, wenn die O₂-Versorgung zur Oxidation des Pyruvats nicht ausreicht, sind die meisten Zellen zur anaeroben Glykolyse mit Bildung von Lactat fähig (Luft, D. 1981 / Rehbinder, D. 1971).

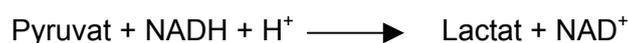
Pyruvat, das Endprodukt der Glykolyse, fungiert innerhalb der Kohlenhydratverwertung als Schlüssel zum Citratzyklus der Mitochondrien. Um Kohlenhydrate in den Citratzyklus einzuschleusen, muss Pyruvat durch den Multienzymkomplex Pyruvatdehydrogenase in die aktivierte Essigsäure (Acetyl-Co A) umgewandelt werden. Acetyl-Co A dient als Einstieg in den Citratzyklus (Löffler, G. 1999). Im Citratzyklus wird Acetyl-Co A zu CO₂ und H₂O oxidiert, wobei die reduzierten Coenzyme NADH + H⁺ und FADH₂ für die dem Citratzyklus angeschlossene Atmungskette bereitgestellt werden.

Die Energieausbeute aus Citratzyklus und Atmungskette beträgt mit Hilfe von Sauerstoff insgesamt 38 Mol Adenosintriphosphat (ATP) pro eingesetztem Mol Glukose (aerobe Glykolyse). ATP dient als Energiequelle für sämtliche Zellfunktionen.

Bei Sauerstoffmangel können jedoch nur jeweils 2 Mol ATP pro Mol Glukose gebildet werden, wobei als Endprodukt Pyruvat entsteht (anaerobe Glykolyse) (Knichwitz, G. 1996).

Der Hauptgrund für eine Akkumulation von Pyruvat ist ein durch Sauerstoffmangel verlangsamter Citratzyklus, wodurch das anfallende Pyruvat nicht weiter oxidiert werden kann (Vincent, J. 1995).

Pyruvat wird deshalb durch die Lactatdehydrogenase (LDH) mit NADH + H⁺ zu Lactat reduziert, welches aus der Zelle in die Blutbahn diffundiert:



Wobei das Gleichgewicht stark zugunsten des Lactat verschoben ist (Luft, D. 1981 / Kreutzig, T. 1995). Da bei dieser Reaktion NAD⁺ entsteht, ergibt sich die Möglichkeit, die Glykolysekette auch bei Sauerstoffmangel ablaufen zu lassen. Das NAD⁺ wird dabei für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase-Reaktion benötigt, ohne die der Zyklus stagnieren würde.

Eine erhöhte Lactatkonzentration im Blut ist folglich ein Zeichen dafür, dass Zellen mit Sauerstoff relativ unterversorgt sind (Kruse, J. A. et al. 1990).

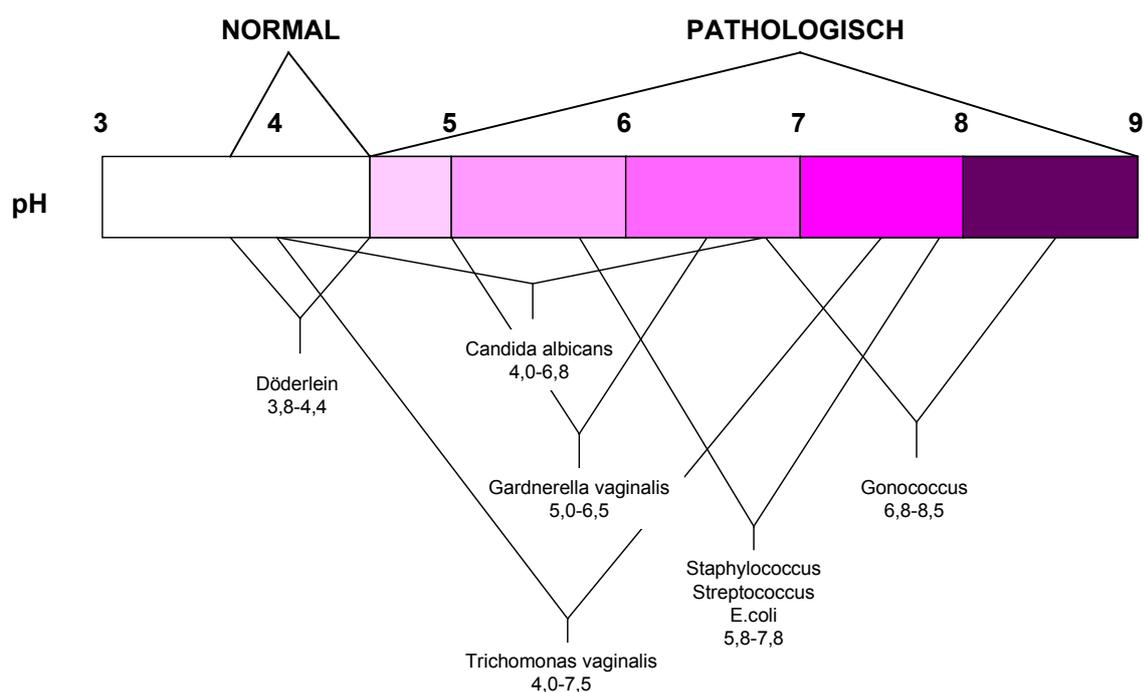
1.6.3. Lactat im Vaginalmilieu

Die Familie der Lactobacillaceae beinhaltet drei Gattungen (Genera), darunter die Gattung der Lactobazillus. Diese sind sporenlöse, grampositive Stäbchen, deren Dicke und Länge je nach Spezies beträchtlich variieren. Sie können in Ketten gelagert sein und sind in der Regel unbeweglich (Garrity, G. M. et al 2004 / Davis, B. D. et al. 1998 / Kandler, O. et al. 1986 / Rogosa, M. et al. 1960 / Seliger, et al 1997 / Sherris, J. C. 1990).

Neben den heterofermentativen Lactobazillen, die verschiedene Endprodukte wie Lactat, Azetat und CO₂ produzieren, kommen ebenfalls die homofermentativen Lactobazillen, welche hauptsächlich Milchsäure aus Glukose herstellen, im Vaginalmilieu vor (London, J. 1976). Diese Lactobazillen sind für den pH-induzierten Kontrollmechanismus zur Erhaltung und Stabilisierung des physiologischen Gleichgewichts verantwortlich.

Durch den von den Lactobazillen erhöhten vaginalen Lactatgehalt wird der pH-Wert im Vaginalmilieu gesenkt. Diese vaginale pH-Barriere verhindert, durch ihr saures Milieu, somit das Wachstum unerwünschter Erreger (Martius, J. et al. 1988 / Hay, P. E. 1998 / Hillier, S. L. et al. 1995). Xu et al. konnte nachweisen, dass während der Schwangerschaft eine Konzentrationserhöhung der Lactobazillen auf das 10-fache, zu einer Erhöhung des Lactatgehaltes im Vaginalsekrets führt (Xu, J. et al. 2004).

Abbildung 10: Mikrobielle Besiedlung der Vagina in Abhängigkeit des pH-Wertes (Klein,F. 1991)



1.7. Problemstellung

Es gibt bereits eine Vielzahl an diagnostischen Möglichkeiten, mit denen eine vaginale Candidose nachgewiesen werden kann. Jedoch ist man weiterhin bemüht, das technische Spektrum zu erweitern, um einfacherere Methoden zu finden, die zudem aussagekräftig, reproduzierbar, genau und kostengünstig sind. Weitere Eigenschaften, wie erhöhte Sensitivität und höhere Geschwindigkeit wären ebenfalls von großem Nutzen. Außerdem darf es durch die diagnostische Methode zu keiner Zeit, zu einer möglichen gesundheitlichen Gefährdung für Mutter und Kind kommen.

Ziel ist es, der Frage nachzugehen, ob ein Zusammenhang zwischen den vaginalen Lactatwerten und einer Candida-Besiedlung zu erkennen ist.

Als Voraussetzung hierfür, sind jedoch mögliche Abhängigkeiten der vaginalen Lactatwerte zu untersuchen, die als Störgrößen auftreten könnten.

Es stellt sich die Frage, ob der Lactatspiegel in Abhängigkeit vom Alter bei gesunden Schwangeren eine Änderung erfährt und ob eine Abhängigkeit gegenüber der Schwangerschaftswoche zu erkennen ist. Dies ist mit den Werten bei Patientinnen mit vaginaler Candidose zu vergleichen. Außerdem ist zu bewerten, wie sich der Lactatwert während der Schwangerschaft verändert.

Abschließend ist die Frage zu behandeln, in wie weit sich Lactat als Marker, bezüglich der oben genannten Eigenschaften, für die vaginale Candidose eignet.

Damit eine Aussage über den vaginalen Gesundheitszustand der werdenden Mutter getroffen werden kann, könnte sich das Lactat als Marker erweisen, um eine Störung im vaginalen pH-Milieu rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln, sodass mögliche gesundheitliche Schäden für Mutter und Kind abgewendet werden können.

2. Material und Methode

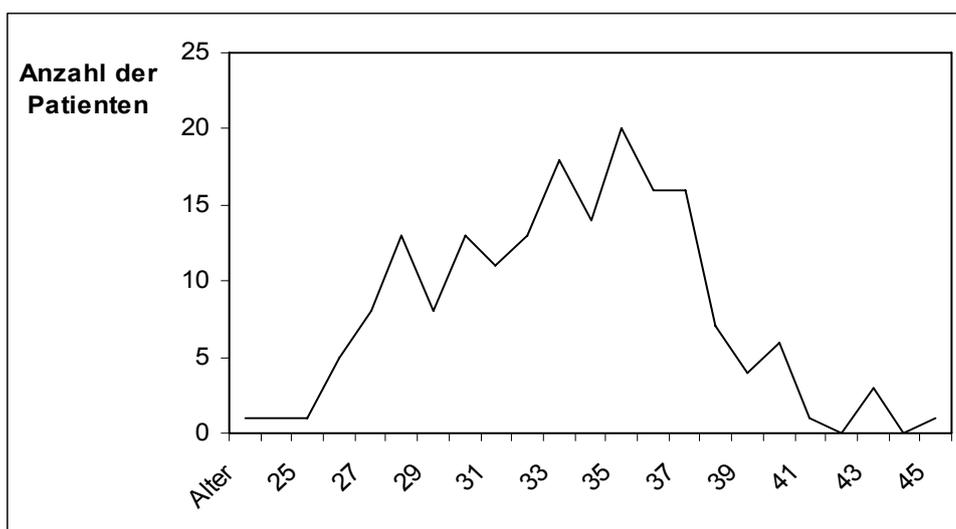
2.1. Patientengut

Bei insgesamt 180 schwangeren Patientinnen mit Einlingsschwangerschaften im Alter zwischen 24 und 46 Jahren, die sich wegen schwangerschaftsvorsorglicher Untersuchungen von März 2002 bis Oktober 2004 in der Ambulanz der Universitäts-Frauen-Klinik München-Großhadern einfanden, wurde von einem Gynäkologen Vaginalsekret zur Lactatbestimmung entnommen. Zudem wurden die Patientinnen bezüglich einer Candidose im vaginalbereich klinisch und mittels eines Kulturnachweises hin untersucht.

Die Patientinnen befanden sich in unterschiedlichen Schwangerschaftswochen und hatten in 24 der Fälle einen positiven Kulturnachweis. Darunter konnten zwei Candida-Typen festgestellt werden. Zum einen *Candida albicans* in 18 und *Candida glabrata* in 6 der Fällen. Keine der Patientinnen hatte subjektive Beschwerden.

Das durchschnittliche Alter des Patientengutes beträgt 34,20 Jahre.

Abbildung 11: Patientenalter des gesamten Patientengutes



Folgende Ausschlusskriterien galten zur Kontrolle für mögliche Confounder (Störfaktoren), die das Ergebnis verzerren könnten:

- Schwangere, die Medikamente für eine antibakterielle oder antimykotische Therapie 4 Wochen vor dem Untersuchungstermin eingenommen hatten
- Schwangere, die bekannte Risiken für Frühgeburten wie Zervixinsuffizienz, Mehrlingsschwangerschaften, Plazentationsstörungen, fetale Missbildungen oder Uteruspathologie, Hypertonie, Diabetes mellitus oder Niereninsuffizienz aufwiesen
- Frauen mit einer Frühgeburt < 24. SSW in Anamnese (wegen der Vermutung, dass solche Schwangerschaftskomplikationen auf nicht diagnostizierte Zervixinsuffizienz zurückzuführen sind)
- Behandlung mit Medikamenten, die das Immunsystem beeinflussen (Kortikosteroide, Interferone, Zytostatika)
- Anamnestisch bekannter Immundefekt
- Anamnestisch bekannte maligne Erkrankungen
- Klinische oder anamnestische Hinweise auf Infektionen in den vorausgegangenen 14 Tagen

Die Anamnese wurde bezüglich zurückliegender Schwangerschaften, bisherigem Schwangerschaftsverlauf, Allergien, somatischen Erkrankungen und Nikotinabusus erweitert. Bei positiven Ergebnissen bzw. bei Auffälligkeiten im Schwangerschaftsverlauf wurde die Patientin ebenfalls aus dem Patientengut ausgeschlossen. Das Untersuchungsdatum und das Datum des errechneten Geburtstermins bzw. des aufgrund der Ultraschalluntersuchung korrigierten Termins wurden erfasst, um das Gestationsalter berechnen zu können.

2.2. Material

2.2.1. Chemikalien für die Untersuchungsmaterialentnahme

0,9% NaCl – Lösung

2.2.2. Chemikalien für die DNA-Extraktion

Aqua ad injectabilia

Lytikaselösung: 0,5 M EDTA (Ethyldiamintetraacetat)
1,6 ml PBS (Phosphate-Borate-Saline-Puffer)
2 % -iges 2-Mercaptoethanol
1 mg Lytikase

Nonionic Detergent Puffer (NID Puffer): 50 mM KCL
10 mM Tris-HCL pH 8,3
2,5 mM MgCl₂
0,4 g Polyoxyethylenlaurylether

Lysis Puffer

Mineralöl

PBS (Phosphate-Borate-Saline-Puffer)

Proteinkinase K: 5,0 mg / ml

Aqua ad injectabilia

2.2.3. Chemikalien für die Candida-PCR

DNA-Polymerisationsmix:	25 mM MgCl ₂ 10 mM Desoxynukleosidtriphosphate (dNTP), (dATP, aTTP, dGTP und dCTP)
P450 ₁ : Basenpaare 1021 – 1043 :	5`- ATGACTGATCAAGAAATYGCTA -3`
P450 ₂ : Basenpaare 1370 – 1351 :	5`- TAACCTGGAGAAACYAAAAC- 3`
10X PCR-Puffer (pH 8,3):	500 mM KCl 100 mM Tris-HCl 15 mM MgCl ₂ 0,01 % (w/v) Gelantine
Taq-Polymerase:	5 U/ µl
dNTP-Mixes:	dATP, dCTP, dGTP und dTTP
Nsi I-Restriktionsendonuklease	

2.2.4. Chemikalien für die Gelelektrophorese

Agarose

25ml 10X TBE (Tris Boric EDTA):	1 M Tris-Borat (pH 8,3) 20 mM EDTA Deionisiertes Wasser
1X TE:	5 ml Tris-HCl 1 ml EDTA 494 ml Aqua ad injectabilia

DNA-Auftragspuffer

1% Ethidiumbromid – Färbelösung

DNA-Längenstandard (Hae III Digest)

2.2.5. Chemikalien für die Lactatbestimmung

Startreagenz:	Lactatoxidase > 450 U/l
	Peroxidase > 750 U/l
	4-Aminophenazon 0,23 mmol/l
Puffer:	4-Chlorphenol 1,8 mmol/l
	Natriumazid < 0,1 %
	PIPES-Puffer 20 mmol/l

2.3. Methode

2.3.1. Entnahme des Untersuchungsmaterials

Das Untersuchungsmaterial (Vaginalsekret) wurde in der gynäkologischen Ambulanz der Universitätsklinik München-Großhadern den Patientinnen von einem Gynäkologen entnommen.

Es wurden 2 ml 0,9 prozentige physiologische Kochsalzlösung (NaCl) mittels einer 3 ml Spritze in die Vagina eingebracht. Mit einem Watteträger wurde die eingebrachte Kochsalzlösung mit dem Vaginalsekret im hinteren Scheidengewölbe kurz durchgemengt, mit derselben Spritze wieder aufgenommen und noch am gleichen Tag wie folgt verarbeitet:

2.3.2. Vorbereitung der Reagenzien

Die Spritzen wurden kurz gevortext und das Material anschließend zu je 1ml auf zwei Eppendorfreaktionsgefäße verteilt, im folgenden nochmals kurz gevortext, anschließend bei 5000 rounds per minute (rpm) zwei Minuten lang zentrifugiert und schließlich der Überstand abpipettiert und in sterilen Eppendorfgläsern aliquotiert. Das Sediment diente dem Nachweis von Sproßpilzen mittels Polymerase chain reaktion (PCR) und wurde im Falle einer Verzögerung bei -75°C bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren. Der Überstand diente der Lactatbestimmung mittels Diaglobal-Lactat-Photometer und wurde im Falle einer Verzögerung ebenfalls bei -75°C bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

2.3.3. Untersuchungsmethode der Candidabestimmung mittels PCR

Obwohl bereits ein Candida-Kulturnachweis von den Patientinnen aus den Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchungen vorlag, wurde auf eine Candidabestimmung mittels PCR nicht verzichtet. Die Methode der PCR ermöglicht durch die Amplifikation von nur geringen Mengen an pilzspezifischer DNA einen raschen und sensitiven Nachweis von Candida und im Vergleich zu einem kulturellen Nachweis, einen schnelleren und vor allem sensitiveren Weg zur Diagnose (Morace, G. et al. 1997 / Van Deventer, A. J. M. et al. 1995 / Holmes, A. R. et al. 1994 / Maiwald, M. et al. 1994 / Makimura, K. et al. 1994 / Crampin, A. C. et al. 1993 / Hopfer, R. L. et al. 1993 / Kann, V. L. 1993 / Miyakawa, Y. et al. 1993 / Niesters, H. G. M. et al. 1993 / Olsson, M. et al. 1993 / Burgener-Kairuz, P. et al. 1994 / Miyakawa, Y. et al. 1992 / Buchman, T. G. et al. 1990). Zudem diente diese erneute Bestimmung der Verifizierung der bereits diagnostizierten Ergebnisse. Die Proben wurden demnach nach *Candida albicans* und *Candida glabrata* hin untersucht.

2.3.3.1. DNA-Extraktion

Zu dem Sediment des ersten Eppendorfgefäßes wurde Phosphate-Borate-Saline-Puffer (PBS) hinzugegeben, damit es zu einem späteren Zeitpunkt bearbeitet werden konnte, dem zweiten Gefäß steriles Wasser hinzugefügt und die Probe einmal gewaschen, indem sie gevortext, anschließend zentrifugiert und der Überstand abpipettiert wurde. Um die Zellwände der Pilzzellen aufzubrechen, erfolgte nach dem letzten Dekantieren eine Resuspension mit 100 µl Lytikase und eine Inkubation für eine Stunde bei 37°C im Wasserbad.

Analog zu dem bereits im obigen Absatz beschriebenen Waschvorgang, folgten zwei weitere Waschvorgänge mit PBS. Zu dem Sediment wurden 200 µl CT/NG Lysis in die Eppendorfgefäße hinzu gegeben und für zehn Minuten stehengelassen, um die in der Probe vorhandenen Zellen und deren Zellwände zu spalten. Im Gegensatz zur Lytikase, die spezifisch Candidazellwände spaltet, verursacht Lysis-Puffer eine unspezifische Spaltung von anderen, sich in der Probe befindlichen Zellen. Nach der Zentrifugation der Proben für zehn Minuten bei 11000 rpm und abpipettieren des Überstandes wurde nochmals PBS hinzu gegeben und für fünf Minuten bei 11000 rpm abermals zentrifugiert und anschließend abpipettiert. Der Abbau der zellulären Proteine und die Inaktivierung dadurch freigesetzter zellulärer Nukleasen erfolgte durch Behandlung mit 10 µl Proteinase K in 240 µl Nonionic Detergent (NID) Puffer. Dies ist notwendig um im Vaginalsekret vorkommende Proteine zu zerstören, durch welche die PCR erheblich gestört werden kann. Die Proben wurden im Anschluss zehn Sekunden bei 8000 rpm zentrifugiert und nach Zugabe von einem Tropfen Mineralöl im Thermocycler eine Stunde bei 56°C inkubiert. Anschließend erfolgte die Inaktivierung der Proteinase K durch Erhitzung der Proben im Thermocycler bei 95°C für zehn Minuten.

Die Herstellung einer positiven Kontrolle erfolgte wie oben beschrieben, wobei jeweils von einer *Candida albicans* – und einer *Candida glabrata* Kultur Pilzmaterial in ein jeweils mit 0,5ml PBS gefülltes Eppendorfgefäß gegeben wurde.

2.3.3.2. Durchführung der PCR

Für die PCR wurden die synthetischen Oligonukleotide P450₁ und P450₂ als Primer verwendet.

P450₁: Basenpaare 1021 – 1043 : 5`- ATGACTGATCAAGAAATYGCTA -3`

P450₂: Basenpaare 1370 – 1351 : 5`- TAACCTGGAGAAACYAAAAC- 3`

Beide, in Pulverform gelieferte Primer, wurden vor Durchführung der PCR in sterilem Wasser aufgelöst und anschließend mit ebenfalls sterilem Wasser in einem Verhältnis von 1:10 verdünnt.

Jede PCR wurde mit zwei positiven und einer negativen Kontrolle durchgeführt. Die beiden positiven Kontrollen wurden wie bereits beschrieben hergestellt. Diese bestanden aus Pilzkulturen von *Candida albicans* und *Candida glabrata*. Als negative Kontrolle wurde steriles Wasser benutzt. Der bei der Durchführung der PCR verwendete DNA-Polymerisationsmix diente zur Sicherstellung, dass die Mischung von Wasser, Primern, Puffer, NTP-Mix, Polymerase und MgCl₂ bei allen Reaktionspartnern konstant war, besonders in Hinblick auf die sehr kleinen zu pipettierenden Volumina von weniger als 10 µl.

Der bei der PCR verwendete Polymerisationsmix wurde nach folgendem Protokoll erstellt:

Reagenzien:	Volumina in µl
H ₂ O	6,75
NTP	8,0
10x-Puffer	5,0
MgCl ₂	3,0
Primer 1 1:10 Verdünnung	1,0
Primer 2 1:10 Verdünnung	1,0
Taq-Polymerase	0,25

Die Summe der Volumina ergab damit 25 µl. Diese wurde mit der Zahl der zu bearbeitenden Proben multipliziert, wobei die zwei Positiv-Kontrollen und eine Negativ-Kontrolle mit einberechnet werden mussten, so dass – als Fallbeispiel – bei sieben zu bearbeitenden

Proben inklusive der Kontrollen die jeweiligen zu pipettierenden Volumina mit dem Faktor zehn multipliziert werden konnten.

Zur Durchführung der PCR wurden nun jeweils 5 µl der zuvor extrahierten Patienten-DNA mit 20 µl Wasser in ein Eppendorfgefäß gegeben. Die negative Kontrolle bestand aus 25 µl sterilem Wasser. Somit befand sich in jedem Eppendorfgefäß ein Volumen von insgesamt 25 µl, welches nun mit 25 µl des Polymerisationsmixes vermennt wurde, wodurch sich ein Reaktionsansatz von 50 µl ergab. Dieser durchlief insgesamt 40 ablaufende Zyklen:

Zeit	Temperatur	PCR-Schritt
10 min.	94°C	Denaturierung
1 min.	49°C	Anlagerung der Primer
1,5 min.	72°C	Verlängerung der Primer

Am Ende des letzten Zyklus wurden die Proben auf 4°C heruntergekühlt.

Um durch enzymatisches Schneiden der Candida-DNA candidaspezifische Banden zu verifizieren, wurden die Proben mit dem Enzym Nsi I-Restriktionsendonuklease für zwölf Stunden bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Die verschiedenen Spezies konnten so aufgrund der Länge der Basenpaare bestimmt werden.

2.3.3.3. Gelelektrophorese

Der Beurteilung des PCR-Produkts diente die Agarose-Gelelektrophorese. Zur Herstellung eines 1,5% -igen Agarosegels wurden 25ml 1XTris Boric EDTA (TBE) mit 37,5g Agarose in einem Erlenmeyerkolben vermengt und anschließend in einer Mikrowelle für ca. eine Minute erhitzt, sodass sich das Agarosepulver vollständig auflösen konnte und die Lösung klar wurde. Nach kurzer Abkühlphase erfolgte zur Färbung der Probenbanden die Zugabe von 3 µl Ethidiumbromid (1%) zum Gel, um es anschließend in flüssigem Zustand in die Gelkammer zur Aushärtung zu gießen. Als nächster Schritt folgte das Einbringen des Gelkamms, um die Vertiefungen für Marker und Proben zu erzeugen. Nach zehn Minuten war das Gel soweit erhärtet, dass die Schablone wieder vorsichtig entfernt und das fertige Gel aus der Gelkammer in das Elektrophoresegerät eingelegt werden konnte und anschließend gerade soviel 1x TE-Puffer hinzugegeben wurde bis das Gel bedeckt war.

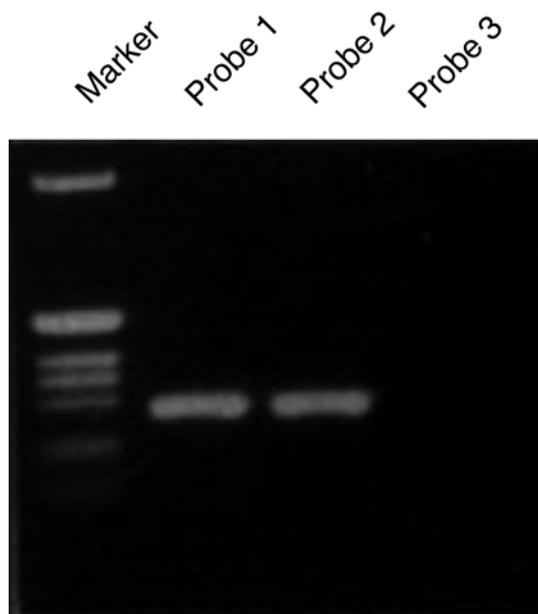
Zur Herstellung der Standardlösung wurden 9 µl 1XTE-Puffer, 2 µl DNA-Auftragspuffer und 0,2 µl DNA-Längenstandard vermengt, wovon 9 µl in die Vertiefung des Gels pipettiert wurden. 2 µl Bromphenolblausäure wurden mit jeweils 9 µl der Proben versehen und hiervon ebenfalls 9 µl in die dafür vorgesehene Vertiefung gegeben. Bei einer Stromstärke von 120 mA und einer Spannung von 300 V liefen die Banden zwischen 15 – 20 Minuten, bis die Hälfte der Laufstrecke zurückgelegt war. Der entstandene Ethidiumbromid-DNA-Komplex wurde schließlich unter UV-Licht bei 302 nm visualisiert.

Abbildung 12: Beispiel für die Analyse einer PCR mit Gelelektrophorese unter UV-Licht:

Marker: Komerzielle Mischung von verschieden langen DNA-Fragmenten

Probe 1 und 2: Positives PCR-Ergebnis mit entsprechend fluoreszierendem DNA-Fragment

Probe 3: Negative PCR, es wurde kein Fragment amplifiziert



2.3.4. Untersuchungsmethoden der Lactatbestimmung

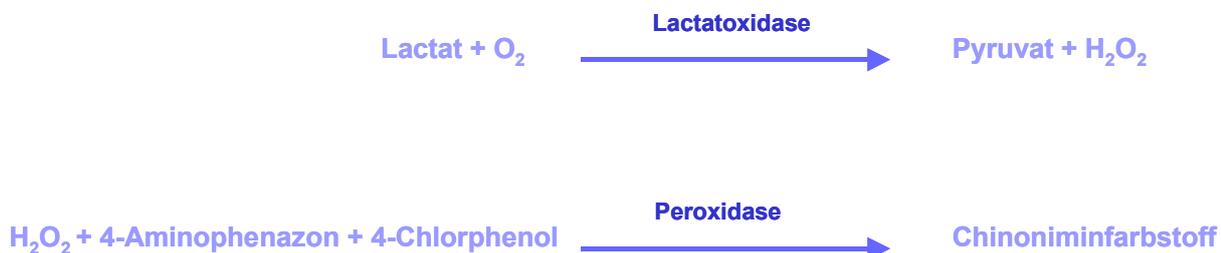
Mittels Pipette wurden 10 µl des Überstandes in eine vorpipettierte Einzeltestküvette der Firma Diaglobal gegeben, die den Puffer beinhaltet. Der Puffer dieser Küvette setzt sich zusammen aus 4-Chlorphenol 1,8 mmol/l, PIPES-Puffer 20mmol/l und Natriumazid < 1%.

Die Küvette wurde dann in das Diaglobal-Lactat-Photometer eingesetzt und die Extinktion $E(0)$ gemessen. Anschließend wurde die hellgrüne Kappe mit dem Startreagenz auf die Küvette aufgeschraubt. Durch mehrmaliges Kippen der Küvette löste sich das Startreagenz, bestehend aus Lactatoxidase >450 U/l, Peroxidase >750U/l und 4-Aminophenazon 0,23 mmol/l, aus der Kappe. Die Küvette wurde wieder in das Photometer eingesetzt und nach Ablauf der Reaktion das Ergebnis gemessen.

Bei der Messreaktion wird das vorhandene Lactat der Probe und Sauerstoff durch die Lactatoxidase zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid umgewandelt. Das so entstandene Wasserstoffperoxid, das 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol reagiert durch die Peroxidase zu Chinoniminfarbstoff. Dieser Farbstoff wird anteilig dem zuvor vorhandenem Lactat gebildet und kann schließlich mit dem Photometer gemessen werden. (Abb.16)

Abbildung 13: Diaglobal-Lactat-Photometer mit Einzeltestküvetten



Abbildung 14: Messreaktion für die Lactatbestimmung (Schlegel, R. 1994)

Das Messgerät, Diaglobal-Lactat-Photometer, zeigt das Messergebnis automatisch im Display an. Es misst den durch die Reaktion entstandenen Chinoniminfarbstoff photometrisch bei einer Messwellenlänge von 520 nm. Die Messtemperatur muss dabei zwischen +5°C und +40°C betragen, um ein genaues Ergebnis zu erhalten. Der Messbereich des Gerätes umfasst 0,2 – 30 mmol/l. Bei Messergebnissen über 30 mmol/l muss die pipettierte Menge der Probe halbiert werden. Statt 10 µl werden dann nur 5 µl der Probe in die Einzeltestküvette pipettiert und das Messergebnis dann mit dem Faktor 2 multipliziert. Im Falle von Werten unter 0,2 mmol/l muss die pipettierte Menge der Probe verdoppelt werden. Es werden dann 20 µl statt der üblichen 10 µl des Überstandes in die Einzeltestküvette pipittiert. Das Messergebnis wird dann dementsprechend mit dem Faktor 2 dividiert, um den richtigen Wert zu erhalten. So lassen sich exakte Werte auch außerhalb des Messbereiches erfassen.

Jede Messung wurde wiederholt um einen messbedingten Fehler auszuschließen. Bei einer Abweichung der gemessenen Werte von mehr als 20% wurden diese erneut gemessen.

Abbildung 15: Diaglobal-Lactat-Photometer

2.3.5. Statistische Methoden

Die Daten wurden in Excel-Datenblätter zusammengestellt. Es wurde geprüft, ob die Anzahl der Datensätze in der in SYSTAT importierten Datei mit denen der Excel-Datei übereinstimmt.

Es wurden metrische Daten mit dem t-Test getestet, da die Fallzahl der Kontrollgruppe grenzwertig ist, wurde bei der Schwangerschaftswoche zusätzlich ein verteilungsunabhängiger Test (Mann-Whitney-U-Test, siehe Wilcoxon Statistic des Kruskal-Wallis-Tests) gerechnet. Der t-Test liefert arithmetisches Mittel (Mean) und Standardabweichung (SD) sowie den Gruppenunterschied mit dem 95%-Konfidenzintervall.

Die Abbildungen stellen die Werte aller Patientinnen als Häufigkeitsverteilung dar, nach links die Kranken und nach rechts die Gesunden. Die theoretische Normalverteilungskurve ist darüber gelegt, und seitlich davon sind Boxplots eingezeichnet, wo die Boxen die Interquartalsdistanzen (= sie enthalten 75% der Wertemenge), und der Median als Mittelstrich eingetragen ist. Die „Whiskers“, d.h. die Linen nach oben und unten, sowie Sternchen geben den Bereich der Extremwerte an.

Außerdem wurden ANCOVA und Regressionsanalysen durchgeführt. Die Modellspezifikationen der ANCOVA ergaben sich datengetrieben (Einschluss des Interaktionsterms), die der Regressionsanalysen ergaben sich direkt aus der Fragestellung. Es wurden lineare Regressionsmodelle mit einem und zwei Faktoren gerechnet und die lineare sowie Lowess-Smoother (Regressionskurven) eingesetzt.

Alle Tests sind zweiseitig, als kritisches Signifikanzniveau wird 5% als erste Orientierung angenommen, wobei die Fallzahlen der Gruppen zu berücksichtigen sind. Bei kleineren Fallzahlen können auch höhere p-Werte schon auf Unterschiede hinweisen.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse zum Candidanachweis mittels PCR

Aufgrund der PCR-Ergebnisse wurden bei 24 der 180 Patientinnen eine Candida-Besiedlung im Scheidenmilieu nachgewiesen, wovon bei 18 Patientinnen der Erreger *Candida albicans* und bei 6 Patientinnen der Erreger *Candida glabrata* diagnostiziert wurde. Diese Ergebnisse deckten sich mit denen, die im voraus, durch Kulturnachweis erbracht wurden.

Daraufhin wurden 156 Patientinnen, die keinen Candidanachweis im vaginalen Bereich vorweisen konnten, in die Untersuchungsgruppe aufgenommen.

Die 24 Patientinnen, die einen positiven Candidanachweis hatten, bilden die Kontrollgruppe.

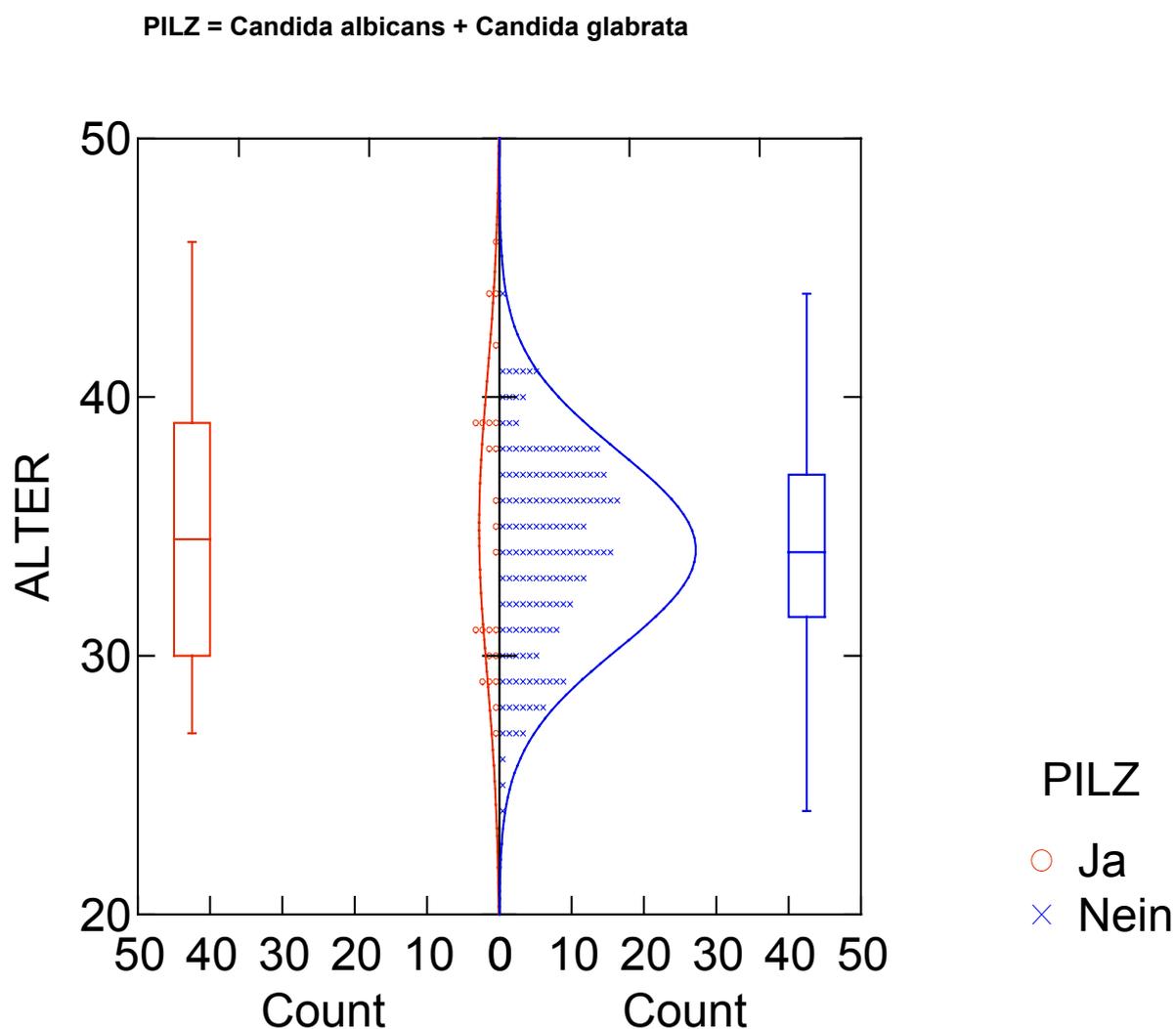
3.2. Vergleich der Parameter von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe

3.2.1. Altersvergleich von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe

Der Altersvergleich der an Candida erkrankten und der nicht erkrankten Patientinnen ergibt signifikant keinen Hinweis auf einen Gruppenunterschied in t-Test ($p=0.340$).

Die 24 Patientinnen, die an Candida erkrankt waren, wiesen einen Altersmittelwert von 34,958 Jahren auf (Standardabweichung: 5,714). Die nicht an Candida erkrankten 156 Patientinnen wiesen einen Altersmittelwert von 34,096 Jahren auf (Standardabweichung: 3,816).

Abbildung 16: Altersvergleich von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe



Untersuchungsgruppe:

Minimum: 24
 Maximum: 44
 Median: 34
 Mean: 34,096
 Standard Dev: 3,816

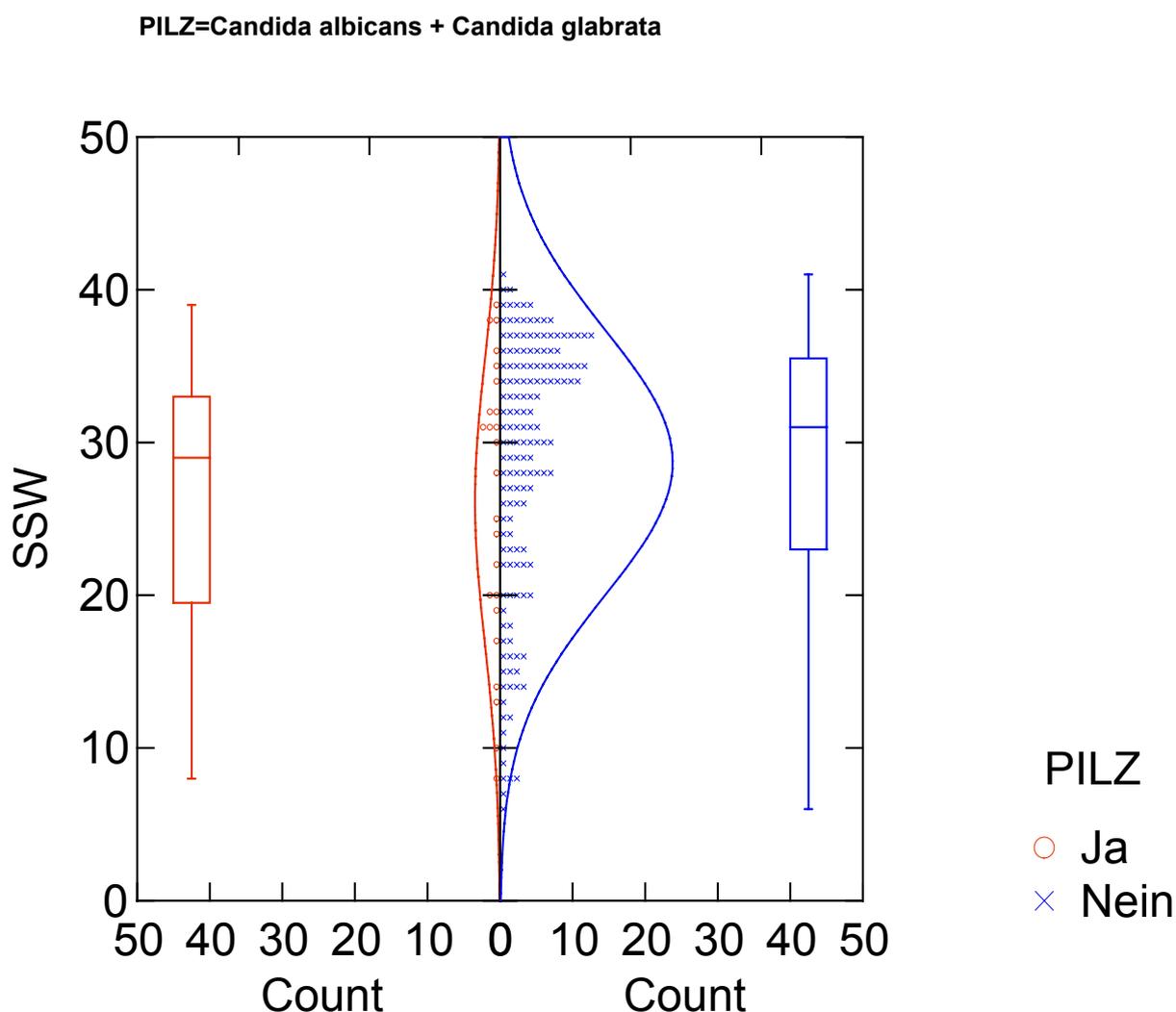
Kontrollgruppe:

27
 46
 34,5
 34,958
 5,714

3.2.2. Vergleich der SSW von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe

Die Verteilung der Schwangerschaftswoche (SSW) ist leicht linksschief in beiden Gruppen mit einer Häufung bei SSW 30, d.h. wegen der limitierten Dauer der Schwangerschaft kann die Verteilung nicht symmetrisch sein. Die an Candida erkrankte Kontrollgruppe hat eine Tendenz zu etwas kürzeren SSW ($p=0.186$ beim Student t-Test), was durch die Wilcoxon-Statistik von $p=0.190$ bestätigt wird. Die Kontrollgruppe hatte einen Schwangerschaftswochenmittelwert von 26,125 Wochen (Standardabweichung: 9,289), die Untersuchungsgruppe einen Schwangerschaftswochenmittelwert von 28,686 Wochen (Standardabweichung: 8,720).

Abbildung 17: Vergleich der SSW von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe



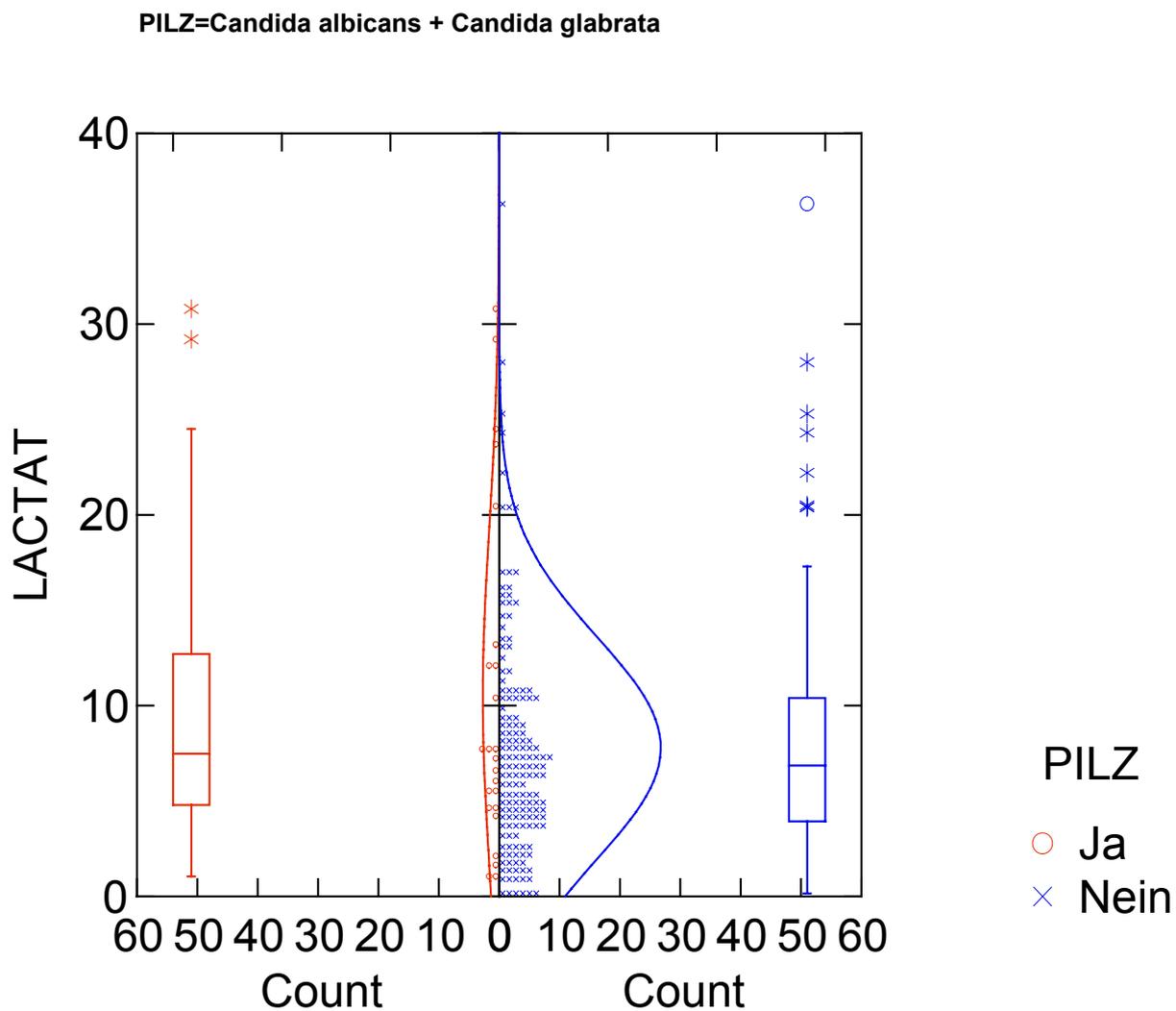
Untersuchungsgruppe:		Kontrollgruppe:
Minimum:	6	8
Maximum:	41	39
Median:	31	29
Mean:	28,686	26,125
Standard Dev:	8,720	9,289

3.2.3. Vergleich der Lactatwerte von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe

Der Lactat-Spiegel erscheint in der Gruppe der Kranken in der Tendenz erhöht ($p=0.054$), was durch den nicht-parametrischen Test allerdings nicht bestätigt wird. Wegen der rechtsschiefen Verteilung (mehr hohe als niedere Werte) und der relative kleinen Fallzahl in der Kontrollgruppe ($n=24$) im Vergleich zur Untersuchungsgruppe ($n=156$) ist diesem Test das höhere Gewicht zu geben, und damit kann aus diesen Tests nicht klar auf einen Unterschied zwischen Kontrollgruppe und Gesunden geschlossen werden. Der Mittelwert der Lactatwerte lag bei der Kontrollgruppe bei 10,458 mmol/l (Standardabweichung: 8,819) und bei der Untersuchungsgruppe bei 7,782 mmol/l (Standardabweichung: 5,815).

Untersuchungsgruppe:		Kontrollgruppe:
Minimum:	0,160	1,050
Maximum:	36,300	30,800
Median:	6,865	7,480
Mean:	7,782	10,458
Standard Dev:	5,815	8,819

Abbildung 18: Vergleich der Lactatwerte von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe



3.3. Analyse der Abhängigkeit der Lactatkonzentration von der SSW

Die Abhängigkeit des Lactat-Spiegels von der SSW wird als erstes univariate, d.h. nur unter Berücksichtigung eines Parameters untersucht. Dazu wurde als erste Näherung ein linearer Zusammenhang angenommen.

Abbildung 19: Lactatkonzentration in Abhängigkeit der SSW bei der Kontrollgruppe

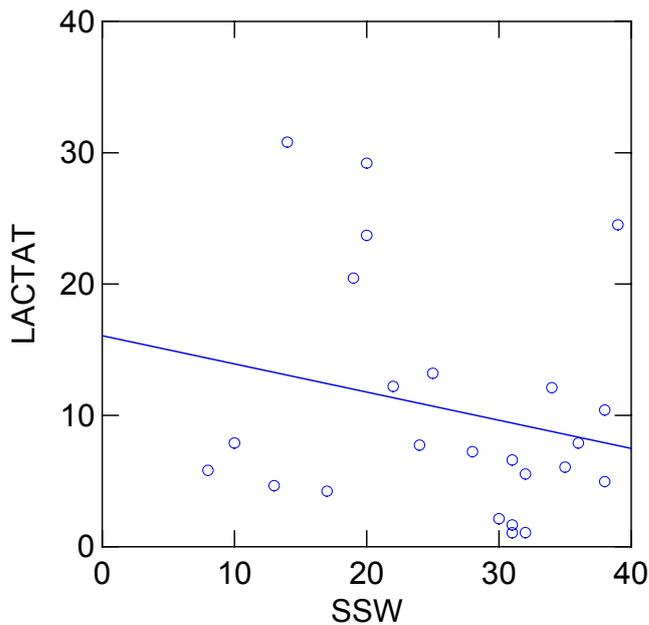
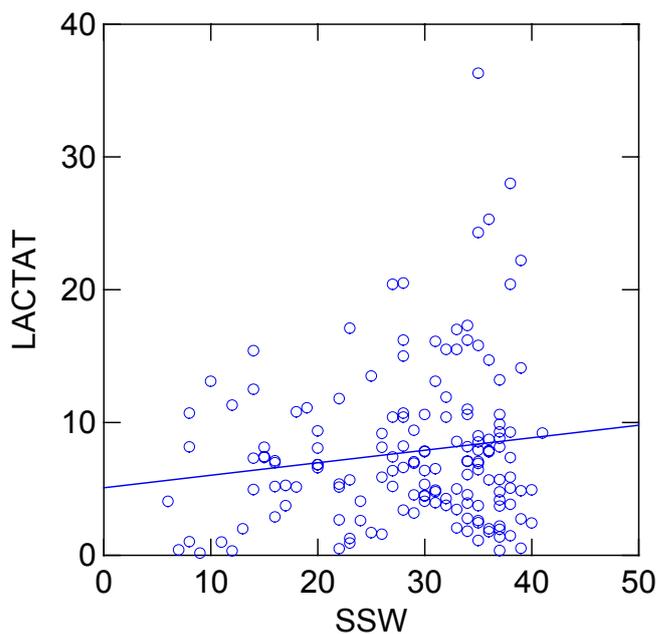


Abbildung 20: Lactatkonzentration in Abhängigkeit der SSW bei der Untersuchungsgruppe

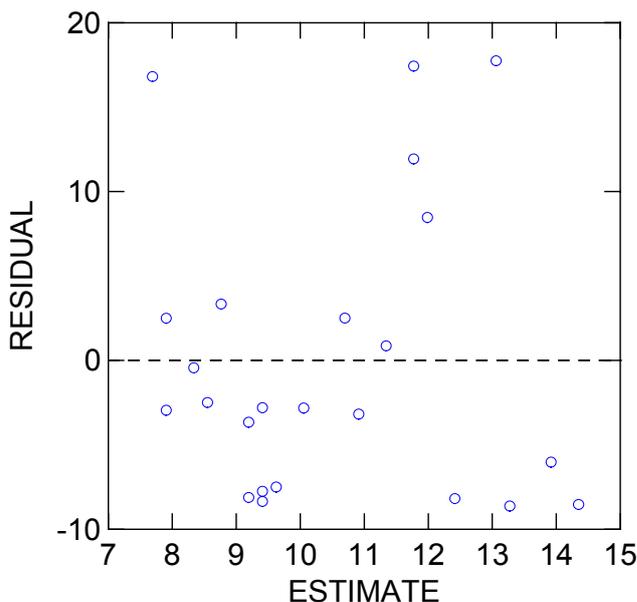


Bei Patientinnen mit Candidose korrelieren Lactat-Spiegel und SSW umgekehrt proportional, d.h. mit zunehmender Schwangerschaftsdauer scheint der Spiegel abzunehmen. Bei Gesunden scheint kein Zusammenhang zu bestehen oder nur ein schwach ausgeprägte Zunahme. Verwendet man statt der Geraden einen Lowess-Smoother, ist für die Kranken nur ein Trend sichtbar wenn die Tension, d.h. die Spanne über die für einen vorhergesagten Werte gemittelt wird, erhöht wird, während für die Gesunden der leichte Anstieg zumindest bis etwa SSW 32 bestätigt wird. Der Lowess-Smoother berechnet den vorhergesagten Wert aus der Umgebung und erlaubt so eine lokale Anpassung der Regressionslinie.

Diese möglichen Zusammenhänge werden in einer Regressionsanalyse näher untersucht. Bei den Kranken ergab sich ein Korrelationsfaktor r (multiple R) von 0.226, was eine schwache bis mäßig starke Korrelation ausdrückt, die nicht das übliche 5%-Signifikanzniveau erreicht ($p=0.288$ „P (2 Tail)“). Die Steigung der Geraden (Coefficient of SSW) betrug -0.215 ist also wie erwartet negativ. Die Residuen, d.h. der Unterschied zwischen dem durch die Regressionsgerade vorausgesagten und dem tatsächlich gemessenen Wert, sind einigermaßen gleichmäßig verteilt, was die oben gemachten Aussagen unterstützt, zeigen aber die große Streuung an.

Abbildung 21: Lowess-Smoother-Analyse der Kontrollgruppe

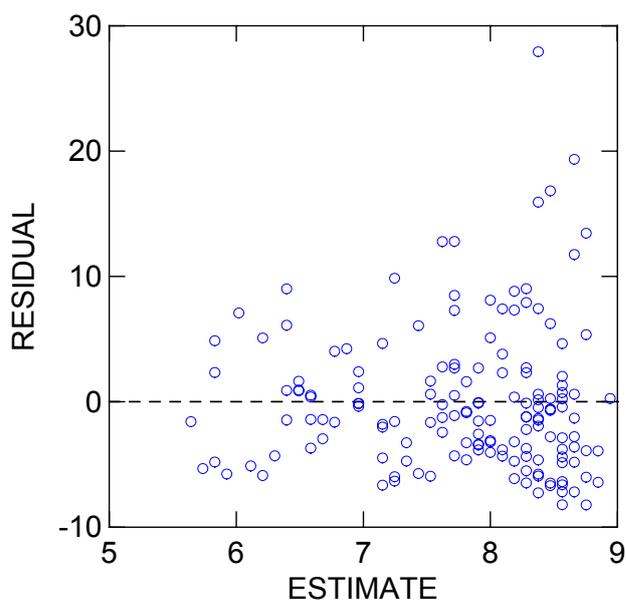
Plot of Residuals against Predicted Values



Für die Gesunden ist die Korrelation geringer ausgeprägt ($r = 0.141$), die Steigung ganz leicht positiv (0.094), aber wegen der großen Fallzahl wird die Regression nahezu formal signifikant ($p=0.078$). Die Analyse der Residuen weist Fall 132, das ist Patientenummer 129 mit einem gemessenen Lactat-Spiegel von 36.3 als Outlier aus. Dieser Punkt führt dazu, dass die Steigung etwas positiver ausfällt als sie eigentlich ist. Bei der linearen Regression verzerren Einzelpunkte, die weit ab von den anderen Punkten und eventuell auch noch weitab vom Schwerpunkt der Punktwolke liegen, die Geraden in ihre Richtung. Man sieht also bei Gesunden eher keine oder eine gegenteilige Tendenz zu den Kranken: Der Lactat-Spiegel bleibt während der Schwangerschaft gleich oder nimmt sogar leicht zu.

Abbildung 22: Lowess-Smoother-Analyse der Untersuchungsgruppe

Plot of Residuals against Predicted Values



Die beobachteten minimalen Trends, könnten von Bedeutung sein, wenn sie durch klinische Erfahrungen bestätigt werden können.

3.4. Vergleich der Gruppen in Bezug auf die Lactatkonzentration unter Einbezug des Alters

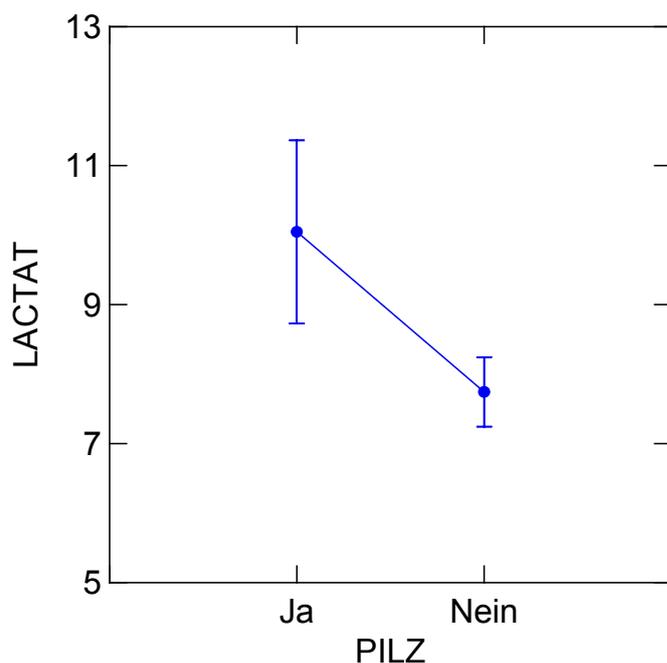
Da sich eine gegenläufige Abhängigkeit von der SSW in den beiden Gruppen herausgestellt hat, erscheint es sinnvoll, den Gruppenunterschied mit einer Covarianzanalyse mit entsprechenden Interaktionstermen zu testen.

Für SSW ergibt sich ein p-Wert von 0.453 (45.3%), der zeigt, dass die Schwangerschaftswoche unabhängig von den beiden Gruppen betrachtet wenig von der Gesamtvariabilität erklärt, was wegen der gegenläufigen Tendenz nicht verwunderlich ist. Vom Alter ist ebenfalls kein Einfluss auf den Lactat-Spiegel festzustellen ($p=0.598$), Berücksichtigt man die verschiedenen Steigungen für den Zusammenhang von Lactat und SSW, so erreicht der Interaktionsterm fast die üblichen 5% ($p=0.055$) und der Gruppenunterschied wird mit $p=0.013$ (1.3%) deutlich signifikant. Damit bestätigt die ANCOVA voll die oben gemachten Aussagen.

Abbildung 23: Covarianzanalyse

PILZ=Candida albicans + Candida glabrata

Least Squares Means



3.5. Detaillierte Analyse der Lactatkonzentration der Patientinnen ohne Pilzerkrankung

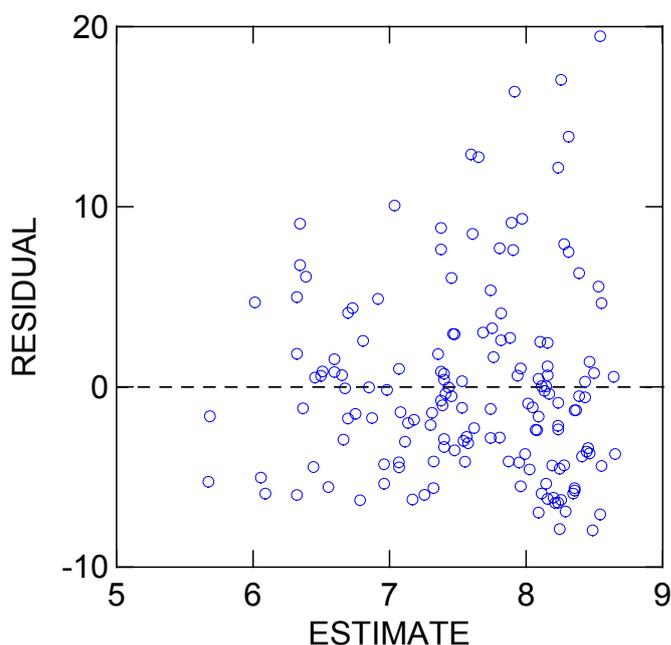
Der Schwerpunkt der Arbeit liegt aber darin Gesetzmäßigkeiten im Verlauf der Lactat-Spiegel in der Schwangerschaft bei Gesunden zu untersuchen. Als mögliche Störgröße wurde das Alter der Patientinnen erfasst.

Als erster Ansatz wird die multiple Regression eingesetzt, d.h. es wird geprüft, inwieweit SSW und Alter zusammengenommen eine Rolle spielen, um den Lactat-Spiegel vorherzusagen. Dabei wird ein linearer Zusammenhang vermutet, was aufgrund der obigen Graphiken nicht allzu falsch ist. Wegen ihres extrem hohen Wertes wird Patientennummer 129 aus der Analyse ausgeschlossen.

Wie erwartet, verringert sich die Gesamtkorrelation auf $r=0.133$ etwas, obwohl üblicherweise die Hinzunahme von Faktoren meist r erhöht. Sowohl die Steigung (Coefficient) für SSW und von Alter weicht nur wenig von Null ab, allerdings sagt der p -Wert von 0.699, dass Alter kaum etwas zur Erklärung der Varianz beiträgt, d.h. die Lactatwerte mit dem Alter kaum korrelieren.

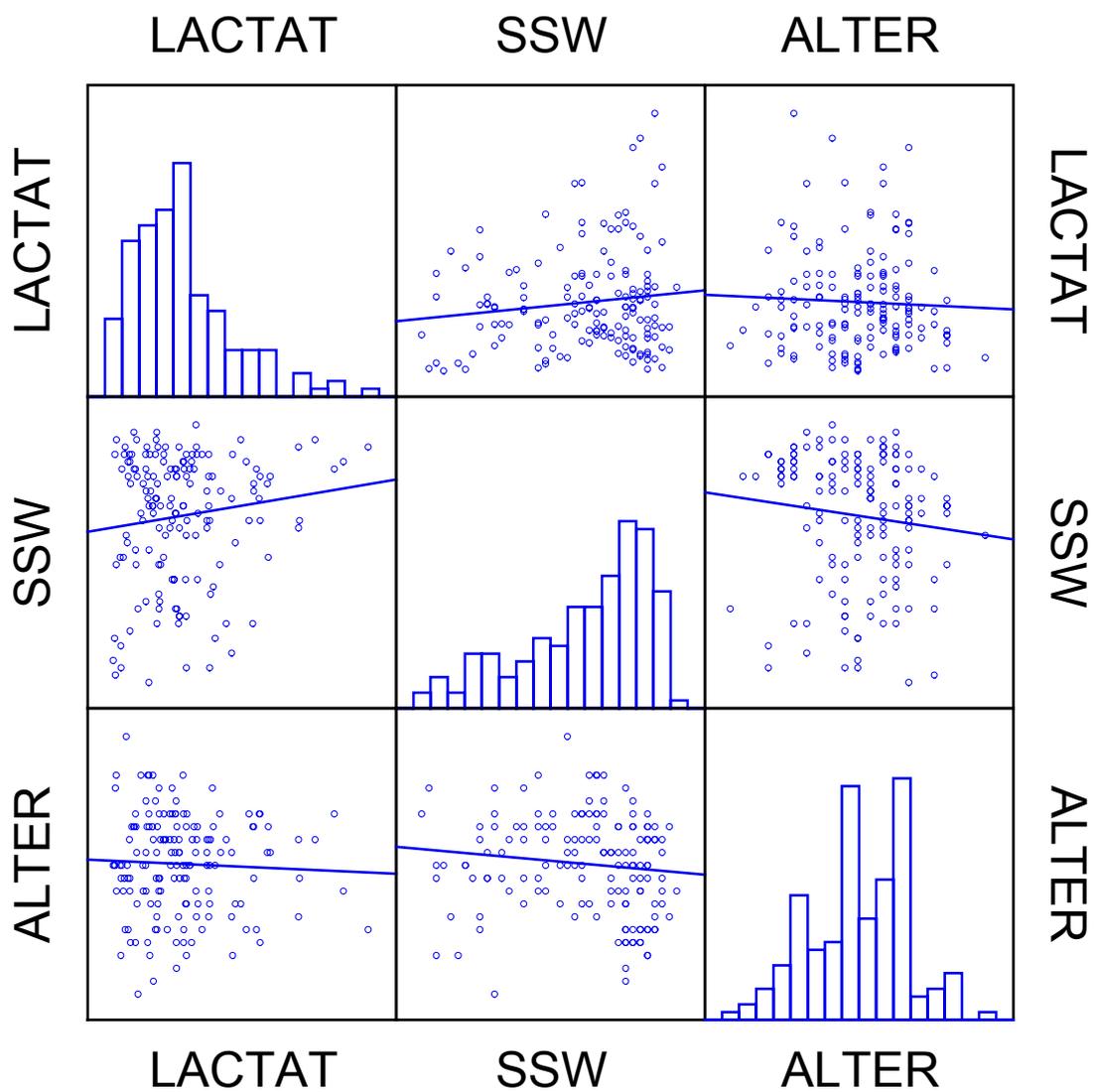
Abbildung 24: Multiple Regressionsanalyse der Untersuchungsgruppe

Plot of Residuals against Predicted Values



Dieser Zusammenhang ist in der obersten Zeile folgender Graphik ebenfalls deutlich.

Abbildung 25: Graphische Zusammenfassung der einzelnen Analysen



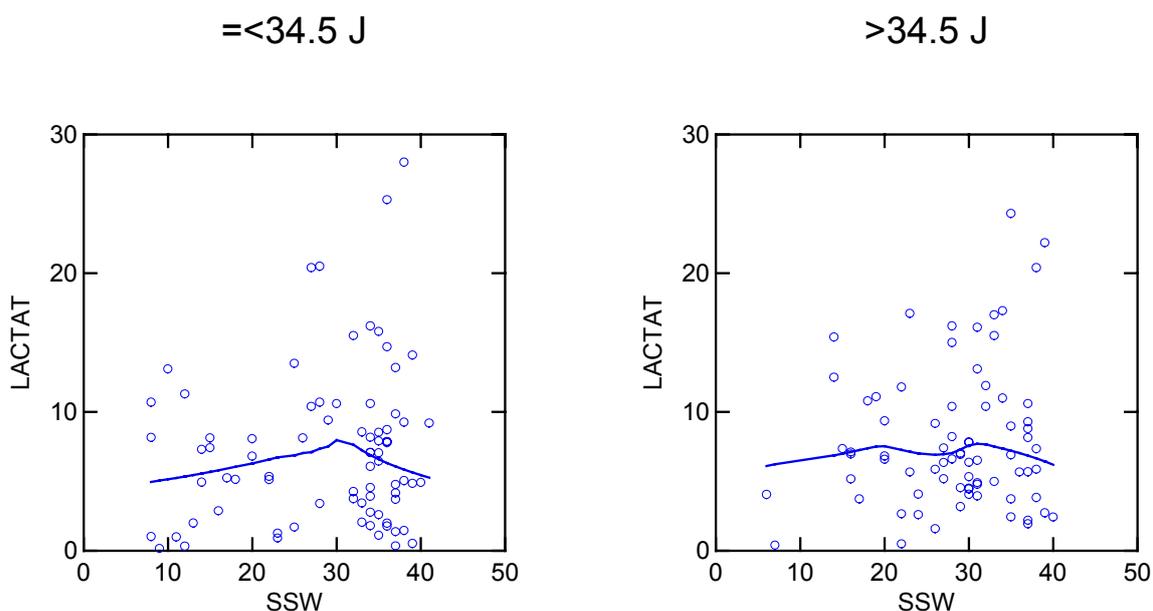
Einen nicht-linearen komplexen Zusammenhang kann man damit nicht völlig ausschließen.

Um dieser Frage nachzugehen, werden die Patientinnen nach dem Median (=34,5 Jahre) in zwei Altersgruppen eingeteilt und diese Gruppen mit einem Lowess-smoother getrennt untersucht.

In beiden Altersgruppen erkennt man, dass mit zunehmender Schwangerschaft hohe Lactat-Spiegel häufiger vorkommen. Dadurch ergibt sich ein leichter Anstieg der Trendlinie, das Maximum könnte um SSW 30 liegen. Aber selbst diese Interpretation ist fraglich und kann durchaus ein Artefakt der Datengewinnung sein: Die höchste Dichte liegt oberhalb von SSW 30, d.h. mit der höchsten Dichte ist dort auch die Wahrscheinlichkeit am Höchsten extreme Werte in der Stichprobe zu haben. Ein weiteres Argument des Fehlens eines Zusammenhangs zwischen SSW und Lactat ist, dass die Minima nicht kontinuierlich mit SSW ansteigen. Allerdings ist in beiden Altersgruppen um SSW 30 ein Anheben der Minima erkennbar, was ein Hinweis darauf wäre, dass ein nicht-linearer Zusammenhang bestehen könnte, der einen Anstieg bis etwa zur SSW 30 darstellt und dann wieder abfällt. In beiden Kurven lässt sich dieses Muster erkennen.

Als Gesetzmäßigkeit im Verlauf der Lactat-Spiegel in der Schwangerschaft bei Gesunden konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender Schwangerschaft hohe Lactat-Spiegel trendweise häufiger vorkommen. Das Alter der Patientinnen spielte hierbei nach unserer Untersuchung keine Rolle.

Abbildung 26: Lowess-Smoother-Analyse der Untersuchungsgruppe nach Altersgruppen



3.6. Untersuchung eines nicht-linearen Zusammenhangs zwischen Lactat-Spiegel und SSW bei Candidose

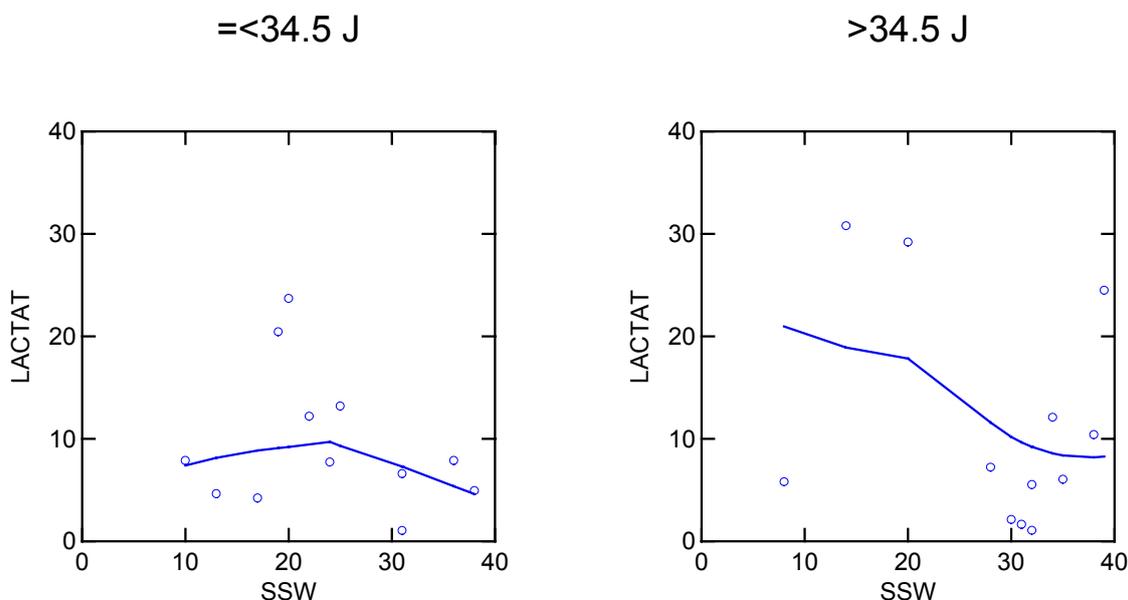
Eine vergleichbare graphische Analyse wurde für die Candidose durchgeführt. Wegen der geringen Stichprobengröße wurde die Tension von 0.75 auf 1.0 erhöht.

Man sieht deutlich die Abhängigkeit der Kurve von wenigen Datenpunkten. Generell kann aber gesagt werden, dass ein geringer Abwärtstrend angedeutet ist, der auch in den Minimalwerten sichtbar ist.

Aber auch hier muss man eine Verzerrung durch die Stichprobennahme bedenken:

Bei längeren Schwangerschaftsdauern ist auch eine längere und ausgeprägtere Candidose wahrscheinlicher. Wenn diese den Lactat-Spiegel verringert, dann besteht nur scheinbar ein Zusammenhang mit SSW, vielmehr besteht ein Zusammenhang zwischen der Dauer der Erkrankung und dem Lactat-Spiegel.

Abbildung 27: Lowess-Smoother-Analyse der Kontrollgruppe nach Altersgruppen



4. Diskussion

Das Patientengut, welches zwischen März 2002 und Oktober 2004 für die Untersuchungen herangezogen wurde, durchlief eine Reihe von Ausschlusskriterien, um mögliche Störfaktoren, die sich auf die Lactatwerte auswirken könnten, zu eliminieren. Größten Wert wurde auf den aktuellen Gesundheitszustand gelegt, sowie auf mögliche Schwangerschaftsprobleme und Erkrankungen in der Vergangenheit.

Antibakterielle oder antimykotische Therapien mussten mindestens vier Wochen vor Probenentnahme beendet sein, da sie wegen ihrer Veränderung des vaginalen Milieus die Ergebnisse verzerren (Galask, R. P. 1988 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Klein, F. 1991 / Martius, G. et al. 1994 / Weissenbacher, E.R 2001 / Tara, T.S. 2004 / Gräser, Y. et al. 1997 / Kunzelmann, V. et al. 1996 / Fidel, P. et al. 1999).

Immunsupprimierte Patientinnen, die aus irgendeinem Grund eine starke Leukopenie aufwiesen, wurden ebenfalls ausgeschlossen, da dies eine Candidose begünstigen würde und somit die Ergebnisse verfälscht würden (Mendling, W. 2002 / Kimmig, J. et al. 1961 / Schnell, J. D. et al. 1972 / Mendling, W. et al. 1984 / Mendling, W. 1991 / Boerlin, P. et al. 1995 / Van Belkum, A. et al. 1994 / Clemons, K. V. et al. 1991 / Reagan, D. R. et al. 1990 / Whelan, W. L. et al. 1990 / Scherer, S. et al. 1987 / Grillot, R. 1996 / Spinillo, A. et al. 1995 / Moyal Barraco, M. 1996). Dies beinhaltet auch Patientinnen, die Medikamente einnahmen, welche das Immunsystem beeinflussen, wie zum Beispiel Kortikosteroide, Interferone und Zytostatiker. Das gleiche gilt für Patientinnen mit einem diagnostizierten Diabetes mellitus, da dies nach allgemeiner Lehrmeinung eine Candidose ebenfalls begünstigt (Barousse, M. M. et al. 2001 / Dan, M. et al. 2003 / Linhares, L. M. et al. 2001 / Maccato, M. L. et al. 1991 / Saporiti, A. M. et al. 2001 / Wilton, L. et al. 2003 / Heizmann, W. et al. 1999 / Fidel, P. et al. 1996).

Klinische oder anamnestische Hinweise auf Infektionen in den vorausgegangenen 14 Tagen, bewirkten ebenfalls einen Ausschluß aus dem Patientengut, da dies einerseits die Immunabwehr senkt und zu einer erhöhten Candida-Besiedlung führen kann. Andererseits nach Rodrigues et al. und Xu et al. eine vaginale Candidose wesentlich seltener zu diagnostizieren ist, wenn gleichzeitig eine bakterielle Entzündung der Scheide vorliegt (Rodrigues, A. G. et al. 1999 / Xu, J. et al. 2004). Zudem sind bestimmte Bakterienarten ebenfalls in der Lage Lactat zu produzieren, was das Ergebnis verzerren würde (Seliger et al. 1997 / Wiesmann, E. 1982)

Schwangere, die bekannte Risiken für Frühgeburten wie Zervixinsuffizienz, Mehrlingsschwangerschaften, Plazentationsstörungen, fetale Missbildungen oder Uteruspathologie, Hypertonie, Niereninsuffizienz oder maligne Erkrankungen aufwiesen,

wurden ebenfalls ausgeschlossen. Auch Frauen, die bereits eine Frühgeburt hatten, was auf eine eventuelle nicht diagnostizierte Zervixinsuffizienz zurückzuführen ist, wurden nicht in das Patientengut aufgenommen, damit diese Faktoren nicht zu möglichen Störfaktoren werden.

Das Alter und die jeweilige Schwangerschaftswoche der Patientinnen bei Probenentnahme sind zudem sehr variabel, was zu einer großen Bandbreite führt.

Allgemein kann man sagen, dass das Patientengut sorgfältig ausgesucht wurde, um Störfaktoren so weit wie möglich zu eliminieren, aber trotzdem eine große Bandbreite bezüglich Patientenalter und verschiedenen Schwangerschaftswochen beinhaltet.

Die verwendeten Geräte waren alle in einem funktionstüchtigen Zustand, sowie richtig geeicht, falls dies erforderlich war. Die Auswahl der Geräte wurde aufgrund des neusten Stands der Technik gefällt, damit eine genaue Messung der Werte gewährleistet werden konnte. Die Chemikalien, die für die einzelnen Versuche benützt wurden, entsprachen der vorgegebenen Reinheit, wurden jeweils vorschriftsmäßig gelagert und dosiert, und wurden alle innerhalb ihrer angegebenen Haltbarkeit verwendet. Dies sollte somit zu einer möglichst genauen Werteerhebung führen, um technische Störgrößen auszuschließen.

Die Probenentnahme wurde von einem Gynäkologen nach allgemeiner Vorgehensweise durchgeführt. Die Methode der Polymerase chain reaktion (PCR) sowie die ausgewählten statistischen Methoden, die in dieser Arbeit verwendet wurden, sind allgemein anerkannte wissenschaftliche Vorgehensweisen, wurden bereits vielfach eingesetzt und haben sich bis heute bewährt. Gerade die Methode der PCR ermöglicht durch die Amplifikation von nur geringen Mengen an pilzspezifischer DNA einen raschen und sensitiven Nachweis von *Candida* und im Vergleich zu einem kulturellen Nachweis, einen schnelleren und vor allem sensitiveren Weg zur Diagnose (Morace, G. et al. 1997 / Van Deventer, A. J. M. et al. 1995 / Holmes, A. R. et al. 1994 / Maiwald, M. et al. 1994 / Makimura, K. et al. 1994 / Crampin, A. C. et al. 1993 / Hopfer, R. L. et al. 1993 / Kann, V. L. 1993 / Miyakawa, Y. et al. 1993 / Niesters, H. G. M. et al. 1993 / Olsson, M. et al. 1993 / Burgener-Kairuz, P. et al. 1994 / Miyakawa, Y. et al. 1992 / Buchman, T. G. et al. 1990).

Die Methode der Lactatmessung des vaginalen Milieus wurde in dieser Art noch nicht beschrieben. Diese Vorgehensweise ist jedoch Stand der Technik um Lactatwerte des Blutes zu messen (Schlegel, R. 1994).

Um mögliche Beeinträchtigungen der Lactatmessung des Scheidenmilieus auszuschließen, wurden jeweils bei einer Blutprobe, sowie bei einer Vaginalsekretprobe eine Messung durchgeführt und diese anschließend mit der gleichen Menge an Lactat angereichert. Danach wurden die beiden Proben nochmals gemessen. Es stellte sich heraus, dass beide Probenergebnisse um den gleichen Wert verändert waren. Dies zeigt, dass die

Lactatmessung in beiden Medien gleichermaßen möglich ist und es im Vaginalmilieu zu keiner Verzerrung der Messergebnisse kommt. Analog dazu wurden ebenfalls Versuchsreihen mit geringer Lactatkonzentration, sowie mit hoher Lactatkonzentration durchgeführt, um zu testen, ob sich unterschiedliche Messergebnisse bei Extremwerten ergeben würden. Dies konnte nicht bestätigt werden. Alle Messergebnisse veränderten sich in beiden Medien stets gleich.

Bei 156 der 180 Patientinnen wurden mittels PCR keine Candidose-Erreger im Vaginalmilieu nachgewiesen. Dieses Patientenkollektiv bildete die Untersuchungsgruppe. Ein positiver Candidanachweis konnte in 24 der Fälle diagnostiziert werden und wurde als Kontrollgruppe gebildet. Diese Zahlen stimmen mit denen des Kulturnachweises überein, welcher bei der Probenentnahme durchgeführt wurde. Auch die Anzahl der Fälle, bei denen *Candida albicans* und *Candida glabrata* Erreger bei den positiven Candidanachweisen vorgefunden wurden, deckt sich mit denen des Kulturnachweises. In beiden Fällen konnte 18 mal *Candida albicans* und 6 mal *Candida glabrata* nachgewiesen werden. Durch diese doppelte Nachweismethode und der Übereinstimmung der Daten, kann man von der Richtigkeit der ermittelten Zahlen ausgehen.

Der Vergleich von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe zeigte bezüglich dem Alter und der Schwangerschaftswoche keinen signifikanten Unterschied. Obwohl im Laufe der Schwangerschaft eine Erhöhung der Hormone Östron, Östradiol und Östriol im Blut nachgewiesen werden kann (Labhart, A. 1974 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Larsen, B. et al. 1980) und dies eine Attraktivitätserhöhung des Vaginalepithels für *Candida*-Erreger zur Folge hat (Sobel, J. D. et al. 1995 / Weissenbacher, E. R. 2001), konnten nicht mehr Candidosen in höheren Schwangerschaftswochen beobachtet werden. Dieses Erkenntnis steht jedoch im Widerspruch zu vielen Autoren, die berichten, dass der vaginale Hefepilzbefall im dritten Trimenon am höchsten ist (Mendling, W. 1991 / Mendling, W. 1995 / Schnell, J.D. 1982 / Spitzbart, H. 1960 / Odds, F. C. 1988). Dies kann daran liegen, dass während der Schwangerschaft ebenfalls der vaginale Lactatgehalt ansteigt, was wie bereits beschrieben eine Candidabesiedlung erschwert (Xu, J. et al. 2004).

Beide Gruppen weisen insgesamt keinen signifikanten Unterschied verglichen mit den Lactatwerten auf. Dies widerspricht der Erkenntnis von Sobel et al.. Danach übt die Lactobazillenflora ebenfalls eine Einflussnahme auf die Adhäsion der *Candida*-Erreger an die vaginale Schleimhaut aus. Eine gesunde, dichte Lactobazillenflora schützt durch das Bedecken der Bindungsstellen die Vaginalschleimhaut vor einer Pilzbesiedelung (Osset, J. et al. 2001 / Sobel, J. D. et al. 1981).

Das produzierte Lactat ist der Hauptbestandteil des sauren Vaginalmilieus, welches die Vermehrung unter anderem von *Candida*-Erregern einschränkt und sogar die Erregeranzahl reduziert (Klein, F. 1991 / Mahomed-Yunus S. Moosa et al. 2004 / Ifeoma B. E. et al. 2001 /

Valore E. V. et al. 2002). Zudem ist die Adhäsionsfähigkeit der Candida- Erreger an die vaginale Schleimhaut durch einen niedrigeren pH-Wert verringert (Persi, M. A. et al. 1985)

Viele Lactobazillen sind neben der Lactatproduktion auch zur H_2O_2 - Herstellung fähig, welches das Wachstum der Candida -Erreger hemmt (Hillier, S. L. et al. 1992 / Rossel, G. A. et al. 1996).

Eine reduzierte Lactobazillenflora begünstigt also über ein mikrobiologische Ungleichgewicht eine Candidose, welche sich in den reduzierten Lactatwerten widerspiegeln müsste. Jedoch fehlt der direkte Vergleich der Lactatwerte an ein und der selben Patientin mit und ohne Candidose. Allgemein gesehen, kann jedoch diese Aussage mit den hier gewonnenen Daten nicht unterstützt werden.

Andere Autoren, wie zum Beispiel Hawes, bezweifeln jedoch einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von H_2O_2 - produzierenden Lactobazillen und einem gehemmten Wachstum der Candida –Erreger (Hawes, S. E. et al. 1996 / Mijac, V. D. et al. 2006).

Von H. Müller und K. Friese wird zudem der pH-Einfluß auf ein Vorhandensein einer vaginalen Mykose in Frage gestellt (Müller, H. et al. 2002)

Demnach spielen veränderte Lactatwerte in Bezug auf eine Candidose im vaginalen Milieu keinerlei Rolle, was sich in den hier erhobenen Daten zeigt.

Die Abhängigkeit der Lactatspiegel von der Schwangerschaftswoche ist sowohl bei der Untersuchungsgruppe, als auch bei der Kontrollgruppe nicht signifikant. Es besteht jedoch eine gegenteilige Tendenz der beiden Gruppen, was im direkten Vergleich deutlich signifikant ist. Bei den Patientinnen, die eine Candidose im Vaginalbereich hatten, konnte eine Lactatwertverminderung bei steigender Schwangerschaftswoche beobachtet werden. Bei den Gesunden verhielt sich diese Tendenz gegenteilig.

Die Östrogene steigen während der Schwangerschaft im Blutserum stetig an und bewirken eine erhöhte Lactobazillenzahl im Vaginalmilieu (Labhart, A. 1974 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Larsen, B. et al. 1980). Dadurch stabilisiert sich das saure Scheidenmilieu während der Schwangerschaft (Labhart, A. 1974 / Garber, G. E. et al. 1989 / Ison, C. A. 1984 / Larsen, B. et al. 1980 / Xu, J. et al. 2004) und es ist mit einem Anstieg des Lactatgehaltes im Vaginalmilieu zu rechnen. Diese Beobachtung kann aus den hier erhobenen Daten unterstützt werden, da bei den gesunden Patientinnen dieser Effekt zu ersehen ist.

Bei längeren Schwangerschaftsdauern ist auch eine längere und ausgeprägtere Candidose wahrscheinlicher. Wenn diese den Lactat-Spiegel verringert, dann besteht nur scheinbar ein

Zusammenhang mit SSW, vielmehr besteht ein Zusammenhang zwischen der Dauer der Erkrankung und dem Lactat-Spiegel.

Eine altersabhängige Lactatwertveränderung konnte weder bei der Kontrollgruppe, noch bei der Untersuchungsgruppe nachgewiesen werden, obwohl sie von einigen Autoren beschrieben wird (Sobel, J. D. et al. 1995 / Weissenbacher, E. R. 2001). Diese beziehen sich jedoch auf das östrogen- und gestagenbedingte Glucoseangebot im Epithel der Vaginalschleimhaut, welches nach der Pubertät und vor der Menopause am höchsten ist.

Da es sich in dieser Arbeit jedoch ausschließlich um schwangere Patientinnen handelte, die alleine dadurch einen erhöhten Östrogen- und Gestagenwert vorweisen konnten, kann dies die Ursache dafür sein, dass die altersbedingten Hormonveränderungen nicht ins Gewicht fallen.

Bei den Patientinnen mit Candidose ist ein leichter Abfall der Lactat-Spiegel mit der Schwangerschaft erkennbar ($r=0.226$, Koeffizient -0.215), während bei den Gesunden allenfalls ein minimaler Anstieg feststellbar ist ($r=0.141$, Koeffizient 0.094).

In beiden Fällen sind mögliche Verzerrungen durch die Probennahme (Überlagerung von möglicher Krankheitsdauer und SSW bei Kranken, mehr Datenpunkte in späteren Verlauf der Schwangerschaft bei Gesunden) und die große Streuung zu bedenken. Wird dies in einer ANCOVA berücksichtigt, ergibt sich ein Unterschied im Lactatspiegel zwischen beiden Gruppen ($p=0.013$). Eine graphische Inspektion der Daten bei Gesunden mit nicht-linearen Regressionskurven lässt die Möglichkeit zu, dass der Lactat-Spiegel bis um die SSW 30 leicht ansteigt und anschließend abfällt.

Der Zeitverlauf von Lactat während der Schwangerschaft wäre am genauesten durch wiederholte Messungen an gleichen Individuen bestimmbar.

Der Stand der Technik erlaubt es heute schon Lactat auf eine einfache Weise, schnell und genau zu messen, was in der Sportmedizin zu ersehen ist (Schlegel, R. 1994).

Es ist zudem ein körpereigener Stoff, sodass eine Schädigung der Patientin durch den Marker ausgeschlossen ist (Löffler, G. 1999 / Stryer, L. 1995 / Zeek, A. et al. 1992). Auch die Entnahme des Untersuchungsmaterials ist für Mutter und Kind harmlos.

Die vaginale Lactatentnahme und Untersuchung ist nicht kostenintensiv, was Lactat diesbezüglich zur Routinediagnostik eignet.

Vergleicht man die erwähnten Eigenschaften mit denen der bereits vorhandenen Diagnosemöglichkeiten für Candidose, wie Mikroskopie, Kulturnachweis, biochemische Diagnostik, serologische und molekularbiologische Methoden, so ist das Lactat als Marker diesbezüglich im Vorteil (Quindos, G. et al. 1997 / Sullivan, D. et al. 1998 / Baumgartner et

al. 1996 / Sander, A. 1997 / Morace, G. et al. 1997 / van Deventer, A. J. M. et al 1995 / Holmes, A. R. et al. 1994).

Die Mikroskopie erfordert viel Vorkenntnisse, ausreichend viel Zeit und ist dennoch sehr anfällig für Fehler (Quindos, G. et al. 1997 / Salkin, I. F. et al. 1987). Der Kulturnachweis ist nach wie vor sehr zeitaufwendig (Soll, D. R. 1996 / Slutsky, B. et al. 1985) und die biochemische Diagnostik dient lediglich zur Unterscheidung von verschiedenen Spezies. Als Routinediagnose ist sie nicht geeignet (Odds, F. C. et al. 1997). Serologische Untersuchungsmethoden sind sehr aufwendig, als alleiniger Nachweistest zu ungenau und nur bedingt aussagekräftig, zudem ist diese Diagnoseform im Verhältnis viel zu teuer, um für die Routinediagnostik eingesetzt zu werden (Sander, A. 1997 / Greenfield, R. A. et al. 1983) Molekularbiologische Methoden sollen gut funktionierende konventionelle Methoden zur Erregeridentifizierung nicht ersetzen, können aber bei Problemfällen eine wertvolle Ergänzung für die dermatomykologische Diagnostik vorzugsweise in fachständigen Referenzlaboratorien darstellen. Als alleinige Diagnoseform sind sie demnach ungeeignet. Zudem erfordert diese Methode ein umfangreiches Equipment und ein sehr gut ausgebildetes Personal, was diesen Test sehr teuer macht und schon deshalb nicht für eine Routinediagnostik geeignet ist (Odds, F. C. et al. 1997 / Kitch, T. T. et al. 1997 / Mendling, W. 1993 / Quindos, G. et al. 1994)

Die Reproduzierbarkeit der gemessenen Lactatwerte konnte bestätigt werden, da jeder Messvorgang wiederholt wurde und nur in Einzelfällen eine Abweichung von über 20% zu verzeichnen war. Diese Abweichung war in allen Fällen jedoch durch ungenaues pipittieren bedingt.

Eine Abhängigkeit der vaginalen Lactatwerte in Bezug auf eine Candida-Besiedlung bzw. Infektion der Scheide haben sich durch die hier erbrachten Ergebnisse nicht bestätigt. Allerdings ist zu erwähnen, dass kein direkter Vergleich der Lactatwerte von derselben Patientin mit und ohne Candidanachweis erbracht wurde. Da das vaginale Milieu, mit der Zusammensetzung der Lactobazillen und dem daraus resultierendem Lactatgehalt sehr Patientenabhängig ist (Weissenbacher, E. R. 2001), könnte es dennoch einen Zusammenhang geben, der hier aber nicht ersichtlich wurde.

Um die Lactatwerte aus dem Scheidenmilieu richtig deuten zu können, ist es nötig, den vaginalen Lactatspiegel bei gesunden Patientinnen in den einzelnen Schwangerschaftsphasen (Schwangerschaftswochen) zu erheben, sowie das Alter der Patientinnen mit den Lactatwerten zu vergleichen, um auf eine Kolonisation bzw. Erkrankung des unteren Genitales durch Candida Rückschlüsse ziehen zu können, da sich diese Einflußfaktoren als Störfaktoren erweisen könnten. Sowohl das Alter, als auch die Schwangerschaftswochen, konnten in dieser Arbeit nicht als mögliche Störgrößen identifiziert werden.

5. Zusammenfassung

Wir haben die Veränderungen des vaginalen Lactatwertes in der Schwangerschaft untersucht und statistisch valide Ergebnisse erreicht. Diese Grundlagenarbeit, welche im Gesamtkonzept einer Lactat-bezogenen Candidadiagnostik steht, ist die Basis für ein weiteres Voranbringen dieses Projektes. Die Ergebnisse stellen darüber hinaus ein wichtiges Grundlagenwissen über das vaginale Lactatmilieu in der Schwangerschaft dar.

Allgemein konnten mit den hier gewonnenen Ergebnissen, keinerlei Unterschiede bezüglich dem Alter und der Dauer der Schwangerschaft zwischen den an Candida erkrankten Patientinnen und den Gesunden festgestellt werden. Auch die Lactatwerte beider Gruppen wiesen keinen signifikanten Unterschied auf.

Es konnte jedoch eine gegenteilige Tendenz der Lactatspiegel bezogen auf die Schwangerschaftswoche zwischen Gesunden und der an Candida erkrankten Patientinnen beobachtet werden, welche im direkten Vergleich deutlich signifikant war.

Als Gesetzmäßigkeit im Verlauf der Lactatspiegel in der Schwangerschaft bei Gesunden konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender Schwangerschaft hohe Lactatspiegel trendweise häufiger vorkommen. Das Alter der Patientinnen spielte hierbei nach unserer Untersuchung keine Rolle.

Lactat eignet sich als Marker für die Candidadiagnostik bei Schwangeren nach den hier erbrachten Ergebnissen nicht. Die allgemeinen Anforderungen an einen Marker werden zwar erfüllt, jedoch ist der Beweis für eine ausreichende Aussagekraft nicht erbracht worden. Es konnten zwar Gesetzmäßigkeiten im Verlauf der Lactatspiegel gezeigt werden, die aber in dieser Form für eine Diagnostik nicht ausreichend sind. Es ist zu erwähnen, dass wiederholte Messungen, an ein und dem selben Individuum zu möglichen verwertbaren Ergebnissen führen könnte, die eine Gesetzmäßigkeit der Lactatspiegel bei an Candida erkrankten Patientinnen aufzeigt. Der Grund dafür ist die extrem individuell gestaltete Vaginalflora, die sich bei jeder Patientin anders gestaltet.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Sekretion von Östron, Östradiol und Östriol	17
Abbildung 2: Lactobacillus-Grad I nach Schröder (Donders, G. 2004)	19
Abbildung 3: Lactobacillus-Grad II nach Schröder (Donders, G. 2004)	20
Abbildung 4: Lactobacillus-Grad III nach Schröder (Donders, G. 2004)	20
Abbildung 5: Einige Einflussfaktoren auf das Vaginalmilieu (Martius, G. et al. 1994)	21
Abbildung 6: Erreger der Mykosen im Genitalbereich (Weissenbacher, E. R. et al. 2001)	22
Abbildung 7: Klinische Bilder der Vaginalcandidose (Weissenbacher, E. R. et al. 2001)	24
Abbildung 8: Strukturformel von Milchsäure und L-Lactat	30
Abbildung 9: Stoffwechselwege bei der Bildung und Metabolisierung von Lactat	31
Abbildung 10: Mikrobielle Besiedlung der Vagina in Abhängigkeit des pH-Wertes (Klein, F. 1991)	33
Abbildung 11: Patientenalter des gesamten Patientengutes	35
Abbildung 12: Beispiel für die Analyse einer PCR mit Gelelektrophorese unter UV-Licht:	45
Abbildung 13: Diaglobal-Lactat-Photometer mit Einzeltestküvetten	46
Abbildung 14: Messreaktion für die Lactatbestimmung (Schlegel, R. 1994)	47
Abbildung 15: Diaglobal-Lactat-Photometer	47
Abbildung 16: Altersvergleich von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe	50
Abbildung 17: Vergleich der SSW von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe	51
Abbildung 18: Vergleich der Lactatwerte von Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe	53
Abbildung 19: Lactatkonzentration in Abhängigkeit der SSW bei der Kontrollgruppe	54
Abbildung 20: Lactatkonzentration in Abhängigkeit der SSW bei der Untersuchungsgruppe	54
Abbildung 21: Lowess-Smoother-Analyse der Kontrollgruppe	55
Abbildung 22: Lowess-Smoother-Analyse der Untersuchungsgruppe	56
Abbildung 23: Covarianzanalyse	57
Abbildung 24: Multiple Regressionsanalyse der Untersuchungsgruppe	58
Abbildung 25: Graphische Zusammenfassung der einzelnen Analysen	59
Abbildung 26: Lowess-Smoother-Analyse der Untersuchungsgruppe nach Altersgruppen	60
Abbildung 27: Lowess-Smoother-Analyse der Kontrollgruppe nach Altersgruppen	61

7. Literaturverzeichnis

1. Aboyeji AP, Nwabuisi C
Prevalence of sexually transmitted diseases among pregnant women in Ilorin, Nigeria.
J Obstet Gynaecol 2003; 23: 637-639
2. Akerele J, Abhulimen P, Okonofua F
Prevalence of asymptomatic genital infection among pregnant women in Benin City, Nigeria.
Afr J Reprod Health 2002; 6: 93-97
3. Ancel PY
Perspectives in the prevention of premature birth
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 117: 2-5
4. Antonio MAD, Hillier SL
DNA fingerprinting of *Lactobacillus crispatus* strain CTV-05 by repetitive element sequence-based PCR analysis in a pilot study of vaginal colonization.
J Clin Microbiol 2003; 41: 1881-1887
5. Axelsson L, Chung TC, Dobrogosz WJ, Lindgren SE
Antimicrobial agents and chemotherapy 1988; 12: 1854-1858
6. Balaka B, Agbere AD, Baeta S, Kessie K, Assimadi K
Bacterial flora in the genital tract the last trimester of pregnancy.
J Gynecol Obstet Biol Reprod 2003; 32: 555-561
7. Baltzer J, Mickan H
Gynäkologie
5. Auflage, Stuttgart: New York; 1994
8. Barousse MM, Steele C, Dunlap K, Espinosa T, Boikov D, Dobel JD, Fidel PL Jr.
Growth inhibition of *Candida albicans* by human vaginal epithelia cells
J Infect Dis 2001; 184: 1489-1493

-
9. Baumgartner C, Freydiere AM, Gille Y
Direct identification and recognition of yeasts species from clinical material by using albicans ID and CHROMagar Candida plates.
J. Clin. Microbiol 1996; 34: 454-456
 10. Bayo M, Berlanga M, Agut M
Vaginal microbiota in healthy pregnant women and prenatal screening of group B streptococci (GBS).
Int Microbiol 2002; 5: 87-90
 11. Becker K
Molecular biological differentiation of yeasts
Mycoses 2000; 1: 40-47
 12. Blankhart D, Muller O, Gresenguet G, Weis P
Sexually transmitted infections in young pregnant women in Bangui, Central African Republic.
Int J STD AIDS 1999; 10: 609-614
 13. Blaschke-Hellmessen R
Vertical transmission of Candida and its consequences
Mycoses 1998; 2: 31-36
 14. Bluestein D, Rutledge C, Lumsden I
Predicting the occurrence of antibiotic induced candidal vaginitis
Fam Pract Res 1991; 11: 319-326
 15. Boerlin P, Addo M, Boerlin-Petzold F, Durussel C, Pagani JL, Chave JP, Bille J
Transmission of oral Candida albicans strains between HIVpositive patients
Lancet 1995; 345: 1052-1053
 16. Bohbot JM
Acquisitions récentes sur la physiopathologie des candidosis Vulvovaginales
Gyn Obs 1996; 354: 25-28
 17. Bocking D
Preterm labour: recent advances in understanding of pathophysiology, diagnosis and management
Curr Opin Obstet Gynecol 1998; 10:151-156

-
18. Braveny I, Bodey G
Opportunistische Pilzinfektionen: Candida, Aspergillus, Cryptococcus
München: 2001
 19. Brzin B
Alpha – hemolytic vaginal Lactobacilli
Experientia 1972; 28: 1121
 20. Buchman TG, Rossier M, Merz WG, Charache P
Detection of surgical pathogens by in vitro DNA amplification.
Part I. Rapid identification of *Candida albicans* by in vitro amplification of a fungus specific gene.
Surgery 1990; 108: 338-347
 21. bu-Elteen KH, bdul Malek AM, bdul Wahid NA
Prevalence and susceptibility of vaginal yeast isolates in Jordan.
Mycoses 1997; 40: 179-185
 22. Burgener-Kairuz P, Zuber JP, Jaunin P, Buchman TG, Bille J, Rossier M
Rapid detection and identification of *Candida albicans* and *Torulopsis (Candida) glabrata* in clinical specimens by species-specific nested PCR amplification of a cytochrome P-450 lanosterol-a-demethylase (L1A1) gene fragment.
J Clin Microbiol 1994; 32: 1902-1907
 23. Cirak MY, Kalkanci A, Kustimur S
Use of molecular methods in identification of *Candida* species and evaluation of fluconazole resistance
Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 1027-1032
 24. Claeys P, Ismailov R, Rathe S
Sexually transmitted infections and reproductive health in Azerbaijan.
Sex Transm Dis 2001; 28: 372-378
 25. Clemons KV, Shankland GS, Richardson MD, Stevens DA
Epidemiologic study by DNA typing of a *Candida albicans* outbreak in heroin addicts
J Clin Microbiol 1991; 29: 205-207

-
26. Clemons K, Spearow JL, Parmar R, Espiritu M, Stevensl D
Genetic Susceptibility of Mice to *Candida albicans* Vaginitis Correlates with Host Estrogen Sensitivity
Infect Immun 2004; 72: 4878-4880

 27. Cox SM, Phillips LE, Mercer LJ, Stager CE, Faro S
Lactobacillemia of amniotic fluid origin
Obstet Gynecol 1986; 68: 134-135

 28. Crampin AC, Matthews RC
Application of the polymerase chain reaction to the diagnosis of candidosis by amplification of an HSP-90 gene fragment.
J Med Microbiol 1993; 39: 233-238

 29. Dan M, Kaneti N, Levin D, Poch F, Samara Z
Vaginitis in a gynecologic practice in Israel: causes and risk factors
Isr Med Assoc J 2003; 5: 629-632

 30. Daniels W, Glover DD, Essmann M, Larsen B
Candidiasis during pregnancy may result from isogenic commensal strains
Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9: 65-73

 31. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS
Microbiology
4. Auflage
New York: 1998

 32. De Leon E, Jacober S, Sobel J, Foxman B
Prevalence and risk factors for vaginal *Candida* colonization in women with type I and type II diabetes
BMC Infect Dis 2002; 2

 33. Dennerstein GJ, Ellis DH
Oestrogen, glycogen and vaginal candidiasis
Aust N Z J Obstet Gynaecol 2001; 41: 326-328

 34. Denning DW, Evan EGB, Kibbler CC, Richardson MD, Roberts MM, Rogers TR
Working group of the British Society for Medical Mycology Management of genital candidiasis
Br Med J 1995; 310: 1241-1244

-
35. Dewhurst J
Practical pediatric and adolescent gynecology
New York: Basel: 1980
 36. Donders G
Das Mikroskop in der Praxis: Obsolet oder unzureichend genützt?
Speculum 2004; 14
 37. Eschenbach DA, Davrick PR, Williams BL, Klebanoff SJ, Young-Smith K, Critchlow CM, Holmes KK
Prevalence of hydrogen peroxide – producing Lactobacillus species in normal women and women with bacterial vaginosis
J Clin Microbiol 1989; 27: 251-256
 38. Fidel P, Sobel D
Immunopathogenesis of Recurrent Vulvovaginal Candidiasis
Clin Microbiol 1996; 9: 335-348
 39. Fidel P, Vazquez JA, Sobel JD
Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis and clinical disease with comparison to Candida albicans
Clin Microb Rev 1999;12: 80-96
 40. Fidel PL, Jr., Cutright J, Steele C
Effects of reproductive hormones on experimental vaginal candidiasis
Infect Immun 2000; 68: 651-657
 41. Fonck K, Kidula N, Jaoko W
Validity of the vaginal discharge algorithm among pregnant and non-pregnant women in Nairobi, Kenya.
Sex Transm Infect 2000; 76: 33-38
 42. Foxman B
The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors
Am J Public health 1990; 80: 329-331

-
43. Friebe-Hoffmann U, Bender DP, Sims CJ, Rauk PN
Candida albicans chorioamnionitis associated with preterm labor and sudden intrauterine demise of one twin
A case report
J Reprod Med 2000; 45: 354-356

 44. Galask RP
Vaginal colonization by bacteria and yeast
Am J Obstet Gynecol 1988; 158: 993-995

 45. Garber GE, Chow AW
Female genital tract infections
In: Anaerobic infections in humans
Finegold I, Sydney M, Lance G W
Academic Press, Inc., San Diego 1989

 46. Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG
Taxonomic Outline of the Prokaryotes
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition, Release 5.0,
Springer-Verlag, New York; 2004

 47. Geiger AM, Foxman B
Risk factors for vulvovaginal candidiasis
A case control study among university students
Epidemiology 1996; 7: 182-187

 48. Glover DD, Larsen B
Longitudinal investigation of candida vaginitis in pregnancy: role of superimposed antibiotic use
Obstet Gynecol 1998; 91: 115-118

 49. Göttlicher R, Meyer H
Zur Pathophysiologie der Pilzkrankungen
In: Göttlicher R, Meyer H, Hrsg. Vulvovaginalmykose
Stuttgart: Thieme-Verlag, S. 4-7; 1997

 50. Gorbach SL, Menda H, Thadepalli H, Keith L
Anaerobic microflora of the cervix in healthy women
Am J Obstet Gynecol 1973; 117: 1053 – 1055

-
51. Gräser Y, Tietz H-J, Vilgalys R, Mitchell TG, Forche A, Presber W, Schönian G
Detection and application of DNA polymorphism to identify species and strains of *Candida* and to analyze the population structure of *C. albicans*
Microbiol Cult Coll 1997; 13: 11-20

 52. Greenfield RA, Bussey MJ, Stephens JL, Jones JM
Serial enzyme-linked immunosorbent assays for antibody to *Candida* antigens during induction chemotherapy for acute leukemia.
J Infect Dis 1983; 148: 275-283

 53. Grimmer H
Vulvitis (Vulvovaginitis) *Condidomycetica*
Z Haut Geschlechtskr 1968; 43,45

 54. Grillot R
Mycoses genitales
Les mycoses humaines: demarche diagnostique
Elsevier, Paris: 116-124; 1996

 55. Gurgan T, Diker KS, Hazirolu R, Urman B, Akan M
In vitro infection of human fetal membranes with *Candida* species
Gynecol Obstet Invest 1994; 37: 164-167

 56. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, et al.
Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections
J Infect Dis 1996; 174: 1058-1063

 57. Hay PE
Recurrent bacterial vaginosis
Dermatol Clin 1998; 16: 769-773

 58. Hazen KC
New and emerging yeast pathogens
Clin Microbiol Res 1995; 8: 462-478

 59. Heizmann W, Nolting S
Candida Intestinaltrakt Immunsystem Allergie
1.Auflage, Promedico, Verlag für Wiss. und Medizin, 1999

-
60. Hidalgo LA, Chedraui PA, Chavez MJ
Obstetrical and neonatal outcome in young adolescents of low socio-economic status: a case control study.
Arch Gynecol Obstet 2004

 61. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, Krohn MA
Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group
N Engl J Med 1995; 333: 1737-1742

 62. Hillier SL, Krohn MA, Klebanoff SJ, et al.
The relationship of hydrogen peroxide-producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women
Obstet Gynecol 1992; 79:369–373

 63. Holmes AR, Cannon RD, Shepherd MG, Jenkinson HF
Detection of *Candida albicans* and other yeasts in blood by PCR.
J Clin Microbiol 1994; 32: 228-231

 64. Hopfer RL, Walden P, Setterquist S, Highsmith WE
Detection and differentiation of fungi in clinical specimens using polymerase chain reaction (PCR) amplification and restriction enzyme analysis.
J Med Vet Mycol 1993; 31: 65-75

 65. Hoyme UB, Saling E
Efficient prematurity prevention is possible by pH self measurement and immediate therapy of threatening ascending infection
EurJ Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 115: 148-153

 66. Hsiang-Fa L, Chiun-Nan C, Yen C, Hsing-Wen S
Natural antimicrobial agent (reuterin) produced by *Lactobacillus reuteri* for sanitization of biological tissues inoculated with *Pseudomonas aeruginosa*
Wiley Periodicals, Inc. Biotechnol Bioeng 2003; 84: 233-239

 67. Huber A
Vulvovaginitis bei Kindern und Jugendlichen
Gynäkol Prax 1977; 1: 25-335

-
68. Ifeoma BE, Gugnani HC, Okobia R, Ojo S
Effect of contraceptives on the prevalence of vaginal colonization with *Candida* species in Edo State, Nigeria
Rev Iberoam Micol 2001; 18: 171-173
69. Ison CA
Factors affecting the microflora of the lower genital tract of healthy women
In: *Human microbial ecology*
Hill MJ, Marsh PD
CRC Press, Inc, Boca Raton: 111-130, 1984
70. Ito Vilella FJ, Aguilera ZE, Cuesta Perez-Camino A
Prevalence of vaginal candidiasis in a low-risk obstetric population in Santander
Aten Primaria 2000; 25: 103-106
71. Kamara P, Hylton-Kong T, Brathwaite A
Vaginal infections in pregnant women in Jamaica: prevalence and risk factors.
Int J STD AIDS 2000; 11: 516-520
72. Kandler O, Weiss N
Regular nonsporing gram – positive rods
Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology 1986; 2: 1208-1234
73. Kann VL
Polymerase chain reaction for the diagnosis of candidemia.
J Infect Dis 1993; 168: 779-783
74. Kimmig J, Rieth H
Mykosen und Trichomonaden
Arch Gynecol 1961; 195: 31
75. King RD, Lee JC, Morris AL
Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells
Infect Immun 1980; 27: 667-674
76. Kitch TT, Jacobs MR, McGinnis MR, Appelbaum PC
Ability of RapID Yeast Plus System to identify 304 clinically significant yeasts within 5 hours.
J. Clin. Microbiol. 1996; 34: 1069-1071

-
77. Klebanoff SJ, Hillier SL, Eschenbach DA
Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂ – generating Lactobacilli
J Infect Dis 1991; 164: 94–100

 78. Klein F
Döderlein Med
Wissenschaftliche Information; 1991

 79. Klufio CA, Amoa AB, Delamare O, Hombhanje M, Kariwiga G, Igo J
Prevalence of vaginal infections with bacterial vaginosis, Trichomonas vaginalis and Candida albicans among pregnant women at the Port Moresby General Hospital Antenatal Clinic. P N G
Med J 1995; 38: 163-171

 80. Knichwitz G
Die Bedeutung von Laktat in der Intensivmedizin
Radiometer-Info zur Zeit 1996; 7: 1-3

 81. Koenig H, Walle RJ, Krener M
Diagnosis and epidemiology of 70.000 isolated yeasts
Rev Fr Lab 1989; 197: 34-40

 82. Kreger-van Rij NJW
The Yeasts
A Taxonomic study
Amsterdam: Elsevier; 1984

 83. Kreutzig T
Biochemie
9. Auflage, Stuttgart; 1995

 84. Krivan HC
Microbial adhesion: glycolipids as possible receptors for vaginal pathogens
Orlando FL: Second International Conference on Vaginitis
March Abstract 1989; 29: 3

 85. Kruse JA, Haupt MT, Puri VK, Carlson RW
Lactate levels are predictors of the relationship between oxygen delivery and consumption
Chest 1990; 98: 959-962

-
86. Kukner S, Kuscu E, Ergin T, Gokmen O
Vaginal thrush and its management in pregnancy
J Pak Med Assoc 1995; 45: 15-16

 87. Kunzelmann V, Tietz H-J, Roßner D, Czaika V, Hopp M, Schmalreck A, Sterry W
Prerequisites for an effective treatment of chronic recurrent vaginal candidosis
Mycoses 1996; 39: 65-72

 88. Kwon-Chung KJ, Bennett JE
In: Medical Mycology. Lea & Febiger
Ed. Philadelphia, London; 1992

 89. Labhart A
Clinical Endocrinology. Theory and practice
Berlin: Heidelberg: New York, 678 ff; 1974

 90. Larsen B, Galask RP
Vaginal microbial flora: practical and theoretic relevance
Obstet Gynecol 1980; 55: 100-113

 91. Laskus A, Mendling W, Runge K, Schmidt A
Is Candida septicemia in premature infants a nosocomial infection
Mycoses 1998; 41: 37-40

 92. Levett PN
Aetiology of vaginal infections in pregnant and nonpregnant women in Barbados.
West Indian Med J 1995; 44: 96-98

 93. Linhares LM, Witkin SS, Miranda SD, Fonseca AM, Pinotti JA, Ledger WJ
Differentiation between women with vulvovaginal symptoms who are positive or negative for Candida species by culture
Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9: 221-225

 94. Lischewski A, Merkert H, Amann R, Morschhäuser J, Hacker J
Konstruktion und Charakterisierung einer Oligonukleotidsonde zum spezifischen Nachweis von Candida albicans und Candida tropicalis.
29. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft.
Dresden, 1995

-
95. Lisiak M, Klyszejko C, Pierzchalo T, Marcinkowski Z
Vaginal candidiasis: frequency of occurrence and risk factors
Ginekol Pol 2000; 1: 964-970

 96. Löffler G
Basiswissen Biochemie
Springer Verlag, Berlin: Heidelberg; 1999

 97. London J
The ecology and taxonomic status of the Lactobacilli
Ann Rev Microbiol 1976; 30: 297-301

 98. Luft D
Klinische Bedeutung der Hyperlaktatämie
Thieme Verlag, Stuttgart; 1981

 99. Maccato ML, Kaufman RH
Fungal vulvovaginitis
Curr Opin Obstet Gynecol 1991; 3: 849-852

 100. Maiwald M, Kappe RH, Sonntag G
Rapid presumptive identification of medically relevant yeasts to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis
J Med Vet Mycol 1994; 32: 115-122

 101. Makhoul IR, Sujov P, Smolkin T, Lusky A, Reichman B
Epidemiological, clinical, and microbiological characteristics of lateonset sepsis among very low birth weight infants in Israel: a national survey
Pediatrics 2002; 109: 34-39

 102. Makimura K, Murayama SY, Yamaguchi H
Detection of a wide range of medically important fungi by the polymerase chain reaction.
J Med Microbiol 1994; 40: 358-364

 103. Mahomed-Yunus SM, Sobel JS, Elhalis H, Wenjin D, Akins RA
Fungicidal Activity of Fluconazole against *Candida albicans* in a Synthetic Vagina-Simulative Medium
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2004; 48: 161-167

-
104. Mardh PA, Soltesz LV
In vitro interactions between Lactobacilli and other microorganisms occurring in the vaginal flora
Scand J Infect Dis Suppl 1983; 40: 47-51

 105. Mardh PA, Rodrigues AG, Genc M, Novikova N, Martinez-de-Oliviera J, Guaschino S
Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis: a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy
Int J STD AIDS 2002; 13: 522-39

 106. Marrazzo J
Vulvovaginal candidiasis
BMJ 2003; 326: 993-994

 107. Martius J, Krohn MA, Hillier SL, Stamm WE, et al.
Relationships of vaginal Lactobacillus species, cervical Chlamydia trachomatis and bacterial vaginosis to preterm birth
Obstet Gynecol 1988; 71: 89-95

 108. Martius G, Breckwoldt M, Pfeleiderer A
Lehrbuch der Gynäkologie und Geburtshilfe
Stuttgart: New York; 1994

 109. Mason AB, Brandt ME, Buckley HR
Enolase activity associated with a C. albicans cytoplasmic antigen.
Yeast 1989; 5: 231-239

 110. Mayaud P, Uledi E, Cornelissen J
Risk scores to detect cervical infections in urban antenatal clinic attenders in Mwanza, Tanzania.
Sex Transm Infect; 74 Suppl 1:S139-S146; 1998

 111. McGuire W, Clerihew L, Fowlie PW
Infection in the preterm infant
BMJ 2004; 329: 1277-1280

 112. Meinhof W
Dermatomykosen in der Gynäkologie
In: Weissenbacher ER, Hrsg. Mykosen in Gynäkologie und Geburtshilfe.
München, Wien, Baltimore: Urban & Schwarzenberg, S.17-22; 1989

-
113. Mendling W, Plempel M
Demonstration of pseudomycelia in the vagina, yeast infection of the rectum, and one-day therapy of vaginal candidiasis
Xth World Congress of Gynecology and Obstetrics, Abstract 1703; 1982
114. Mendling W, Schnell JD
Antepartale vaginale Hefekontamination heute
Mycoses 1984; 27: 573-578
115. Mendling W
Die Vulvovaginalcandidose
Heidelberg: Springer-Verlag; 1987
116. Mendling W
Die Vulvovaginalcandidose
Frauenarzt 1991; 32: 1071
117. Mendling W
Diagnostik bei Vulvovaginalmykosen.
In „Weissenbacher -Fluorpraktikum“
1. Auflage 77-98
Medifact Mrugalla Verlag KG; 1993
118. Mendling W
Vaginose, Vaginitis und Zervizitis
Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1995
119. Mendling W
Mykosen in der Gynäkologie und Geburtshilfe
In: Jehn U, Hrsg. Klinische Mykologie.
Landsberg: ecomed-Verlag 1997; 127-164
120. Mendling W
Neues aus der gynäkologischen Mykologie
Frauenarzt 2002; 43: 412-416

-
121. Mendling W, Seebacher C
Guideline vulvovaginal candidosis: guideline of the German Dermatological Society, the German Speaking Mycological Society and the Working Group for Infections and Mycoses 2003; 46: 365-369
122. Merlino J, Tambosis E, Veal D
Chromogenic tube test for presumptive identification or confirmation of isolates as *Candida albicans*
J Clin Microbiol 1998; 36: 1157-1159
123. Metzner G, Weissenbacher ER
Candidainfektionen des weiblichen Genitaltraktes
Medifact publishing, München, 1. Auflage 1999
124. Mijac VD, Dukić SV, Opavski NZ, Dukić MK, Ranin LT
Hydrogen peroxide producing lactobacilli in women with vaginal infections
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2006; 129: 69-76
125. Miyakawa Y, Mabuchi T, Fukazawa Y
New method for detection of *Candida albicans* in human blood by polymerase chain reaction.
J Clin Microbiol 1993; 31: 3344-3347
126. Miyakawa Y, Mabuchi T, Kagaya K, Fukazawa Y
Isolation and characterization of a species-specific DNA for detection of *Candida albicans* by polymerase chain reaction.
J Clin Microbiol 1992; 30: 894-900
127. Morace G, Sanguinetti M, Posteraro B, Lo Cascio G, Fadda G
Identification of various medically important *Candida* species in clinical specimens by PCR-restriction enzyme analysis.
J Clin Microbiol 1997; 35: 667-672
128. Moyal Barraco M
Candidosis vulvo-vaginales recidivants
Manifestations cliniques, diagnostic mycologique, facteurs favorisants, traitement
Reprod Hum Horm 1996; 9: 53-61

-
129. Müller H, Friese K
Entzündliche Erkrankungen der Vulva und Vagina
Der Gynäkologe, 2002
Springer-Verlag
130. Nalbanski B, Tsekova K, Ivanov S
Candidiasis and birth canal injuries
Akush Ginekol (Sofia) 2002; 41: 23-25
131. Nguyen MH, Peacock JE Jr., Morris AJ et al.
The changing face of candidemia:
emergence of non-Candida albicans species and antifungal resistance
Am J Med 1996; 100: 617-623
132. Niesters HGM, Goessens WHF, Meis JFMG, Quint WGV
Rapid, polymerase chain reaction-based identification assays for Candida species.
J Clin Microbiol 1993; 31: 904-910
133. Nolting S
Dermatophytosen im Genitalbereich?
1. Interdisziplinäre Brandenburgische Tagung über Genitalinfektionen
Frankfurt (Oder), 1996
134. Odds FC, Rinaldi MG, Cooper CR, Fothergill A Jr., Pasarell L, McGinnis MR
Candida and Torulopsis: a blinded evaluation of use of pseudohypha formation as
basis for identification of medically important yeasts.
J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 313-316
135. Odds FC, Bernaerts R
Chrom-agar Candida, a new differential isolation medium for presumptive
identification of clinically important Candida species.
J Clin Microbiol 1994; 32: 1923-1929
136. Odds FC
Candida infections: an overview
Crit Rev Microbiol 1987; 15: 1-5
137. Odds FC
Candida and Candidosis
2nd ed. Bailliere Tindall, London, United Kingdom; 1988

-
138. Olsson M, Elvin K, Lofdahl S, Linder E
Detection of *Pneumocystis carinii* DNA in sputum and bronchoalveolar lavage samples by polymerase chain reaction.
J Clin Microbiol 1993; 31: 221-226
139. Osset J, García E, Bartolomé RM, Andreu A.
Role of *Lactobacillus* as protector against vaginal candidiasis
Med Clin 2001; 117: 285-288
140. Persi MA, Burnham JC, Duhring JL
Effects of carbon dioxide and pH on adhesion of *Candida albicans* to vaginal epithelial cells
Infect Immun 1985; 50: 82-90
141. Peterek J
Importance of the vaginal ecosystem examination in the first trimester of pregnancy
Ginekol Pol 2003; 74: 1526-1530
142. Petersen EE
Infektionen in Gynäkologie und Geburtshilfe
4. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart; 2003
143. Pfaller MA
Infection control: opportunistic fungal infections – the increasing importance of candida species
Infect Control Hosp Epidemiol 1989; 10: 270-273
144. Pfaller MA
Epidemiology of candidiasis
J Hosp Infect 1995; 30: 329-338
145. Pradeepkumar VK, Rajadurai VS, Tan KW
Congenital candidiasis: varied presentations
J Perinatol 1998; 18: 311-316
146. Quindos G, Cabrera F, Arilla MC, Burgos A, Ortiz-Vigon R, Ponton J
Fatal *Candida famata* peritonitis in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis who was treated with fluconazole.
Clin. Infect. Dis. 1994; 18: 658-660

-
147. Quindos G, San Millan R, Robert R, Bernard C, Ponton J
Evaluation of Bichro-latex albicans, a new method for rapid identification of *Candida albicans*.
J Clin Microbiol 1997; 35: 1263-1265
148. Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP
Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and a DNA probe
J Clin Microbiol 1990; 28: 2733-2738
149. Redondo-Lopez V, Cook L, Sobel JD
Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora
Rev Infect Dis 1990; 12: 856-872
150. Reed B
Risk factors for *Candida* vulvovaginitis
Obstet Gynecol Survey 1992; 47: 551-560
151. Rehbinder D
Biochemistry.
In: Holten CH
Lactic Acid. Properties and Chemistry of Lactic Acid and Derivates.
Verlag Chemie, Weinheim, 412 – 460; 1971
152. Rex HJ, Rinaldi MG, Pfaller MA
Minireview: Resistance to candida species to fluconazole
Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1-8
153. Rieth H
Was ist Pilzdifferenzierung?
Mycoses 1973;16: 409-410
154. Rodrigues AG, Mardh PA, Pina -Vaz C, Martinez-de-Oliveira J, da Fonseca AF
Is the lack of concurrence of bacterial vaginosis and vaginal candidosis explained by the presence of bacterial amines?
Am J Obstet Gynecol 1999; 181: 376-370

-
155. Rodriguez M, Sauka D, berto De TR
Microbiologic profile in symptomatic pregnant women's genital secretions in Gran Buenos Aires, Argentina
Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 99-102
156. Rogosa M, Sharpe ME
An approach to the classification of the lactobacilli
J Appl Bacteriol 1960; 22: 3, 329 – 340
157. Rossel GA, Holst E, Milsom I, et al.
Fetal fibronectin and microorganisms in vaginal fluid of healthy pregnant women
Acta Obstet Gynecol Scand 1996 ; 75:520–525
158. Salkin IF, Land GA, Hurd NJ, McGinnis PR
Evaluation of YeastIdent and Uni-Yeast-Tek yeast identification systems.
J Clin Microbiol 1987; 25: 625–627
159. Sanchez ML, Pfaller MA, Cabezudo I, Bale M, Buschelman B
Diagnosis of disseminated candidiasis in hospitalized patients using the Cand-Tec latex agglutination assay.
Mycopathologia 1992; 118: 153-62
160. Sander A
Epidemiologie, Diagnostik und Therapie von systemischen Candidosen.
Mikrobiologie 1997; 3: 90-91
161. San-Milán R, Ribacoba L, Pontón J, Quindós G
Evaluation of a commercial medium for identification of Candida species.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15: 153-158
162. Saporiti AM, Gomez D, Levalle S, Galeano M, Davel G, Vivot W, Rodero L
Vaginal candidiasis: etiology and sensitivity profile to antifungal agents in clinical use
Rev Argent Microbiol 2001; 33: 217-222
163. Scheele C
Om Mjök, och dess Syra
Kgl Vetenskaps-Akademiens nya Handlingar
Stockholm; 1:116-124; 1780

-
164. Scherer S, Stevens A
Application of DNA typing methods to epidemiology and taxonomy of *Candida* species
J Clin Microbiol 1987; 25: 675-679
165. Schlegel R
In: Böning D, Clasing D, Weicker H
Stellenwert der Laktatbestimmung in der Leistungsdiagnostik
Stuttgart; 251; 1994
166. Schmidt-Matthiesen H
Gynäkologie und Geburtshilfe
8. Auflage, Stuttgart: New York; 1992
167. Schnell JD, Andrews P, Plempel M
Die vaginale Kontamination der weiblichen Bevölkerung einer Großstadt mit Trichomonaden und Hefen
Geburtshilfe Frauenheilk 1972; 32: 1007-1014
168. Schnell JD, Plempel M
Penicillium im Vaginalsekret.
Mycoses 1972; 15: 409-410
169. Seeliger HPR, Schütt-Gerowitt H
Medizinische Mykologie.
In: Brandis H, Köhler W, Eggert HJ, Pulverer G, Hrsg.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Stuttgart: Fischer-Verlag; 1994
170. Seliger B, Schröter C
Medizinische Mikrobiologie, Labordiagnostik und Klinik
Urban & Schwarzenberg, 2. Auflage, 1997
171. Shepherd MG, Poulter RTM, Sullivan PA
Candida albicans: biology, genetics, and pathogenicity
Ann Rev Microbiol 1985; 39: 579-614

-
172. Sherris JC
Medical Microbiology
An Introduction to Infectious Diseases
2. Auflage
Elsevier Science Publishing Co. Inc., New York; 1990
173. Shin JH, Nolte FS, Morrison CJ
Rapid identification of *Candida* species in blood cultures by a clinically useful PCR method
J Clin Microbiol 1997; 35: 1454-1459
174. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL
Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain
Antimicrob Agents Chemother 1987; 31: 1231-1233
175. Simoes JA, Giraldo PC, Faundes A
Prevalence of cervicovaginal infections during gestation and accuracy of clinical diagnosis.
Infect Dis Obstet Gynecol 1998; 6: 129-133
176. Slutsky B, Buffo J, Soll DR
High frequency switching of colony morphology in *Candida albicans*.
Science 1985; 230: 666-669
177. Sobel JD, Myer P, Levison ME
Candida albicans adherence to vaginal epithelial cells
J Infect Dis 1981; 143: 76-82
178. Sobel JD
Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis
Am J Obstet Gynecol 1985; 152: 924-935
179. Sobel JD
Candidal vulvovaginitis
Clin Obstet Gynecol 1993; 36: 153-165

-
180. Sobel JD
Vulvovaginal candidiasis
Obstetric and Gynecologic Infectious Disease
New York: Raven Press; 1994

 181. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, Reed BD, Summers PR
Vulvovaginal Candidiasis: Epidemiologic, diagnostic and therapeutic considerations
Am J Obstet Gynecol 1998; 178: 203-211

 182. Sobel JD
Treatment of vaginal Candida infections
Expert Opin Pharmacother 2002; 3: 1059-1065

 183. Soll DR
The emerging molecular biology of switching in *Candida albicans*.
ASM News 1996; 62: 415-420

 184. Sonck CE
On the Incidence of Yeast Species from Human Sources in Finland
Yeasts from Vaginal Discharge
Mycoses 1978; 21: 412-416

 185. Spinillo A, Capuzzo E, Egbe TO, Baltaro F, Nicola S, Piazzi G
Torulopsis glabrata vaginitis
Obstet Gynecol 1995; 85: 993-998

 186. Spinillo A, Nicola S, Colonna L, Marangoni F, Cavanna C, Michelone G
Frequency and significance of drug resistance in vulvovaginal candidiasis
Gynecol Obstet Invest 1994; 38: 130-133

 187. Spitzbart H
Das Vorkommen von Vaginalmykosen in der Gravidität und im Wochenbett
Geburtshilfe Frauenheilkd 1960; 2: 294-295

 188. Spitzbart H
Wird die normale Scheidenflora von einer Keimart gebildet?
Zentralbl Gynäkol 1965; 31: 1090-1099

-
189. Spitzbart H
Das Lactobacillin als Stoffwechselprodukt der normalen Scheidenflora
Zentralbl Gynäkol 1967; 90: 1575–1579
190. Stryer L
Biochemistry
4. Auflage, New York; 1995
191. Sullivan D, Coleman D
Candida dubliniensis: Characteristics and identification.
J Clin Microbiol 1998; 36: 329-334
192. Tara TS,
Current medical therapy in the prevention and treatment of preterm labour
Seminars in Fetal & Neonatal Medicine 2004; 9: 481-489
193. Tietz H-J, Czaika V
Osteomyelitis candidosa durch hochresistente *C. guilliermondii*
Mycoses; 1999
194. Thongkrajai P, Thongkrajai E, Pengsaa P, Pakarasang M
The prevalence of Chlamydia trachomatis infection in rural Thai women.
Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999; 30: 52-57
195. Valore EV, Park CH, Igreti SL, Ganz T
Antimicrobial components of vaginal fluid
Am J Obstet Gynecol 2002; 187: 561-568
196. Van Belkum A, Melchers W, De Pauw BE, Scherer S, Quint W, Meis JF
Genotypic characterization of sequential *Candida albicans* isolates from fluconazole-treated neutropenic patients
J Infect Dis 1994; 169: 1062-1070
197. Van Deventer AJM, Goessens WHF, Van Belkum A, Van Vliet HJA, Van Etten EWM, Verbrugh HA
Improved detection of *Candida albicans* by PCR in blood of neutropenic mice with systemic candidiasis.
J Clin Microbiol 1995; 33: 625-628

-
198. Villar CC, Kashleva H, Dongari-Bagtzoglou A
Role of *Candida albicans* polymorphism in interactions with oral epithelial cells
Oral Microbiol Immunol 2004; 19: 262-269
199. Vincent J
Lactate levels in critically ill patients
Acta Anaesthesiol Scand 1995; 39: 107, 261–266
200. Waggoner-Fountain LA, Walker MW, Hollis RJ
Vertical and horizontal transmission of unique *Candida* species to premature newborns
Clin Infect Dis 1996; 22: 803-808
201. Weissenbacher ER
Fluorpraktikum
4.Auflage
Medifact-publishing KG, 123; 2001
202. Weissenbacher ER, Spitzbart H
Mykosen in der Frauenheilkunde
Diagnostik und Therapie
Fluorpraktikum II.
2.überarbeitete Auflage, 7-34
München, Medifact-Publishing KG.
Ref Type: Serial (Book,Monograph); 2001
203. Whelan WL, Kirsch DR, Kwon-Chung KJ, Wahl SM, Smith PD
Candida albicans in patients with the acquired immunodeficiency syndrome:
absence of a novel or hypervirulent strain
J Infect Dis 1990; 162: 513-518
204. White S, Larsen B
Candida albicans morphogenesis is influenced by estrogen
Cell Mol Life Sci 1997; 53: 744-749
205. Wiesinger EC, Mayerhofer S, Wenisch C, Breyer S, Graninger W
Fluconazole in *Candida albicans* sepsis during pregnancy: case report and review of
the literature
Infection 1996; 24: 263-266

-
206. Wiesmann E
Medizinische Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1982
207. Willinger B, Berger A, Li L
Epidemiological analysis of *Candida* yeasts by pulsed-field gel electrophoresis
Mycoses 1994; 37: 401-403
208. Wilton L, Kollarova M, Heeley E, Shakir S
Relative risk of vaginal candidiasis after use of antibiotics compared with antidepressants in women: postmarketing surveillance data in England
Drug Saf 2003; 26: 589-597
209. Xu B, Pekkanen J, Järvelin MR, Olsen P, Hartikainen AL
Maternal infections in pregnancy and the development of asthma among offsprings
Int J Epidemiol 1999; 28: 723-727
210. Xu J, Sobel JD
Candida Vulvovaginitis in Pregnancy
Curr Infect Dis Rep 2004; 6: 445-449
211. Yim SF, Lyon DJ, Chung TK, Haines CJ
A prospective study of the microbiological environment of the genitourinary tract in Hong Kong Chinese women during pregnancy
Aust N Z J Obstet Gynaecol 1995; 35: 178-181
212. Zeek A, Eick S, Krone B, Schröder K
Chemie für Mediziner
2. Auflage, München: Wien: Baltimore, 223, 1992

8. Anhang

Schwangere mit Pilzbefund (Kontrollgruppe)

Es wurden insgesamt 24 schwangere Patientinnen mit Pilzbefund im vaginalen Bereich untersucht. In 18 der 24 Fällen wurde *Candida albicans*, in den restlichen sechs Fällen *Candida glabrata* diagnostiziert.

Pat.#1	SSW	Pilzbefund	Lactat-Messung 1	Lactat-Messung 2	Mittelwert	Alter
			mmol/l	mmol/l	mmol/l	Jahre
2	31	C. albicans	0,97	1,12	1,05	27
16	20	C. albicans	22,9	24,5	23,7	31
20	13	C. albicans	4,57	4,71	4,64	29
25	25	C. albicans	12,2	14,1	13,2	30
26	17	C. albicans	3,91	4,52	4,22	29
39	28	C. albicans	6,85	7,61	7,23	38
47	32	C. albicans	5,56	5,5	5,53	39
48	31	C. glabrata	1,68	1,61	1,65	38
50	10	C. albicans	7,69	8,09	7,89	31
51	20	C. albicans	27,8	30,5	29,2	39
55	38	C. glabrata	5,12	4,77	4,95	34
59	34	C. glabrata	11,6	12,6	12,1	39
66	38	C. glabrata	10,1	10,7	10,4	39
77	14	C. albicans	29,8	31,7	30,8	36
80	8	C. glabrata	5,94	5,68	5,81	42
81	22	C. albicans	12,1	12,3	12,2	30
98	30	C. albicans	2,1	2,14	2,12	44
99	39	C. albicans	25,5	23,4	24,5	35
101	32	C. albicans	1,03	1,1	1,07	44
111	35	C. albicans	6,19	5,91	6,05	46
113	24	C. albicans	7,89	7,57	7,73	28
170	19	C. albicans	21,1	19,8	20,45	31
171	31	C. albicans	6,63	6,57	6,6	31
176	36	C. glabrata	7,82	7,95	7,89	29

Schwangere ohne Pilzbefund (Untersuchungsgruppe)

156 gesunde schwangere Patientinnen, bei denen ein negativer Pilzbefund im Vaginalbereich diagnostiziert wurde, bilden die Untersuchungsgruppe.

Pat.#1	SSW	Lactat-Messung 1	Lactat-Messung 2	Mittelwert	Alter
		mmol/l	mmol/l	mmol/l	Jahre
1	29	4,03	4,06	4,05	38
3	17	0,39	0,41	0,4	40
4	34	1,05	0,98	1,02	33
5	35	11,3	10,1	10,7	34
6	34	8,01	8,3	8,16	27
7	29	0,17	0,15	0,16	34
8	30	13	13,2	13,1	30
9	26	0,81	1,16	0,99	27
10	29	0,26	0,37	0,32	34
11	37	10,9	11,6	11,3	34
12	8	2,03	1,95	1,99	33
13	28	13,2	11,8	12,5	36
14	16	6,73	7,87	7,3	30
15	7	4,79	5,09	4,94	29
17	14	16,7	14,1	15,4	37
18	16	7,6	7,12	7,36	35
19	22	7,69	8,57	8,13	33
21	34	7,99	6,84	7,42	33
22	15	4,99	5,34	5,17	40
23	15	2,98	2,78	2,88	24
24	28	7,76	6,45	7,11	37
27	38	7,34	6,59	6,97	38
28	20	3,98	3,47	3,73	35
29	26	4,96	5,54	5,25	33
30	35	5,54	4,74	5,14	32
31	31	11,4	10,1	10,8	36
32	14	11,5	10,7	11,1	37
33	22	6,11	7,06	6,59	40
34	27	7,8	8,33	8,07	31
35	32	6,63	6,99	6,81	33
36	16	10,2	8,52	9,36	37
37	35	6,8	6,84	6,82	36
38	36	5,28	5,42	5,35	32
40	35	4,97	5,28	5,13	33
41	22	12,6	11	11,8	38
42	25	0,52	0,45	0,49	41
43	37	2,46	2,85	2,66	37
44	36	17,7	16,5	17,1	37
45	10	1,25	1,26	1,26	32
46	6	0,92	0,9	0,91	34
49	30	5,45	5,88	5,67	36
52	40	4,21	3,92	4,07	37
53	31	2,59	2,6	2,6	38
54	32	12,5	14,5	13,5	31

Pat.#1	SSW	Lactat-Messung 1	Lactat-Messung 2	Mittelwert	Alter
		mmol/l	mmol/l	mmol/l	Jahre
56	8	1,8	1,59	1,7	34
57	18	1,64	1,52	1,58	44
58	34	7,65	8,61	8,13	34
60	37	5,86	5,88	5,87	36
61	30	8,67	9,66	9,17	35
62	37	5,11	5,24	5,18	38
63	29	21,8	18,9	20,4	30
64	35	6,08	6,63	6,36	36
65	38	7,49	7,31	7,4	35
67	38	9,6	11,2	10,4	34
68	33	6,13	7,09	6,61	38
69	17	10	11,3	10,7	31
70	38	19,9	21	20,5	33
71	12	3,27	3,53	3,4	34
72	37	15	14,9	15	38
73	37	11,2	9,68	10,4	36
74	8	8,22	8,21	8,22	38
75	37	16,4	15,9	16,2	38
76	37	9,36	9,46	9,41	31
78	27	7,22	6,84	7,03	39
79	34	3,01	3,35	3,18	41
82	34	4,65	4,43	4,54	36
83	30	7,1	6,75	6,93	38
84	35	5,87	6,87	6,37	38
85	33	3,81	4,31	4,06	41
86	35	4,48	4,52	4,5	41
87	39	5,33	5,32	5,33	36
88	36	7,74	7,83	7,79	41
89	34	11,5	9,6	10,6	30
90	34	7,45	8,22	7,84	38
91	34	4,23	4,66	4,45	37
92	27	7,03	5,99	6,51	35
93	30	4,88	4,67	4,78	39
94	37	3,77	4,12	3,95	41
95	28	13,2	13	13,1	35
96	32	15,4	16,7	16,1	38
97	37	5,11	4,69	4,9	35
100	31	10,6	10,2	10,4	35
102	24	4,05	4,46	4,26	31
103	20	16,4	14,5	15,5	33
104	36	11,7	12,1	11,9	35
105	30	3,88	3,61	3,75	32
106	28	8,5	8,62	8,56	34
107	20	2,16	1,93	2,05	28
108	22	5,12	4,86	4,99	37
109	38	17,8	16,2	17	35
110	23	16,7	14,2	15,5	37
112	34	3,33	3,54	3,44	32
114	38	5,68	6,49	6,07	29
115	40	16,4	18,2	17,3	35
116	36	8,17	8,17	8,17	31
117	37	1,9	1,7	1,8	29

Pat.#1	SSW	Lactat-Messung 1	Lactat-Messung 2	Mittelwert	Alter
		mmol/l	mmol/l	mmol/l	Jahre
118	27	4,24	4,85	4,55	25
119	9	7,64	6,5	7,07	26
120	35	2,72	2,81	2,77	31
121	33	7,49	6,68	7,09	34
122	35	10,9	11	11	40
123	28	15,9	16,4	16,2	28
124	23	10,9	10,3	10,6	32
125	31	3,63	4,2	3,92	28
126	33	1,08	1,14	1,11	34
127	14	23,4	25,1	24,3	38
128	36	8,14	7,67	7,91	33
129	28	34,7	37,8	36,3	32
130	34	8,61	9,34	8,98	37
131	35	2,65	2,54	2,6	28
132	32	6,74	6,13	6,44	34
133	35	2,59	2,29	2,44	37
134	30	16,3	15,2	15,8	29
135	39	3,88	3,58	3,73	39
136	14	7,61	6,49	7,05	28
137	13	6,61	7,2	6,91	35
138	23	8,67	8,38	8,53	34
139	22	8,68	8,76	8,72	28
140	35	24,7	25,8	25,3	32
141	39	7,83	7,91	7,87	29
142	41	7,75	7,81	7,78	34
143	15	7,89	7,8	7,85	28
144	31	2,02	1,94	1,98	32
145	34	5,27	6,06	5,67	36
146	36	1,77	1,76	1,77	33
147	20	14	15,3	14,7	29
148	38	3,41	3,98	3,7	34
149	20	8,43	9,16	8,8	36
150	36	2,1	1,77	1,94	36
151	37	2,33	2,04	2,19	37
152	27	13,4	13	13,2	27
153	23	9,49	9,08	9,29	36
154	39	1,38	1,35	1,37	33
155	36	0,31	0,38	0,35	34
156	28	9,62	10,1	9,86	29
157	25	8,99	7,31	8,15	37
158	31	4,16	4,15	4,16	27
159	38	5,85	5,52	5,69	38
160	37	5,07	4,46	4,77	29
161	26	10,7	10,5	10,6	36
162	28	28,2	27,7	28	29
163	32	5,2	4,9	5,05	31
164	35	1,46	1,46	1,46	29
165	30	7,35	7,35	7,35	36
166	18	3,89	3,76	3,83	37
167	29	9,29	9,23	9,26	30
168	26	20,1	20,7	20,4	36
169	39	5,97	5,77	5,87	36

Pat.#1	SSW	Lactat-Messung 1	Lactat-Messung 2	Mittelwert	Alter
		mmol/l	mmol/l	mmol/l	Jahre
172	33	5,04	4,66	4,85	33
173	11	2,61	2,84	2,73	35
174	12	0,54	0,49	0,52	32
175	24	13,5	14,7	14,1	31
177	37	22,9	21,5	22,2	36
178	33	2,4	2,43	2,42	37
179	19	4,87	4,96	4,92	30
180	16	9,63	8,77	9,2	32

Geräte

Gelelektrophoreseapparatur, Typ HE 33	Hoefer, San Francisco, CA / USA
Spannungsquelle, Typ EPS 500/400	Pharmacia LKB, San Francisco, CA / USA
Thermocycler, Typ 9600	Perkin Elmer, Norwalk, Connecticut / USA
Lactat-Photometer, Typ DP 100	Diaglobal GmbH Berlin, Deutschland
Tischzentrifuge, Typ Z 230 MR	Hermle, Deutschland
Pipetten, Filter-Tips PE/PP	Nerbe plus GmbH, Winsen / Luhe, Deutschland
UV-Leuchtkasten, Typ N 90	UniEquip, München, Deutschland
Vortexgerät, Typ VF 2	Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Deutschland
Wasserbad, Typ B3	Haake
Mikrowellengerät, Typ MC 653	Udo Classen GmbH Deutschland
Watteträger	
3 ml Einwegspritzen	
Eppendorfreaktionsgefäße	

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. E. R. Weissenbacher für die Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Dr. H. Spitzbart danke ich für seine unermüdliche fachliche Beratung und für die organisatorische Unterstützung.

Außerdem danke ich Herrn Dr. M. Wadepuhl für seine Hilfe bei statistischen Fragen und für seine Unterstützung bei der Interpretation und Auswertung der Messergebnisse.

Frau Dr. V. Tolbert danke ich für die fachliche Unterstützung und hilfreiche Zusammenarbeit, sowie für die Hilfe bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen.

Lebenslauf

Name: Christian Dinse

Adresse: Kaulbachstr. 35
80539 München

E-mail: chdinse@aol.com

Geburtsdatum: 11.04.1974

Geburtsort: München

Nationalität: deutsch

Familienstand: ledig

Schulabschluss: **Juni 1995** Allgemeine Hochschulreife am Maria-Theresia- Gymnasium in München

Zivildienst: **1995-1996** Klinikum rechts der Isar
der Technischen Universität München

Studium:	ab 1997	Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität München
	Juni 1998	Naturwissenschaftliche zahnärztliche Vorprüfung an der Ludwig- Maximilians-Universität München
	Juli 2000	Zahnärztliche Vorprüfung an der Ludwig-Maximilians- Universität München
	Juni 2004	Zahnärztliche Prüfung an der Ludwig-Maximilians- Universität München
	Juli 2004	Approbation als Zahnarzt von der Regierung von Oberbayern
Beruflicher Werdegang:	2004-2006	Assistenz Zahnarzt in der Gemeinschaftspraxis Dr. Rüdiger Dinse und Dr. Dr. Peter Michel in Kirchheim bei München
	seit 2006	Niedergelassener Zahnarzt in der Gemeinschaftspraxis Dr. Rüdiger Dinse, Dr. Dr. Peter Michel und ZA Christian Dinse in Kirchheim bei München