

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Medizinische Mikrobiologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Peters -

EINFLUSSNAHME METHODOLOGISCHER FAKTOREN AUF DAS ERGEBNIS
DER ANTIMYKOTIKATESTUNG UND DIE HÄUFIGKEIT DES
TRAILINGPHÄNOMENS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von: Julia Pielken

aus Lingen/Ems

2010

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. W. Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Fegeler

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Mathys

Tag der mündlichen Prüfung: 22.03.2010

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Medizinische Mikrobiologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Peters -

Referent: Prof. Dr. W. Fegeler
Koreferent: Prof. Dr. W. Mathys

ZUSAMMENFASSUNG

Einflussnahme methodologischer Faktoren auf das Ergebnis der Antimykotikatestung und die Häufigkeit des Trailingphänomens

Julia Pielken

„Trailing“ stellt ein Wachstumsphänomen dar, welches die Ablesung und Bestimmung der „Minimale Hemmkonzentration“ (MHK) bei allen standardisierten Verfahren der antimykotischen Empfindlichkeitstestung störend beeinflusst und erschwert. Deshalb wurde anhand von 25 speziellen *Candida (C. albicans)*-Stämme (MF) und internationalen Kontrollstämmen modellhaft die Einflussnahme des Nährmediums und der Inkubationszeit auf die „Minimale Hemmkonzentration“ (MHK) gegenüber Flucytosin (FCY), Amphotericin B (APH), den Azolantimykotika (Fluconazol (FLC), Voriconazol (VOR), Itraconazol (ITR)) sowie Anidulafungin (ANF) und das Trailingphänomen mittels Mikrodilutionstestung untersucht und analysiert. Als Nährmedien kamen RPMI 1640 mit und ohne Methyleneblau (0,5 mg/l) sowie Yeast Sensitivity Test Medium (YST) zum Einsatz. Alle Medien hatten eine 2%ige-Glucoseendkonzentration.

Eine signifikante Abhängigkeit der Empfindlichkeitsverteilung von der Inkubationszeit (24h/48h) zeigte sich bei APH sowie bei den Azolantimykotika, nicht aber bei FCY und ANF. Das Ausmaß, dargestellt an der Zunahme des resistenten Anteils an Isolaten, war Antimykotika-abhängig, in RPMI für die MF-Stämme: APH (36%) > ITR (12%) > VOR (9,9%) > FLC (8,9%).

Im Vergleich waren in den Methyleneblau-haltigen Medien RPMI+M 96% und YST 94% der MF-Stämme gegenüber den Azolantimykotika anhand der ermittelten MHK-Werte als sensibel einzuordnen, in RPMI waren es 82%. Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden konnte die geringste Häufigkeit des Trailing-Phänomen in YST (11%) festgestellt werden, gefolgt von RPMI+M (16%) < RPMI (45%).

In der Checkerboard-Testung wurde die Empfindlichkeit der 25 MF-Stämme sowie von 48 ausgewählten Patientenstämmen gegenüber je zwei Antimykotika in Kombination (APH+FCY, VOR+FCY, VOR+ANF) in RPMI 1640 2%-Glucose untersucht und mittels des Fractional Inhibitory Concentration-Index (FIC-Index) analysiert. Ein Antagonismus fand sich bei einigen Patientenstämmen für die Kombinationen (N/Zeit): APH+FCY: 2/24h, 3/48h; VOR+FCY: 7/48h, VOR+ANF: 2/48h. Bei Kombinationen mit FCY handelte es sich um eine Verschiebung aus dem hochempfindlichen zum sensiblen Bereich, die so mathematisch zum Antagonismus führte. Mit einem quantitativen FIC-Index von 2,5 ist der Antagonismus der beiden *C. albicans*-Stämme in der Kombination VOR+ANF als methodisch zu hinterfragen.

Ein Trailing konnte im Rahmen der Kombinationstestung nicht festgestellt werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 22.03.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Material und Methoden.....	10
2.1	Material.....	10
2.1.1	Hefestämme.....	10
2.1.2	Kontrollstämme.....	11
2.1.3	Kulturmedium.....	12
2.1.4	Antimykotika und Konzentrationsbereiche für die Bestimmung der MHK.....	13
2.1.5	Mikrotitrationsplatten.....	14
2.1.6	Photometer.....	16
2.2	Methode.....	16
2.2.1	Erstellung des Inoculums.....	16
2.2.2	Keimzahlbestimmung.....	17
2.2.3	generelle Aspekte bei Anlage der Mikrotitrationsplatte.....	17
2.2.4	Ablesung und Dokumentation.....	19
2.3	Auswertung.....	22
2.3.1	S-I-R-Klassifikation.....	22
2.3.2	Fractional Inhibitory Concentration-Index (FIC-Index).....	23
2.4	Versuche zur Empfindlichkeitstestung.....	24
2.4.1	MHK-Bestimmung mittels Mikrodilutionstestung bei <i>Candida</i> -Stämmen gegenüber verschiedenen Antimykotika.....	24
2.4.2	Einfluss des Nährmediums auf das Empfindlichkeitsverhalten von <i>Candida</i> -Stämmen.....	24
2.4.3	Einfluss des Antimykotikums, des Nährmediums und des Zeitpunkts der Ablesung auf die Häufigkeit von Trailing.....	24
2.4.4	Checkerboard-Testung und Fractional Inhibitory Concentration (FIC).....	25
3	Ergebnisse.....	26
3.1	Empfindlichkeitstestung mittels Mikrodilutionstestung der <i>Candida</i> -Stämme gegenüber verschiedenen Antimykotika.....	26
3.1.1	Empfindlichkeitsverhalten in Abhängigkeit vom <i>Candida albicans</i> -Kollektivs.....	28
3.1.1.1	<i>Candida albicans</i> -MF-Stämme.....	28
3.1.1.2	<i>Candida albicans</i> -Kontrollstämme.....	31

	3.1.2 Einfluss des Nährmediums auf die Empfindlichkeitsverteilung von <i>Candida</i> -Stämmen	34
	3.1.2.1 <i>Candida albicans</i> -MF-Stämme	38
	3.1.2.2 <i>Candida albicans</i> -Kontrollstämme	43
	3.1.3 Einfluss des Antimykotikums, des Nährmediums und des Zeitpunkts der Ablesung auf die Häufigkeit von Trailing.....	47
	3.1.3.1 <i>Candida albicans</i> -MF-Stämme	51
	3.1.3.2 Kontrollstämme	54
3.2	Fractional Inhibitory Concentration (FIC) in der Checkerboard-Testung	58
	3.2.1 Fractional Inhibitory Concentration der Kontrollstämme und der <i>C. albicans</i> -MF-Stämme	58
	3.2.1.1 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin gegenüber <i>Candida</i> -Kontrollstämmen und <i>Candida albicans</i> -MF-Stämmen	59
	3.2.1.2 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Flucytosin gegenüber <i>Candida</i> -Kontrollstämmen und <i>Candida albicans</i> -MF-Stämmen	64
	3.2.1.3 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Anidulfungin gegenüber <i>Candida</i> -Kontrollstämmen und <i>Candida albicans</i> -MF-Stämmen	67
	3.2.2 Fractional Inhibitory Concentration bei Patientenstämmen	72
	3.2.2.1 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin gegenüber Patientenstämmen	72
	3.2.2.2 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Flucytosin gegenüber Patientenstämmen	76
	3.2.2.3 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Anidulfungin gegenüber Patientenstämmen	80
4	Diskussion	86
5	Zusammenfassung	101
6	Tabellen-Anhang	103
7	Abkürzungen und Erklärungen	126
8	Literaturverzeichnis/Abbildungsverzeichnis	127
9	Danksagung	138
10	Lebenslauf	139

1 Einleitung

Invasive Mykosen und insbesondere Candidämien stellen bei erkrankungs- und therapiebedingt prädisponierten Patienten sekundäre Komplikationen mit einer immer noch hohen Letalität (25 - 50%) dar. Wobei die Zahl der prädisponierten Patienten und damit die Zahl der mykologischen Komplikationen steigt.

Die Häufigkeit und Bedeutung von Candidainfektionen wächst in den entwickelten Ländern stark an, was durch die medizinischen Möglichkeiten (Tabelle 1.1) der heutigen Zeit hervorgerufen wird (HOF 2003).

Tab. 1.1 Ursachen für den Häufigkeitsanstieg von Pilzinfektionen

- AIDS
- iatrogene Immunsuppression
- Lebenserhaltene Maßnahmen
- Häufiger Antibiotikagebrauch
- Östrogene (Schwangerschaft, Kontrazeptiva)
- Plastikkatheter
- Weltweite Reisen

Modifiziert nach Hof (2003)

Oropharyngeale Candidiasis ist die am weitesten verbreitete Komplikation bei HIV-Patienten (VARGAS 2002, GOTTFREDSSON 1999, BARCHIESI 2002, SA'NCHEZ-VARGAS 2005).

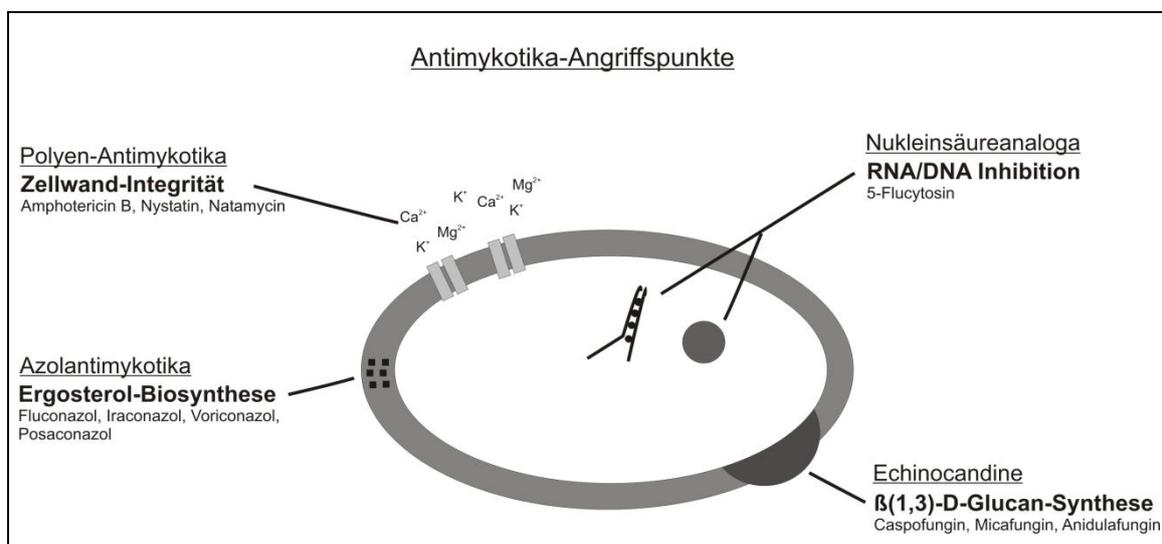
In den letzten zwei Jahrzehnten ist auch das Auftreten von Blutstrom-Infektionen durch *Candida* (*C.*) Spezies stark angestiegen (WISPLINGHOFF 2004, MARTIN 2003, SEIFERT 2007), hauptsächlich durch die vermehrten Risiko-Patienten (SEIFERT 2007). *Candida* Spezies sind die viert häufigste Ursache für diese nosocomiale Infektion mit einer Mortalität von 40% (BUSTAMANTE 2005, MANJUNATH 2007). Unter den isolierten *Candida* Spezies kommt *C. albicans* immer noch am häufigsten vor. In der Studie von MANJUNATH (2007) spiegelte sich ein typisches Verteilungsmuster der *Candida* Spezies wider: *C. albicans* (64%), *C. glabrata* (14%), *C. parapsilosis* (8%), *C. tropicalis* (6%), und *C. lusitaniae* (4%). Den einzelnen *Candida* Spezies war dabei jedoch eine unterschiedliche Mortalität zu eigen: *C. albicans*

16,3%; *C. glabrata* 36,4%, *C. parapsilosis* 0%, *C. tropicalis* 0% und *C. lusitaniae* 33,3% (MANJUNATH 2007). Dabei stellte MANJUNATH (2007) fest, dass Patienten, die mit einem nicht-Fluconazol-sensiblen Isolat ($\text{MIC} \geq 16 \mu\text{g/ml}$) infiziert waren, eine Sterblichkeitsrate von 50% im Gegensatz zu einer Sterblichkeitsrate von 18% bei denen, die mit einem Fluconazol-sensiblen ($\text{MIC} \leq 8 \mu\text{g/ml}$) Isolat infiziert waren, hatten. Das prozentuale Vorkommen von *C. albicans* bei Blutstrom-Infektionen variiert geographisch, so waren es ca. 50% in Studien aus den Vereinigten Staaten und Spanien, über 56% in einer europäischen Studie über Frankreich, Deutschland, Österreich, Spanien, Schweden und dem United Kingdom und ca. 70% in einer Studie aus Finnland (ALMIRANTE 2005, EDMOND 1999, SANDVEN 1998/2000, TORTORANO 2004, ARENDRUP 2005).

Die Behandlung invasiver Mykosen stellt nach wie vor ein Problem dar. Die Auswahl an derzeit erhältlichen Antimykotika ist begrenzt. Obwohl durch die Zunahme an neuen Antimykotika in den letzten Jahrzehnten die Behandlungsmöglichkeiten deutlich erweitert wurden, ist die Effektivität nicht immer optimal (TE DORSTHORST 2002). Bei einigen Antimykotika zeigten sich eine Toxizität sowie ein Anstieg der Resistenzen (GHANNOUM 1999, TE DORSTHORST 2002).

Die derzeit gebräuchlichen Antimykotika werden auf Grund ihrer unterschiedlichen chemischen Strukturen in verschiedene Gruppen eingeteilt, wobei die Wirkmechanismen und Angriffspunkte (Abbildung 1.1) in den Pilzzellen variieren.

Abb. 1.1 Antimykotika-Angriffspunkte



Modifiziert nach Fegeler (2007)

Zu der Gruppe der **Polyen-Antimykotika** gehören das Amphotericin B, Nystatin und Natamycin. Sie sind wasserunlöslich und nur Amphotericin B liegt in systemisch einsetzbaren Applikationsformen vor.

Amphotericin B, welches das größte Wirkungsspektrum besitzt, bindet an Ergosterin und integriert sich so in die Lipiddoppelschicht der zytoplasmatischen Membran. Durch den Zusammenschluss mehrerer Moleküle an einer Stelle kommt es zur Porenbildung in der Membran. Dies führt u. a. über den Ionenverlust der Zelle zur fungiziden Wirkung des Amphotericin B.

Bei der Gabe von konventionellem Amphotericin B, mit Natriumdesoxycholat als Lösungsvermittler, kommt es anfangs zu einem Versacken im tiefen Kompartiment mit einem anschließenden Aufbau des Wirkspiegels im Serum, was eine verzögerte Wirkung des Amphotericin B hervorruft. Aufgrund von Nebenwirkungen (Schüttelfrost, Fieber, ZNS-Störungen, Einschränkung der Nierenfunktion, Venenentzündung am Infusionsort) wird das konventionelle Amphotericin B einschleichend verabreicht, sodass eine erhöhte Anfangsdosis, um die verzögerte Wirkung zu verhindern, auszuschließen ist. Nach dem Absetzen hält die Wirkung noch einige Tage an, da es nur sehr langsam renal ausgeschieden wird.

Amphotericin B besitzt eine geringe Liquorgängigkeit mit <5% und erreicht damit im ZNS und im Auge oft nur eine unzureichend Wirkung. Auch in der Niere ist nur eine geringe Aktivität zu verzeichnen. In Leber und Milz hingegen sind die höchsten Spiegel zu finden.

Da die Affinität von Amphotericin B für Ergosterin nur 1000fach höher liegt als für Cholesterin, dem wesentlichen Fettkörper der menschlichen Zelle (HOF 2003), kommt es zur Zellschädigung vor allem der Nierenzellen, jedoch auch der Zellen der Immunabwehr.

Das liposomale Amphotericin B (Ambisome®) zeichnet sich durch eine bessere Verträglichkeit aus (WALSH 1999). Es ist sofort im Serum verfügbar durch das fehlende anfängliche Versacken im tiefen Kompartiment. In dieser Applikationsform kommt es zu einer anderen Pharmakokinetik und Pharmakodynamik, so dass eine höhere Dosierung bei jedoch besserer Verträglichkeit möglich ist. In Milz und Leber werden höhere Wirkkonzentrationen erreicht als in Herz, Niere und Lunge, je nach Größe der Liposomen.

Aufgrund des langsamen Freiwerdens der Wirksubstanz aus den Liposomen ergeben sich eine geringere Spitzenbelastung und geringere Nebenwirkungen.

Die **Nukleinsäureanaloga** stellen eine weitere Gruppe mit ihrem Vertreter 5-Fluorocytosin (Flucytosin) dar.

Flucytosin wird in der Pilzzelle von pilzspezifischen Zytosindeaminasen in 5-Fluorouracil umgewandelt. Dieses wird in der aktiven Pilzzelle anstatt von Uracil in die RNA eingebaut. Dadurch kommt es zum Abbruch der RNA-Synthese und der daraus folgenden Störung der Proteinbiosynthese. Als weiteres wird dieses Nukleosidanaloga von der Thymidylatsynthetase akzeptiert und führt somit auch zu einer Störung der DNA-Synthese und daher zu einem schnellen Absterben der Pilzzelle (HOF 2003).

Das Wirkspektrum von Flucytosin ist relativ schmal (Candida- und Cryptococcus-Arten sowie wenige Schimmel- und Schwärzepilze). Primäre Resistenzen sowie eine schnelle Resistenzentwicklung nach Exposition sind beschrieben, sodass eine Resistenzbestimmung erfolgen sollte. Als Monotherapie kommt es heute wegen der schnellen Resistenzentwicklung kaum noch zur Anwendung.

Flucytosin erreicht aufgrund seiner guten Liquorgängigkeit hohe Wirkspiegel im ZNS und Liquor. Auch im Peritoneum kommt es zu hohen Wirkkonzentrationen. Es wird schnell über die Nieren ausgeschieden, was dort ebenfalls zu einem hohen Wirkspiegel führt.

Obwohl Flucytosin gut verträglich ist, müssen während der Therapie die Nieren und andere Organe auf toxische Schäden kontrolliert werden. Eine myelotoxische Wirkung, deren Häufigkeit konzentrationsabhängig ist, kann eine Thrombopenie sowie eine verzögerte Restitution bei neutropenen Patienten verursachen, ebenso sind Transaminasenerhöhungen bekannt (HOF 2003).

Die neuste Gruppe an Antimykotika ist die der **Echinocandine**. Diese Lipopeptide inhibieren die 1,3- β -D-Glucan Synthese einem Bestandteil der Zellwand. Da die 1,3- β -D-Glucansynthase in der menschlichen Zelle nicht vorkommt, ist diese Substanzgruppe gut verträglich. Resistenzen sind selten, weil das Antimykotikum erst gar nicht in die Zelle gelangen muss, um seinen Wirkort zu erreichen und deshalb Effluxpumpen beispielsweise keine Rolle spielen. Aufgrund des unterschiedlichen Wirkmechanismus gegenüber den anderen Antimykotikaklassen stellen die Echinocandine gute Partner für eine antimykotische Kombinationstherapie dar.

Anidulafungin, ein neues halbsynthetisches Echinocandin, welches 2007 zugelassen wurde, wird aus einem Fermentationsprodukt von *Aspergillus nidulans* hergestellt. Durch die Störung der Zellwandintegrität kommt es zur Beeinträchtigung der Pilzzelle,

teilweise auch zum Absterben. Das Wirkspektrum von Anidulafungin umfasst vor allem die Hefen der Gattung *Candida*, wobei *C. parapsilosis* ausgenommen ist. Die Gabe von Anidulafungin erfolgt intravenös. Die Proteinbindung beträgt 99%. Der Abbau erfolgt durch Peptidasen mit anschließender überwiegender Elimination über die Galle mit einer Halbwertszeit von ca. 24h. Sein Anwendungsgebiet sind die invasiven Candidosen bei nicht neutropenischen, erwachsenen Patienten. Es zeigte sich im Vergleich mit Fluconazol eine signifikant bessere Wirksamkeit bei invasiven Candidosen (REBOLI 2007). Seine Verträglichkeit ist besser als bei den Azolantimykotika. Es zeichnet sich durch eine gute Toleranz seitens der Patienten aus (SUCHER 2009). Die häufigsten bekannten Nebenwirkungen bei der Behandlung sind erhöhte Werte von Leberenzymen, Hautausschläge, Juckreiz, Hypokaliämie, Hitzewallungen, Kopfschmerzen, gastrointestinale Störungen sowie Störungen der Blutgerinnung.

In der Gruppe der Azolantimykotika gibt es eine neuere Untergruppe, die **Triazole**. Die Triazole inhibieren die Ergosterin Synthese, den wichtigsten Lipidbaustein der zytoplasmatischen Membran. Sie binden an das Enzym 14 α -Demethylase, einem Enzym der Zytochrom P450 Gruppe, welches Ergosterin aus der Vorstufe Lanosterin bildet, und hemmen dieses. Durch das Fehlen der Bausteine kommt es zu einer Störung der Membranfunktion. Die Affinität der Triazole zu den Zytochrom P450 Enzymen der Pilzzellen ist um vieles höher als zu denen der menschlichen Zellen. Neben Nebenwirkungen wie die Hemmung der Leberenzyme spielen Druginteraktion mit anderen Medikamenten, die über Zytochrom P450 abgebaut werden, eine entscheidende Rolle und bedürfen bei der Therapie einer Beachtung. So kann es zu einer extremen Erhöhung oder Verringerung des Wirkspiegels der beteiligten Medikamente kommen. Da jeder Mensch ein unterschiedliches Muster an Isoenzymen von Zytochrom P450 besitzt, kann das Ausmaß der Nebenwirkungen der Azole sehr unterschiedlich sein.

Einige resistente *C. albicans* Isolate zeigten eine Veränderung des Targets. Desweiteren wurden bei einigen *C. albicans* Isolaten nach einer Langzeittherapie Resistenzen festgestellt. Diese konnten auf eine verstärkte Aktivierung von Effluxpumpen, der CDR-Gruppe und der Major Facilitator (MDR1)-Gruppe, zurückgeführt werden, die die Azolantimykotika von den Zytochromenzymen fernhalten. Es besteht eine unterschiedliche partielle Parallelresistenz unter den Azolantimykotika.

Folgende Triazolantimykotika kamen in der vorliegenden Arbeit zur Anwendung:

Fluconazol ist gut wasserlöslich, sodass neben der oralen Gabe auch eine parenterale möglich ist. Es besitzt eine sehr gute Wirksamkeit gegen Sprosspilze jedoch keine Wirksamkeit gegenüber Schimmelpilzen. Außerdem zeichnet es sich durch eine hohe Bioverfügbarkeit aus. Aufgrund der geringen Proteinbindung kommt es zu einer guten Verteilung in den Körperflüssigkeiten wie auch im Liquor. Die Ausscheidung erfolgt über die Nieren. Fluconazol wird als Prophylaxe nach Knochenmarkstransplantationen, Bauchchirurgie mit Leckage und bei Leukämiepatienten verwendet, wobei hier zu beachten ist, dass es zu einer Verlängerung der Phase der Neutrozytopenie kommen kann (HOF 2003).

Voriconazol ist ein neueres Triazolantimykotikum, mit einer sehr guten Wirksamkeit gegen Candida- und Aspergillus- Arten sowie anderer Schimmelpilze. Es zeigt sogar eine Wirkung bei einigen Candida Isolaten, die gegenüber Fluconazol und Itraconazol resistent sind. Nach einer oralen Gabe hat es eine Bioverfügbarkeit von 96%. Voriconazol ist gut gewebe- und liquorgängig, es wird in der Lunge 10fach, in der Leber 20fach angereichert. Für eine i.v. Gabe muss die lipophile Substanz in Cyclodextrin gelöst werden. Die Dissoziation von dieser Substanz erfolgt im Körper schnell. Es muss beachtet werden, dass Cyclodextrin eine Toxizität und Darmintoleranz besitzt. Die Ausscheidung von Voriconazol erfolgt über die Leber. Die Verträglichkeit von Voriconazol ist relativ gut, bis auf einzelne reversible Sehstörungen (Farbsehstörungen, verschwommenes Sehen, optische Halluzinationen, Photophobie (HOF 2003)).

Itraconazol besitzt ein breites Wirkspektrum. Es zeigt auch eine Wirksamkeit bei einigen Hefepilzen, die gegen Fluconazol resistent sind. Wegen seiner hohen Bindung an Proteine (99%) und Blutzellen erreicht es in den Körperflüssigkeiten, wie im Liquor nur geringe Wirkspiegel, dagegen ist seine Konzentration in Fettgewebe und Granulationsgewebe hoch. Itraconazol wird schnell metabolisiert und über die Leber ausgeschieden, jedoch ist zu beachten, dass auch der Hauptmetabolit Hydroxyitraconazol noch die vollständige antimykotische Wirkung besitzt. Dieser Metabolit ist im Gegensatz zu Itraconazol wasserlöslich und kann in das ZNS hinein diffundieren sowie in den Schleimhäuten wirken. Für eine i.v. Gabe und bessere orale Resorption muss das lipophile Itraconazol wie Voriconazol mittels Cyclodextrin in eine hydrophile Form überführt werden. Cyclodextrin wird über die Niere ausgeschieden. Bei der Gabe von Itraconazol ist mit einem verzögerten Wirkeintritt zu rechnen, der

über eine „loading dose“ verringert werden kann. Itraconazol eignet sich für die Behandlung empfindlicher Pilze, zur Konsolidierung von Patienten nach Amphotericin B Initialtherapie, sowie zur Prophylaxe. Da es unterschiedlich resorbiert wird, ist bei oraler Gabe z.B. im Rahmen einer Konsolidierungstherapie einer akuten Mykose ein entsprechender Wirkspiegel sicher zu stellen. Auf Grund eines anders gearteten Therapiekonzeptes gilt dies nicht für die Therapie von Dermatomykosen.

Das unterschiedliche Empfindlichkeitsverhalten bei Hefen führte zur Entwicklung von standardisierten Testmethoden (NCCLS M27-A2 (2002), DIN 58940-84 (2002), EUCAST (2002)). Sie unterscheiden sich z.B. im Nährmedium, im Inoculum, der Glucosekonzentration, dem Puffersystem und dem Ablesezeitpunkt (Tabelle 1.2). Jedoch bieten diese einzelnen Komponenten ihre jeweiligen Probleme.

So gibt das CLSI-Protokoll im Gegensatz zu den anderen Testmethoden als Ablesezeitpunkt 48h vor, was für die Untersuchung von langsam wachsenden Pilzen vorteilhaft ist. Jedoch ist für die Patiententherapie eine frühzeitigere Bestimmung (24h) wünschenswert und wichtig. ESPINEL-INGROFF (2005) zeigte in ihrer Studie, dass die bei 71 *Candida* spp. nach 24h und 48h visuell abgelesenen MHK-Werte gegenüber den Azolantimykotika Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol und Voriconazol zu 97-99% übereinstimmten. Die Grundlage für diese Studie stellte das M27-A2 Protokoll der CLSI dar. In einer weiteren Studie verglich ESPINEL-INGROFF (2005) die EUCAST und die CLSI Methode. Dabei fand sie, dass es bei der Untersuchung der Antimykotika Fluconazol und Voriconazol mit 92-95% eine häufigere Übereinstimmung der MHK-Werte gab, als bei den Antimykotika Itraconazol und Posaconazol mit 85-91%. Außerdem war die Übereinstimmung der EUCAST und CLSI MHK-Werte bei der Ablesezeitpunkt nach 24h (90-95%) höher als nach 48h (85-94%).

Auch die zugefügte Glucosekonzentration führt zu unterschiedlichen Ergebnissen. So konnte OSTROSKY-ZEICHNER (2003) in seiner Studie auf der Grundlage des CLSI Protokolls M27-A2 zeigen, dass bei einer Erhöhung der Glucosekonzentration in dem Medium RPMI 1640 auf 2% die MHK-Werte gegenüber Anidulafungin, Caspofungin und Itraconazol anstiegen, jedoch gegenüber Fluconazol und Voriconazol sanken. Kein Trailing-Wachstumsphänomen trat bei *Candida albicans* Isolaten gegenüber Fluconazol und Voriconazol bei einer modifizierten Form der CLSI Methode auf. Die Modifikation bestand in einer Erhöhung der Glucosekonzentration des RPMI-Mediums auf 2% und einer Festlegung der „MHK“ bei einer Wachstumsinhibition von 50% (Girmenia et al. 2000).

Tab. 1.2 Empfindlichkeitstestung im Methodenvergleich

Methodenvergleich	NCCLS M 27 A	DIN 58940-84	EUCAST
Zielgruppe	Hefen	Hefen	fermentierende Hefen
Platte	Microtiter 96 U	Microtiter 96 U	Microtiter 96 F
Gesamtvolumen	200 µl Röhrchen 1 ml 12x75 mm	200 µl	200µl
Medium	RPMI 1640 ⁺	HR-Medium* (+ 0,5 mg /L Methylenblau)	RPMI 1640 ⁺ Amphotericin B: Antibiotic medium 3
Glucose- Konz.	0,2%	2 %	RPMI 2% / AM3 2%
Puffer	MOPS	Phosphatpuffer	MOPS
pH	6,9 – 7,1 (25°C)	6,8 – 7,2	7,0 ± 0,2
Inoculum (Zellen/ml)	0,5 – 2,5x10 ³	1 – 5 x 10 ⁴	0,5 – 2,5x10 ⁵ in Aqua destilata
Temperatur (°C)	35°C	36°C ± 1 °C	35°C – 37°C
Auswertung nach	46-50 h	18 ± 2 h 24 ± 2 h + 48 ± 2 h	24 h
<i>C.neoformans</i>	70 – 74 h	48 + 72 h	entfällt
visuell / photometrisch	visuell	visuell	photomet. z.B. 530 nm . Leerwertabzug
Ablese-Hilfen	80 % Inhibition	80 % Inhibition	Endpunkt : 50% Inhibition (MIC50%) 5FC + Azole MIC 80% : AmB

MOPS = 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid; pH7 = Endkonzentration 0,165 mol/L

⁺ RPMI 1640 mit Glutamin ohne Bicarbonat * mod. nach Schmalreck 0,2 mol Phosphatpuffer, Asparagin 1,5 g/L

Modifiziert nach Fegeler (2006)

In der Empfindlichkeitstestung der Azolantimykotika sowohl nach den Vorgaben des CLSI Protokolls M27-A2 wie des DIN-Protokolls 58940-84 als auch bei anderen methodischen Ansätzen erweist sich die Endpunktbestimmung bei einem Teil der Isolate als problematisch. Sie zeigen ein Wachstumsphänomen, das sogenannte Trailingphänomen, ein partielles Wachstum über einen unterschiedlich ausgedehnten Bereich der ansteigenden Antimykotikakonzentrationen nach dem visuell erkennbaren Trübungseinbruch, der den Wert der „minimalen Hemmkonzentration“ (MHK-Wert) kennzeichnet. Dieses Phänomen wird besonders bei der Verwendung von Azolantimykotika wie Fluconazol und Itraconazol beobachtet (ARTHINGTON-SKAGGS 2002). ARTHINGTON-SKAGGS et al. beobachteten im Jahr 2000, dass ungefähr 5% aller *Candida albicans* Isolate im Test gegenüber Azolantimykotika Trailing aufwiesen. Dieses Trailingwachstum kann so ausgeprägt sein, dass ein nach 24h „sensibel“ bewerteter Stamm nach 48h „resistent“ erscheint. Dies bedeutet, dass Isolate, die ein Trailing aufweisen, eher als „sensibel“ als als „resistent“ eingestuft werden sollten (ARTHINGTON-SKAGGS 2002). Bei auftretendem Trailingphänomen stimmen die 24h-in-vitro Ergebnisse mit den in-vivo Ergebnissen überein (ARTHINGTON-SKAGGS 2000/2002, REX et al. 1998)

In der antimykotischen Empfindlichkeitsbestimmung erweist sich das Trailingphänomen immer wieder als Hindernis, da eine einheitliche Bestimmung der MHK insbesondere gegenüber Azolantimykotika nicht selten nur schwer möglich ist. Daraus resultieren häufig unterschiedliche Bewertungen sowohl der MHK als auch des Trailingphänomens wie oben beschrieben.

Daher war es Ziel dieser Arbeit modellhaft den Einfluss verschiedener Nährmedien auf die MHK-Ergebnisse sowie die Häufigkeit des Trailingphänomens unter Berücksichtigung der Inkubationszeit bei verschiedenen Antimykotika-Klassen zu untersuchen. Aufbauend auf diese Ergebnisse wurden dann ausgesuchte Antimykotika-Kombinationen mittels Checkerboard-Testung unter dem Gesichtspunkt des Trailing-Phänomens sowie einer zusätzlichen Therapieoption hinterfragt.

2 Material und Methoden

Grundlage der Versuchsreihen

Die Empfindlichkeitstestungen wurden in Anlehnung an das amerikanische CLSI (Clinical Laboratory Standardization Institut, früher National Committee for Clinical Laboratory Standards = NCCLS) Protokoll M27-A2 durchgeführt, das für die in vitro Bestimmung der MHK (minimale Hemmkonzentration= MIC) von Hefen inklusiv *Candida* (C.) Spezies und *Cryptococcus* Spezies mittels Mikrodilution erstellt wurde.

2.1 Material

2.1.1 Hefestämme

Es wurden 73 Hefestämme mit unterschiedlicher Herkunft, Art und Problematik untersucht.

Darunter befanden sich 25 *Candida* (C.) *albicans*-Stämme (gekennzeichnet mit MF) aus einer Studie von RUHNKE et al. zum Forschungsthema „Resistenzentwicklung, Resistenzmechanismen und Virulenzverhalten von Hefen (C. albicans) gegen Antimykotika vom Typ der Triazole“ der Abteilung Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie, Charité Campus Virchow Klinikum, Humboldt-Universität zu Berlin aus dem Jahre 1997/1998, die einen Trailing-Effekt aufwiesen.

Desweiteren kamen 48 Hefestämme aus der klinischen Routinediagnostik des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der Westfälischen Wilhelms-Universität, gewonnen aus unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien zur Verwendung (Tabelle 2.1).

Tab.2.1 Patientenstämme

Genus/Species	BNR
C. albicans	MZ 569
C. albicans	MZ 563 I
C. albicans	MZ 420 I
C. albicans	MZ 238
C. albicans	MY 7474
C. albicans	MZ 1161
C. albicans	MZ 685
C. albicans	MZ 590
C. albicans	MZ 588
C. albicans	MZ 586 I
C. albicans	MZ 1369
C. albicans	MZ 1204
C. albicans	MZ 1173
C. albicans	MZ 923
C. albicans	MZ 837 II
C. albicans	MZ 1559
C. albicans	MZ 1537
C. albicans	MZ 1440 I
C. albicans	MZ 1420
C. albicans	MX 74
C. albicans	MY 6363
C. albicans	MY 6372
C. albicans	MY 6194
C. albicans	MY 6130

Genus/Species	BNR
C. albicans	MZ 1490
C. albicans	MZ 1486
C. albicans	MY 6555
C. albicans	MY 6559
C. albicans	MZ 1551
C. albicans	MZ 1553
C. albicans	MZ 1563
C. albicans	MZ 1569
C. albicans	MZ 1571
C. albicans	MZ 1579
C. albicans	MY 4659
C. albicans	MZ 1452
T. asahii	MZ 563 II
C. glabrata	MZ 196
C. glabrata	MZ 174
C. glabrata	MZ 601
C. glabrata	MZ 961
C. glabrata	MZ 1461 I
C. glabrata	MZ 1481
C. glabrata	MZ 1478
C. glabrata	MY 4622
C. glabrata	MY 4256
C. krusei	MZ 425 I
C. krusei	MY 4511

2.1.2 Kontrollstämme

Zur mykologischen Qualitätskontrolle wurden verschiedene Kontrollstämme eingesetzt. Zum einen kamen drei Kontrollstämme der American Type Culture Collection (ATCC) zum Einsatz (Tabelle 2.2). Diese wurden bei jeder Versuchsreihe verwendet.

Desweiteren wurden 15 Kontrollstämme der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen (DSMZ) eingesetzt (Tabelle 2.2). Diese kamen bei den Versuchen zur Sensibilitätstestung der Hefestämme sowie bei den Versuchen zum Einfluss der Nährmedien auf die Sensibilität der Stämme zur Anwendung.

Tab. 2.2 Kontrollstämme

Kontrollstamm-Nr.	Genus/Spezies
ATCC 90028	<i>C. albicans</i>
ATCC 6258	<i>C. krusei</i>
ATCC 20019	<i>C. parapsilosis</i>
DSM 11224	<i>C. parapsilosis</i>
DSM 11226	<i>C. glabrata</i>
DSM 11943	<i>C. albicans</i>
DSM 11944	<i>C. albicans</i>
DSM 11945	<i>C. albicans</i>
DSM 11946	<i>C. albicans</i>
DSM 11948	<i>C. albicans</i>
DSM 11949	<i>C. albicans</i>
DSM 11950	<i>C. glabrata</i>
DSM 11951	<i>C. tropicalis</i>
DSM 11952	<i>C. tropicalis</i>
DSM 11953	<i>C. tropicalis</i>
DSM 11955	<i>C. parapsilosis</i>
DSM 11956	<i>C. krusei</i>
DSM 11957	<i>C. krusei</i>

Die Aufbewahrung und Konservierung der einzelnen Stämme erfolgte in Gefrierbänken bei -70°C bzw. -20°C , nachdem die Gattungs- und Artidentifizierung an Hand der Mikromorphologie und Biochemie der Hefen (BARNETT et al. 1983, LODDER 1971) sowie teilweise durch den API ID32C der Firma BioMérieux durchgeführt worden war.

2.1.3 Kulturmedien

Für die Anzucht der Primärkultur nach dem Ausfrieren der Hefestämme wurde Kimmig-Agar (Merck, Darmstadt, #1.05414) als Nährboden verwendet. Nach einer Bebrütung bei 37°C über 24h wurde die Hefe erneut überimpft und für weitere 24h bei 37°C kultiviert. Die so erhaltene Reinkultur diente als Ausgangskultur für den vorgesehenen Versuchsansatz.

Im Rahmen der Versuche kamen die in Tabelle 2.3 aufgeführten Flüssigmedien zur Anwendung. Alle Medien wurden falls notwendig auf eine Glucoseendkonzentration von 2% eingestellt.

Tab. 2.3 Flüssigmedien im Überblick

Medien	Hersteller	Nr.	Glucoseendkonzentration (Anfangskonzentration)	Puffersystem, pH-Wert
RPMI 1640	Biochrom	#T121-01	2% (0,2%)	MOPS pH 7.0
RPMI+M*	Biochrom	#T121-01	2% (0,2%)	MOPS pH 7.0
YST	Sefin	TN1283	2% (2%)	Dinatriumhydrogen-Phosphat-Puffer; pH 7.0
MH+M*	Mast	MD170	2% (2%)	Kein Puffersystem; pH ca. 7.2

*0,5mg/l Methylenblau

Die Herstellung der Medien erfolgte gemäß Herstellerangaben.

Für die Erstellung von Suspensionen (z.B. als Basis für die Inoculum-Verdünnung) wurde physiologische Kochsalzlösung (0,9%) verwendet.

2.1.4 Antimykotika und Konzentrationsbereiche für die Bestimmung der MHK

Die Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) wurde im Mikrodilutionsverfahren mittels Mikrotitrationsplatten (Fa. Merlin Diagnostika GmbH, Bornheim-Hersel, Germany) durchgeführt. Die Antimykotika lagen vorverdünnt in einer geometrischen Verdünnungsreihe mit dem Faktor 2 in dehydrierter Form in den einzelnen Kavitäten der Mikrotitrationsplatten vor. Die Rehydrierung der Antimykotika erfolgte durch die Zugabe des Inoculums im entsprechenden Kulturmedium in die Plattenkavitäten. In Abhängigkeit der jeweiligen Fragestellung kamen unterschiedliche Mikrotitrationsplatten zur Anwendung, die sich in ihren Antimykotika-Belegungen und -konzentrationen unterschieden (Tabelle 2.4):

Tab. 2.4 Belegung der Mikrotitrationsplatten (Antimykotika und Konzentrationsbereiche)

Plattentyp-E1-804-200	
Antimykotikum	Konzentration in mg/l
5-Fluorocytosin (FCY)	0,0625 - 64
Fluconazol (FLC)	0,0625 - 64
Voriconazol (VOR)	0,0078125 - 8
Itraconazol (ITR)	0,0078125 - 8

Plattentyp-E1-814-200	
Antimykotikum	Konzentration in mg/l
Amphotericin B (APH)	0,03125 - 32
5-Fluorocytosin (FCY)	0,03125 - 32
Voriconazol (VOR)	0,03125 - 32
Anidulafungin (ANF)	0,03125 - 32

Plattentyp-E1-811-100 (Kreuztitration)	
Antimykotikum	Konzentration in mg/l
Amphotericin B (APH)	0,125 - 8
5-Fluorocytosin (FCY)	0,0625 - 32

Plattentyp-E1-812-100 (Kreuztitration)	
Antimykotikum	Konzentration in mg/l
Voriconazol (VOR)	0,25 - 16
5-Fluorocytosin (FCY)	0,0625 - 32

Plattentyp-E1-813-100 (Kreuztitration)	
Antimykotikum	Konzentration in mg/l
Voriconazol (VOR)	0,25 - 16
Anidulafungin (ANF)	0,03125 - 16

2.1.5 Mikrotitrationsplatten

Vom Aufbau der Platten (96-Loch-Flachboden-Mikrotitrationsplatten, Micronaut-AM, Merlin Diagnostika) ließen sich zwei Grundmuster unterscheiden.

Zum einen handelte es sich um die Mikrotitrationsplatten von Typ E1-804-200 und E1-814-200 (Abbildung 2.1). Diese Platten waren zweifach mit jeweils vier verschiedenen Antimykotika beschickt, so dass zwei Ansätze pro Platte möglich waren. Jede Zeile dieser Platten bildete eine diagnostische Einheit, mit einer Antimykotika-konzentrationszunahme in einer geometrischen Verdünnungsreihe um den Faktor 2 von der Kavität 1-11 (E1-804-100) bzw. in umgekehrter Reihenfolge von Kavität 11-1 (E1-814-200).

Abb. 2.3 Antimykotika-Beschickung E1-812-100 in mg/l

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		FCY 32	FCY 16	FCY 8	FCY 4	FCY 2	FCY 1	FCY 0,5	FCY 0,25	FCY 0,125	FCY 0,0625	
B	VOR 16	32 16	16 16	8 16	4 16	2 16	1 16	0,5 16	0,25 16	0,125 16	0,0625 16	
C	VOR 8	32 8	16 8	8 8	4 8	2 8	1 8	0,5 8	0,25 8	0,125 8	0,0625 8	
D	VOR 4	32 4	16 4	8 4	4 4	2 4	1 4	0,5 4	0,25 4	0,125 4	0,0625 4	
E	VOR 2	32 2	16 2	8 2	4 2	2 2	1 2	0,5 2	0,25 2	0,125 2	0,0625 2	
F	VOR 1	32 1	16 1	8 1	4 1	2 1	1 1	0,5 1	0,25 1	0,125 1	0,0625 1	
G	VOR 0,5	32 0,5	16 0,5	8 0,5	4 0,5	2 0,5	1 0,5	0,5 0,5	0,25 0,5	0,125 0,5	0,0625 0,5	
H	VOR 0,25	32 0,25	16 0,25	8 0,25	4 0,25	2 0,25	1 0,25	0,5 0,25	0,25 0,25	0,125 0,25	0,0625 0,25	

2.1.6 Photometer

Neben einer visuellen wurde eine photometrische Auswertung durchgeführt. Das quantitative Wachstum der Hefestämme bildete dabei die Grundlage für die Messung der optischen Dichte.

Die Messung erfolgte mit einem Titertek Multiscan® MCC/340 Photometer (EFLAB, Helsinki, Finland) bei einer Wellenlänge von 620nm (Filter-Code 7).

2.2 Methode

2.2.1 Erstellung des Inoculums

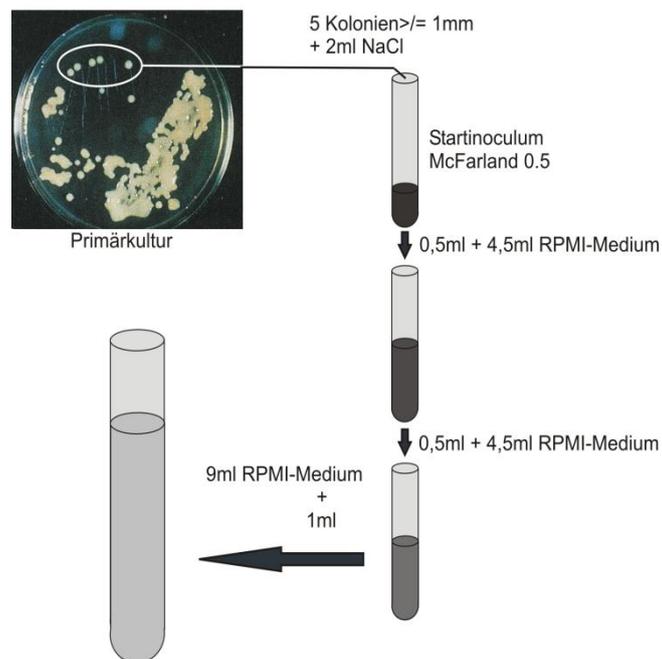
Die Herstellung des Inoculums erfolgte in Anlehnung an die Standard-Methode (CLSI M27-A2, DIN 58940-84).

Zuerst wurde eine Primärkultur im Drei-Ösen-Ausstrich auf Kimmig-Agar erstellt.

Nach einer Inkubation von 48h bei 37°C wurden 5 einzeln liegende Kolonien mit einer sterilen Öse vom Agar abgenommen und in 2ml 0,9%-NaCl gelöst (direct colony method). Durch evtl. weiteres Zufügen von NaCl und gleichmäßiges Durchmischen (15sec mit dem Vortex-Gerät) wurde mit Hilfe eines Densitometers (Densimat (bio-Mérieux, Germany)) die Suspension auf 0.5 McFarland (0.5 McFarland = ca.10⁶-10⁷KBE/ml= 5 Kolonien in 2ml) eingestellt. Diese Suspension wurde als Startinoculum bezeichnet.

In einer dreistufigen Verdünnungsreihe jeweils 1:10 wurde das Startinoculum für die Mikrodilution in entsprechend den für den Ansatz zu verwendenden Nährmedien verdünnt (Abbildung 2.4)

Abb. 2.4 Erstellen des Inoculums



2.2.2 Keimzahlbestimmung

Von jedem Inoculum wurde die Keimzahl mittels des Nachweises der Kolonie bildenden Einheiten (CFU = Colony Forming Unit) bestimmt. Dabei wurden 10 μ l von der 1:1000 verdünnten Suspension in einem Acht-Ösen-Ausstrich auf Kimmig-Agar ausgestrichen. Nach einer Inkubationsdauer von 48h erfolgte die Zählung und Protokollierung der CFU/ml.

2.2.3 generelle Aspekte bei Anlage der Mikrotitrationsplatte

Beschicken der Mikrotitrationsplatten

Bei den einfachen Mikrotitrationsplatten (E1-804-200/E1-814-200) wurden 200 μ l der 1:1000 verdünnten Inoculumsuspension in jede Kavität der Zeilen A-D und Spalten 1-

12 pipettiert. In die Kavitäten der Zeilen E-H und Spalten 1-12 wurde die Inoculum suspension eines anderen Hefestammes gegeben. Mit **Ausnahme** der Kavitäten A12 und E12, in diese wurde nur Medium als Leerwert pipettiert. In den Kavitäten der Spalte 12 befand sich wie oben gezeigt kein Antimykotikum, daher wurden die Kavitäten D12 und H12 als Wachstumskontrolle (GC = growth control = Wachstumskontrolle) geführt. In den restlichen Kavitäten der Spalte 12, die ebenfalls nur Suspension beinhalteten, wurde nach 24h bzw. 48h der 80%ige Inhibitionswert erstellt (s. unten).

Bei den Checkerboard-Platten (E1-811-100/E1-812-100/E1-813-100) wurde in Kavität A12 nur das Medium als Leerwert pipettiert, die Kavitäten F12, G12, H12 blieben leer, alle anderen Kavitäten wurden mit 200µl der Inoculum suspension versehen. Auch hier befand sich in den Kavitäten der Spalte 12 kein Antimykotikum, sodass in der Kavität B12 die Wachstumskontrolle 24h, in Kavität D12 die Wachstumskontrolle 48h geführt werden konnte. In der Kavität C12 wurde nach 24h, in der Kavität E12 nach 48h der 80%ige Inhibitionswert erstellt.

Inkubation

Jeweils fünf Platten wurden gestapelt, wobei die oberste mit einer selbstklebenden Schutzfolie verschlossen wurde. Zusätzlich wurden sie in ein Hydrofort gestellt, um die Verdunstung des Mediums während der Inkubation bei $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ für 24h bzw. 48h zu verhindern.

Erstellen des 80%igen Inhibitionswertes

Nach 24h Inkubation wurden die Kavitäten B12 und F12 (E1-804-200/E1-814-200) bzw. C12 (E1-811-100/E1-812-100/E1-813-100) resuspendiert und 160µl der Suspension entnommen und verworfen. Die Kavitäten wurden mit 160µl des entsprechenden Mediums wieder auf 200µl aufgefüllt. Die erhaltene Keimdichte in der Suspension entsprach einer 80%igen Inhibition der Keime.

Nach 48h Inkubation erfolgte die Erstellung des 80%igen Inhibitionswertes nach der gleichen Methode wie nach 24h, jedoch in den Kavitäten C12 und G12 (E1-804-200/E1-814-200) bzw. E12 (E1-811-100/E1-812-100/E1-813-100).

Die Trübung des 80%igen Inhibitionswertes bildete den Referenzwert bei nicht eindeutig festlegbarer MHK. Dieser Wert wurde zur Festlegung der MHK bei visueller und photometrischer Ablesung benötigt.

2.2.4 Ablesung und Dokumentation

Das Ablesen erfolgte nach 24 h und nach 48 h. Zuvor musste die Schutzfolie entfernt und die Platten an der Unterseite von evtl. Kondenswasser befreit werden.

Es waren unterschiedliche Wachstumsformen der einzelnen Hefestämme zu erkennen. Einige wiesen eine komplette Trübung in den Kavitäten, andere eine Knopfbildung, wieder andere eine Kahlhautbildung (z.B. *C. krusei*) auf.

Minimale Hemmkonzentration (MHK)

Als minimale Hemmkonzentration wird in Abhängigkeit vom Wirkmechanismus des Antimykotikums allgemein die niedrigste Konzentration des Antimykotikums bezeichnet, bei der das Wachstum des Hefestammes komplett gehemmt, also keine Trübung mehr vorhanden ist, bzw. ein eindeutiger Einbruch der Trübung in der Verdünnungsreihe stattgefunden hat.

Jede diagnostische Einheit wurde einzeln abgelesen und die MHK bestimmt.

Besonderheit bei der Ablesung

Trailing-/ Persisting-Effekt

Wenn die Hefestämme nach einem Trübungseinbruch bei steigender Antimykotikakonzentration weiter wuchsen und eine Kontamination der Kavitäten ausgeschlossen werden konnte, so wurden zwei Durchwachsungseffekte unterschieden.

- Lag eine Abnahme der Trübung bei steigender Antimykotikakonzentration vor, so wurde dies als „Trailing“ bezeichnet und mit „T“, ergänzt mit der Nummer der Spalte, in der das Phänomen zum ersten mal nicht mehr auftrat, gekennzeichnet und protokolliert, z.B. T6.
Trat dieses Phänomen auch noch in Spalte 11 bzw. bei Platte E1-814-200 auch noch in Spalte 1 auf, so wurde es mit „T12“ bzw. „<T1“ gekennzeichnet.

- Blieb der Grad der Trübung nach dem Punkt der festgelegten MHK bei steigender Antimykotikakonzentration konstant oder annähernd gleich (Abnahme der Trübung $\leq 10\%$), so wurde dies als „Persisting“ bezeichnet und mit „P“, ergänzt mit der Nummer der Spalte, in der das Phänomen zum ersten mal nicht mehr auftrat, gekennzeichnet und protokolliert.
Wurde dieser Effekt auch noch in Spalte 11 bzw. bei Platte E1-814-200 noch in Spalte 1 nachgewiesen, so wurde dies mit „P12“ bzw. „<P1“ bezeichnet.

Visuelle Ablesung

Das visuelle Ablesen erfolgte ohne Aufschütteln. Konnte kein eindeutiger Trübungseinbruch festgestellt werden, so musste die MHK mittels des 80%igen Inhibitionswertes bestimmt werden. Für diesen Vergleich musste die jeweilige diagnostische Einheit resuspendiert werden, da der 80%ige Inhibitionswert ebenfalls in resuspendiertem Zustand war. Als MHK wurde die Konzentration bezeichnet, bei der eine deutlich geringere Trübung als bei dem 80%igen Inhibitionswert vorlag.

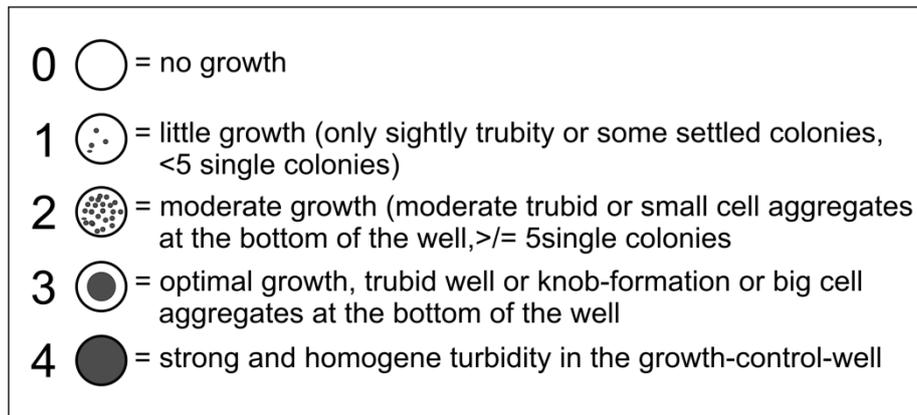
Lag beim Ablesen kein sichtbares Wachstum in der diagnostischen Einheit vor, jedoch in der Wachstumskontrolle, so wurde die niedrigste auf der Mikrotitrationsplatte befindliche Antimykotikakonzentration als MHK festgesetzt.

Bei starkem Wachstum in der Plattenkavität mit der höchsten Antimykotikakonzentration wurde die um den Faktor 2 höhere Konzentration als MHK festgelegt.

Growth Control Code (GCC) und Wachstumskontrolle

Visuell wurde die Wachstumskontrolle bei jeder MHK-Bestimmung abgelesen (24h/48h). Der Grad des Wachstums in der Wachstumskontrolle wurde mittels einer Skala (GCC) eingeteilt (Abbildung 2.5). Dabei waren der Grad der Trübung sowie auch die Formation des Zellwachstums ausschlaggebend. Um von einem ausreichenden Wachstum in den Kavitäten ausgehen zu können, musste das Wachstum der Wachstumskontrolle den GCC >2 auf der Skala betragen.

Abb.2.5 Einteilung der Stärke des Wachstums der Wachstumskontrolle



Laboranweisungen: MHK-Basis-Check (Fegeler, W., Med. Mikrobiologie
Universitätsklinikum Münster)

Die MHK-Werte und die Werte der Wachstumskontrolle wurden zuerst in einem mit den Mikrotitrationsplatten mitgelieferten Formular protokolliert und später zur Auswertung in tabellarische Form mit oben beschriebener Kennzeichnung überführt.

Photometrische Ablesung

Bevor der Trübungsgrad photometrisch gemessen werden konnte, wurden die Mikrotitrationsplatten mittels des VARI-Shaker (Dynatech, Deckendorf, Germany) für eine Minute gleichmäßig durchmischt.

Anhand der von dem Photometer ermittelten Absorptionswerte konnte der Trübungseinbruch, d.h. die MHK-Werte, festgelegt werden. Hierzu wurden die gemessenen Absorptionswerte jeder diagnostischen Einheit mit dem 80%igen Inhibitionswert verglichen. Es wurde der Wert als MHK festgelegt, der kleiner als der 80%igen Inhibitionswert war.

Trailing- und Persisting-Effekte konnten ebenfalls anhand der Absorptionswerte festgestellt werden. Als Persisting wurde das Wachstum bezeichnet, das in seiner gemessenen Dichte zwischen MHK und dem Ende dieses Phänomens bei steigender Antimykotikakonzentration weniger als 10% abnahm. Als Trailing wurde das Wachstum bezeichnet, das nach der Kavität mit der festgelegten MHK nachgewiesen wurde, jedoch in den Dichtewerten mehr als 10% abnahm.

Die Kennzeichnung der MHK-Werte, der Trailing- und Persisting-Effekte erfolgte wie oben beschrieben. Anschließend wurden die Ergebnisse in tabellarischer Form protokolliert.

2.3 Auswertung

2.3.1 S-I-R-Klassifikation

Die einzelnen Antimykotika bzw. Antimykotikagruppen weisen unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften und Wirkmechanismen auf, was einen direkten Vergleich der MHK-Ergebnisse nicht zulässt. Daher wurden die quantitativen MHK-Ergebnisse mittels der dem Antimykotikum zugehörigen Breakpoints in die entsprechenden Sensibilitätsklassen (SC) „Sensibel“, „Intermediär“ und „Resistent“ (S-I-R-Klassifikation) überführt. Die für die Einteilung in die Sensibilitätsklassen relevanten Konzentrationen (Breakpoints) sind nach NCCLS M27-A2 bzw. DIN 58940-84 für die einzelnen Antimykotika festgelegt (Tabelle 2.5).

Zurzeit gibt es jedoch nicht für jedes Antimykotikum international anerkannten Breakpoints.

Tab. 2.5 Grenzwerte (Breakpoints) der S-I-R Sensibilitätsklassen

Empfindlichkeitsklasse	Sensibel	Intermediär	Resistent
Antimykotikum	mg/l	mg/l	mg/l
FCY ¹	≤ 4,0	> 4 - < 32	≥ 32
AmB ²	≤ 0,25	> 0,25 - < 1	≥ 1
FCL ¹	≤ 8	< 8 - > 64	≥ 64
VOR ³	≤ 1,0	> 1 - < 4	≥ 4
ITR ¹	≤ 0,125	> 0,125 - < 1	≥ 1
ANF ²	≤ 0,5 - ≤ 2		> 2
FCY = Flucytosin AmB = Amphotericin B FLC = Fluconazol			
VOR = Voriconazol ITR = Itraconazol ANF = Anidulafugin			
¹ NCCLS M27 A2 ² in Diskussion ³ CLSI tentative 01/2005			

2.3.2 Fractional Inhibitory Concentration-Index (FIC-Index)

Mittels Kreuztitration können zwei Antimykotika in Kombination getestet und quantifiziert werden.

Zur mathematischen Berechnung der Quantität wird der Fractional Inhibitory Concentration-Index herangezogen (PILLAI et al. 2005).

FIC-Wert = Quotient der MIC von A in Kombination (MIC-Ac) geteilt durch MIC-A allein:

$$\text{FIC-A} = \text{MIC-Ac} / \text{MIC-Aa}$$

FIC-Index = Summe der FIC-Werte der einzelnen Substanzen der Kombination A plus B:

$$\text{FIC-Index A+B} = \text{FIC-A} + \text{FIC-B}$$

Mittels des errechneten quantitativen FIC-Index kann eine qualitative Bewertung der Medikamentenkombination in Bezug auf ihre gemeinsame antimikrobielle Wirkung auf der Basis von 4 qualitativen Bewertungsstufen erfolgen (Tabelle 2.6).

Tab. 2.6 Bewertung des FIC-Index (ELIOPOULOS, MOELLERING 1991)

<u>Bewertung</u>	
quantitativ	qualitativ
≤ 0,5	Synergismus
> 0,5 - <1	Additivität
≥ 1- ≤ 2	Indifferenz
> 2	Antagonismus

2.4 Versuche zur Empfindlichkeitstestung

2.4.1 MHK-Bestimmung mittels Mikrodilutionstestung bei *Candida*-Stämmen gegenüber verschiedenen Antimykotika

Es wurden für die einzelnen *Candida*-Stämme die MHK-Werte der Antimykotika ermittelt, um die Hefeisolate gegenüber denen anderer Untersuchungen und Studien positionieren zu können. Bei dieser Versuchsreihe wurden die Mikrotitrationsplatten E1-804-200 und E1-814-200 verwendet. Als Nährmedium wurde RPMI 1640-2.0%-Glucose verwendet. Nach 24h und 48h erfolgte jeweils die Ablesung und Auswertung.

2.4.2 Einfluss des Nährmediums auf das Empfindlichkeitsverhalten der *Candida*-Stämme

Bei diesem Versuch zum Einfluss der Nährmedien auf die Empfindlichkeit wurde die Mikrotitrationsplatte E1-804-200 eingesetzt. Als Nährmedien wurden RPMI 1640-2.0% Glucose, RPMI+M, YST und MH+M verwendet. Nach 24h und 48h wurde visuell abgelesen und die MHK bestimmt.

2.4.3 Einfluss des Antimykotikums, des Nährmediums und des Zeitpunkts der Ablesung auf die Häufigkeit von Trailing

Es stellte sich bei dem Auftreten des Trailingphänomens die Frage welchen Einfluss das Antimykotikum, das Nährmedium und der Zeitpunkt der Ablesung auf dessen Nachweishäufigkeit hat. Bei dieser Versuchsreihe wurde die Mikrotitrationsplatte E1-804-200 verwendet. Als Nährmedien wurden RPMI 1640-2.0%-Glucose, RPMI+M, YST und MH+M verwendet. Nach 24h und 48h erfolgte die Ablesung und Auswertung.

2.4.4 Checkerboard-Testung und Fractional Inhibitory Concentration (FIC)

Mittels Checkerboard-Testung wurde der Frage nachgegangen in wie weit sich bei der Kombination zweier Antimykotika mit unterschiedlichen Wirkmechanismen ein antimikrobieller Vorteil oder Nachteil in vitro darstellen lässt.

Diese Versuchsreihe erfolgte mit der Verwendung der Checkerboard-Platten E1-811-100 (FCY/APH), E1-812-100 (FCY/VOR) und E1-813-100 (ANF/VOR). RPMI 1640-2.0% Glucose wurde als Nährmedium verwendet. Die Ablesung erfolgt nach 24h und 48h. Die quantitative bzw. qualitative Auswertung wurde mittels der Berechnung der Fractional Inhibitory Concentrations (FIC) und des FIC-Indexes durchgeführt.

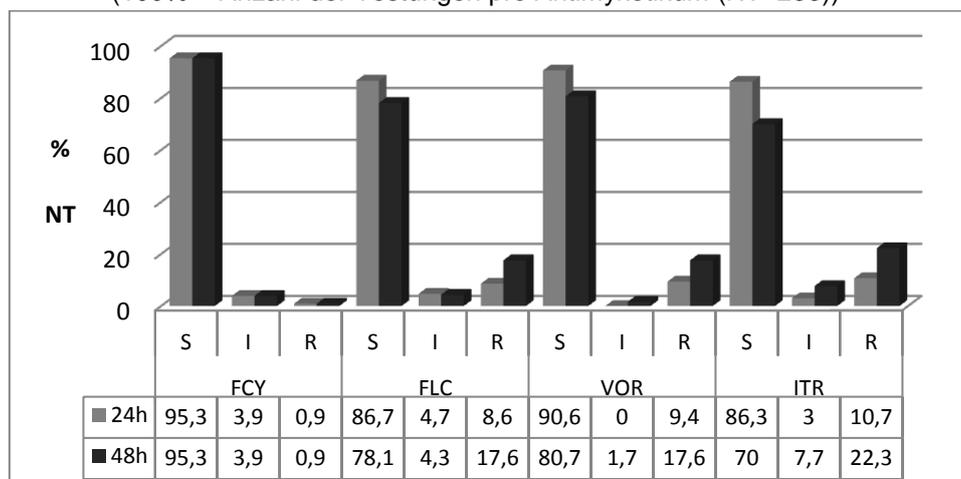
3 Ergebnisse

3.1 Empfindlichkeitstestung mittels Mikrodilutionstestung der *Candida*-Stämme gegenüber verschiedenen Antimykotika

Bei einem ausgewählten Testkollektiv aus 43 *Candida*-Stämmen wurde die Empfindlichkeit gegenüber den Antimykotika Flucytosin (FCY), Amphotericin B (APH), Fluconazol (FLC), Voriconazol (VOR), Itraconazol (ITR) und Anidulafungin (ANF) untersucht. Das Testkollektiv setzte sich wie folgt zusammen: 25 *Candida albicans*-Stämme (MF) sowie ATCC- und DMS-Kontrollstämme mit folgender Speziesverteilung 7 *Candida (C.) albicans*, 2 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 3 *C. parapsilosis* und 3 *C. tropicalis*. Als Nährmedium diente RPMI 1640-2.0%-Glucose. Um die Empfindlichkeiten vergleichen zu können, wurden die ermittelten MHK-Werte anhand der entsprechenden Breakpoint-Werte in die S-I-R-Klassifikation überführt (s. Material und Methoden: Auswertung).

Ein erster Überblick ergibt sich aus der Auswertung der Empfindlichkeitsverteilung des Testkollektivs als Gesamtes (Abbildung 3.1 und 3.2).

Abb. 3.1 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber verschiedenen Antimykotika nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=233))

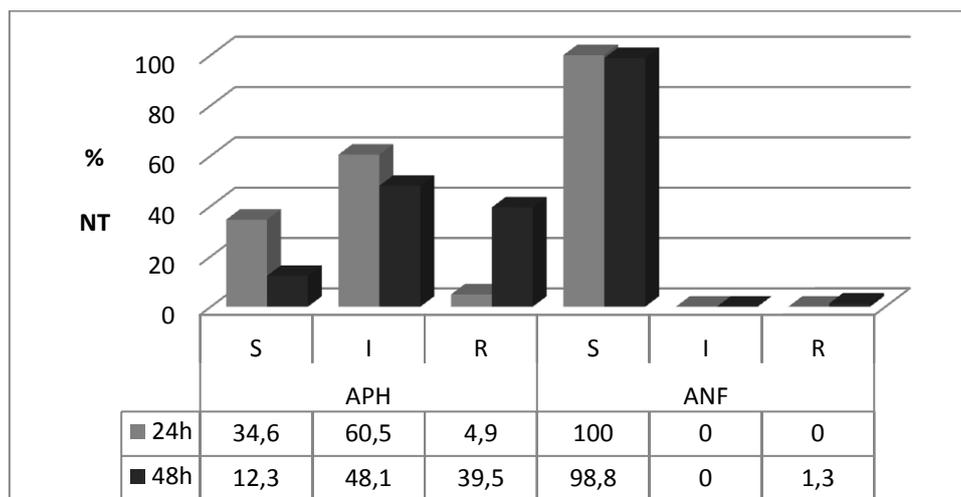


Gesamtkollektiv: *C.albicans*-MF-Stämme, *C.albicans* Kontrollstämme, *C.glabrata* Kontrollstämme, *C.krusei* Kontrollstämme, *C.parapsilosis* Kontrollstämme, *C.tropicalis* Kontrollstämme
 Medium: RP=RPMI 1640

Gegenüber Flucytosin zeigte sich, dass 95,3% der ermittelten MHK-Werte nach 24h und 48h in der Sensibilitätsklasse „S“ (sensibel) lagen.

Bei der Untersuchung der drei Azolantimykotika Fluconazol, Voriconazol und Itraconazol ergab sich ebenfalls ein Schwerpunkt für die MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ sowohl nach 24h als auch nach 48h. Mit 90,6% nach 24h und 80,7% nach 48h lag der Prozentsatz der MHK-Werte in dieser Klasse gegenüber Voriconazol etwas höher als bei Fluconazol und Itraconazol mit ca. 86,5% nach 24h und ca. 74% nach 48h. In der Klasse „R“ (resistent) verdoppelte sich bei allen drei Antimykotika der Anteil der MHK-Werte nach 48h (Fluconazol 8,6% 24h, 17,6% 48h; Voriconazol 9,4% 24h, 17,6% 48h; Itraconazol 10,7% 24h, 22,3% 48h). Diese inkubationszeitabhängige Veränderung des Anteils in der Sensibilitätsklasse „R“ war signifikant ($P < 0,05$).

Abb. 3.2 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber **Amphotericin B** (APH) und **Anidulafungin** (ANF) nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=81 APH/ 80 ANF))



Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans Kontrollstämme, C.krusei Kontrollstämme, C.parapsilosis Kontrollstämme

Medium: RP=RPMI 1640

Für Amphotericin B hingegen fand sich der Schwerpunkt der MHK-Werte nach 24h (60,5%) und 48h (48,1%) in der Sensibilitätsklasse „I“ (intermediär). Auffällig stellte sich auch die signifikante Zunahme in der Klasse „R“ bei diesem Antimykotikum dar. So konnten nach 24h 4,9% der MHK-Werte in dieser Klasse nachgewiesen werden, nach 48h dagegen 39,5% (Abbildung 3.2).

Gegenüber Anidulafungin konnten nach 24h 100% und nach 48h 98,8% der MHK-Werte der Sensibilitätsklasse „S“ zugeordnet werden.

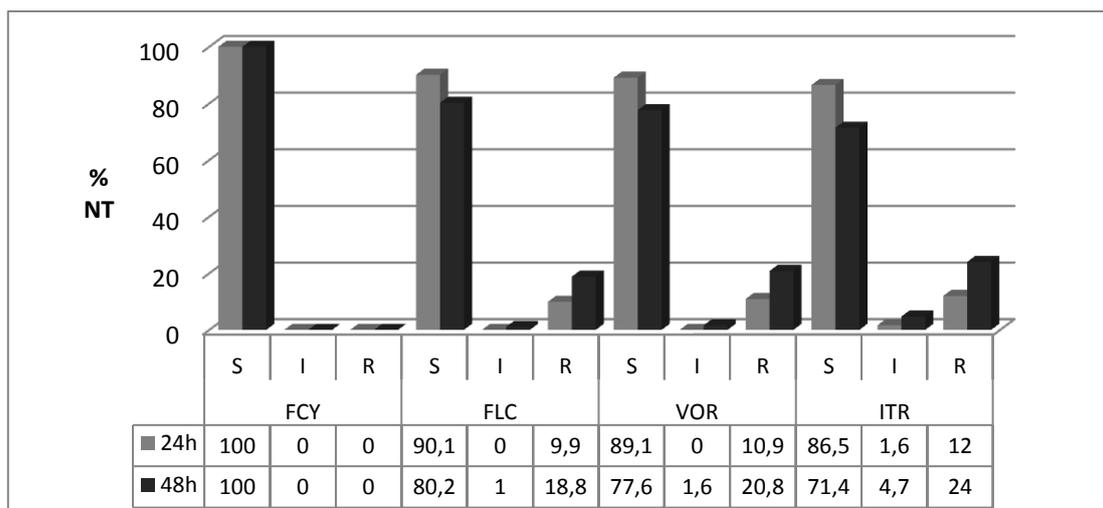
Sowohl für Amphotericin B als auch für Anidulafungin sind die hier benutzten Breakpoints der S-I-R Klassifikation noch in der Diskussion.

3.1.1 Empfindlichkeitsverhalten in Abhängigkeit vom *C. albicans*-Kollektiv

Da es sich bei den *C. albicans* MF-Isolaten um Stämme handelte, die teils das besondere Wachstumsphänomen „Trailing“ besaßen, wurden im Folgenden die Empfindlichkeitsverteilung der MF-Stämme und der *C. albicans*-Kontrollstämme gesondert analysiert.

3.1.1.1 *Candida albicans*-MF-Stämme

Abb. 3.3 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber verschiedenen Antimykotika nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=192))



Medium: RP=RPMI 1640

Gegenüber Flucytosin befanden sich alle ermittelten MHK-Werte nach 24h und 48h in der Sensibilitätsklasse „S“ (Abbildung 3.3).

Gegenüber allen drei Azolantimykotika konnte die Mehrzahl der MHK-Werte der Sensibilitätsklasse „S“ zugewiesen werden. So lag der Anteil der sensiblen Isolate für die Azolantimykotika gemittelt nach 24h bei 88,6% und nach 48h bei 76,4. Der gemittelte Anteil der MHK-Werte in der Klasse „R“ zeigte eine gegenläufige Tendenz mit 10,9% nach 24h und 21,2% nach 48h. Diese inkubationszeitabhängigen Veränderungen erwiesen sich für die einzelnen Azolantimykotika (Tabelle in

Abbildung 3.3) sowohl für die Abnahme des sensiblen Anteils als auch für die Zunahme des resistenten Anteils als signifikant ($P < 0,01$).

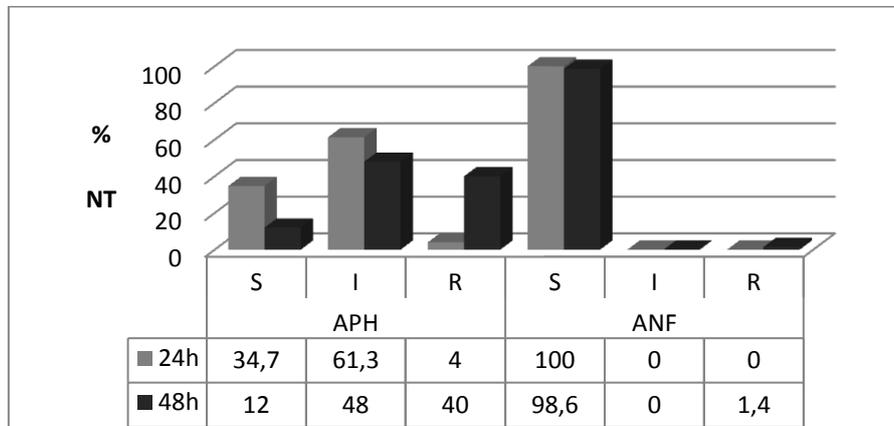
Die inkubationszeitabhängigen Veränderungen bei den Azolantimykotika wurden mittels einer Empfindlichkeitsmuster-Analyse (Susceptibility Pattern Analysis) innerhalb jeder einzelnen Untersuchung analysiert. Die Auswerttechnik wurde als Resistance-Pattern-Analysis 1988 von FEGELER et al. beschrieben. Die S-I-R-Klassifizierungen nach 24h und 48h bildeten dabei ein Muster (Pattern) (z.B. Einstufung nach 24h = S und nach 48h = I; Pattern = SI). Die Auswertung der Fragestellung erfolgte also für jeden Erreger einzeln im gleichen Versuchsansatz. Hierdurch entfallen die methodischen Faktoren als konstant. Im Anschluss an die Pattern-Bildung erfolgte die Analyse der numerischen Häufigkeiten der verschiedenen Patternmuster in der Gesamtuntersuchung (Tabelle 3.1).

Tab. 3.1 Empfindlichkeitspattern-Analyse der *C. albicans*-MF-Stämme (n) (N=192)

unveränderte Sensibilität				Abnahme des Anteils "S"				Zunahme des Anteils "R"				Überspringen einer Sensibilitätsklasse			
Pattern	FLC	VOR	ITR	Pattern	FLC	VOR	ITR	Pattern	FLC	VOR	ITR	Pattern	FLC	VOR	ITR
SS	154	149	137	SI	2	3	7	SR	17	19	22	SR	17	19	22
II	0	0	2	SR	17	19	22	IR	0	0	1				
RR	19	21	23												

Dabei fand sich in der Mehrzahl der Testungen eine gleiche Empfindlichkeit (Pattern: SS; II, RR) zu beiden Ablesezeitpunkten. Ein inkubationszeitabhängiges Überspringen einer Sensibilitätsstufe (Pattern: SR) zeigte sich gegenüber jedem Azolantimykotikum bei den Stämmen MF 06, MF 08, MF 12-16, MF 23-25 in mindestens einer Testung. Eine Verschiebung in die nächsthöhere Sensibilitätsklasse (Pattern SI: FLC n=2, VOR n=3, ITR n=7; IR: ITR n=1) erfolgte selten. (Detaillierte Darstellung der Empfindlichkeits-Pattern-Analyse Tabelle 6.5, s. Anhang)

Abb. 3.4 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Amphotericin B** (APH) und **Anidulafungin** (ANF) nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=75 APH/74 ANF))



Medium: RP=RPMI 1640

Bei der Untersuchung von Amphotericin B (Abbildung 3.4) lag der Schwerpunkt der MHK-Werte nach 24h (61,3%) und 48h (48%) in der Sensibilitätsklasse „I“. Es zeigte sich nach 48h eine signifikante Zunahme des als resistent zu bewertenden Anteils an Isolaten (4% nach 24h, 40% nach 48h).

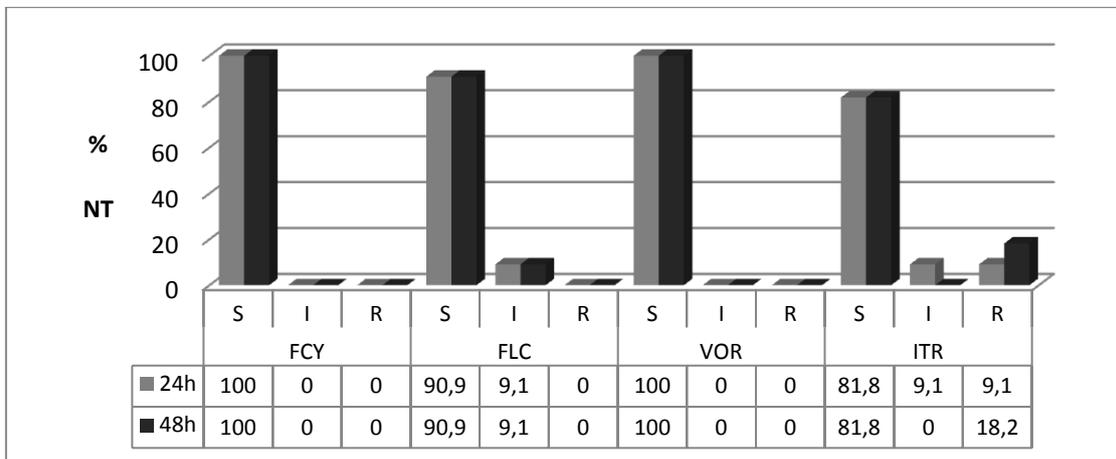
Auch die inkubationszeitabhängigen Veränderungen bei Amphotericin B wurden mittels einer Empfindlichkeitsmuster-Analyse (Susceptibility Pattern Analysis) innerhalb jeder einzelnen Untersuchung analysiert.

Es fand sich, dass eine gleiche Empfindlichkeit (Pattern: SS; II, RR) zu beiden Ableszeitpunkten bei 32 von 75 Testungen vorlag. Für die Verringerung des sensiblen Anteils ergaben sich die nachfolgenden Häufigkeiten (n): Pattern: SI n=16; SR n=1 von 75 Testungen. Für die Zunahme des resistenten Anteils zeigten sich die Häufigkeiten (n): Pattern: SR n=1; IR n=26 von 75 Testungen. Es handelte sich also bei 42 der 75 Testungen um eine Verschiebung von einer Sensibilitätsklasse in die nächst höhere (Pattern SI; IR) und bei einer Testung (MF 16) um ein Überspringen einer Sensibilitätsklasse (Pattern: SR).

Gegenüber dem Echinocandin-Antimykotikum Anidulafungin veränderte nur ein Stamm (MF 23 „S“ 24h, „R“ 48h) in einer der Mehrfachtestung seine Empfindlichkeit. So wurde er nach 24h der Sensibilitätsklasse „S“, nach 48h der Sensibilitätsklasse „R“ zugewiesen. Alle anderen Stämme zeigten sich sowohl nach 24h als auch nach 48h und bei Mehrfachtestung sensibel.

3.1.1.2 *Candida albicans*-Kontrollstämme

Abb. 3.5 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-Kontrollstämme gegenüber verschiedenen Antimykotika nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=11))



Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Medium: RP=RPMI 1640

Die Ergebnisse der Auswertung der *C. albicans*-Kontrollstämme sind in Abbildung 3.5 dargestellt.

100% der MHK-Werte konnten nach 24h und 48h gegenüber Flucytosin der Sensibilitätsklasse „S“ zugewiesen werden.

Bei den Azolantimykotika konnten gegenüber Voriconazol nach 24h und 48h alle MHK-Werte als sensibel (Klasse „S“) eingeordnet werden. Gegenüber Fluconazol waren es in dieser Klasse nach 24h und 48h 90,9%, gefolgt von Itraconazol mit 81,8%. Bei Itraconazol war jedoch im Unterschied zu den anderen Azolantimykotika ein größerer Anteil (9,1% 24h, 18,2% 48h) der MHK-Werte nach 48h der Klasse „R“ zuzuordnen.

Gegenüber Amphotericin B fand sich nach 24h ein MHK-Wert in der Sensibilitätsklasse „S“ und einer in der Klasse „I“ (nur Kontrollstamm ATCC 90028 getestet). Nach 48h verteilten sich die beiden MHK-Werte auf die Sensibilitätsklassen „I“ und „R“.

Gegenüber Anidulafungin fanden sich nach 24h und 48h alle ermittelten MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“.

Zusammenfassend entfiel bei den *C. albicans*-MF-Stämmen die Mehrzahl der MHK-Werte nach 24h ($\geq 86,5\%$) und 48h ($\geq 71,4\%$) gegenüber den Azolantimykotika auf die Sensibilitätsklasse „S“. Es konnte eine inkubationszeitabhängige Abnahme der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ und eine Zunahme in der Klasse „R“ aufgezeigt werden, die sich als signifikant erwiesen.

Gegenüber den Antimykotika Anidulafungin und Flucytosin fanden sich $\geq 98\%$ der MHK-Werte des *C. albicans*-MF-Kollektivs nach 24h und 48h in der Klasse „S“.

Als Ausnahme im Vergleich mit den anderen Antimykotika stellte sich Amphotericin B dar. Gegenüber Amphotericin B zeigte sich im MF-Kollektiv der Schwerpunkt der MHK-Werte immer in der Sensibilitätsklasse „I“. Nach 48h konnte eine signifikante Abnahme des sensibel eingestuften Anteils sowie eine signifikante Zunahme des resistenten nachgewiesen werden.

Bei dem Kollektiv der *Candida albicans*-MF-Stämme zeigte sich nach 48h gegenüber den Azolantimykotika das Trailing-Wachstumsphänomen, ein partielles Wachstum über einen unterschiedlich ausgedehnten Bereich von Antimykotikakonzentrationen nach dem MHK-Wert. Wurde der Trailingendpunkt (Trailing-MHK) als MHK bestimmt, so ergab sich eine unterschiedliche MHK-Verteilung gegenüber der MHK-Bestimmung nach der 80%-Inhibitionsmethode (Abbildung 3.6-3.8 und Tabelle 6.7, s. Anhang).

Gegenüber Flucytosin und Anidulafungin zeigten die Hefeisolate nach 48h kein Trailing, gegenüber Amphotericin B wurde das Trailingphänomen nur bei 2 Stämmen in jeweils einer Testung festgestellt.

Abb. 3.6 Verteilung der MHK¹- und Trailing-MHK²-Werte der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber **Fluconazol** nach 48h (N = 192 Testungen)

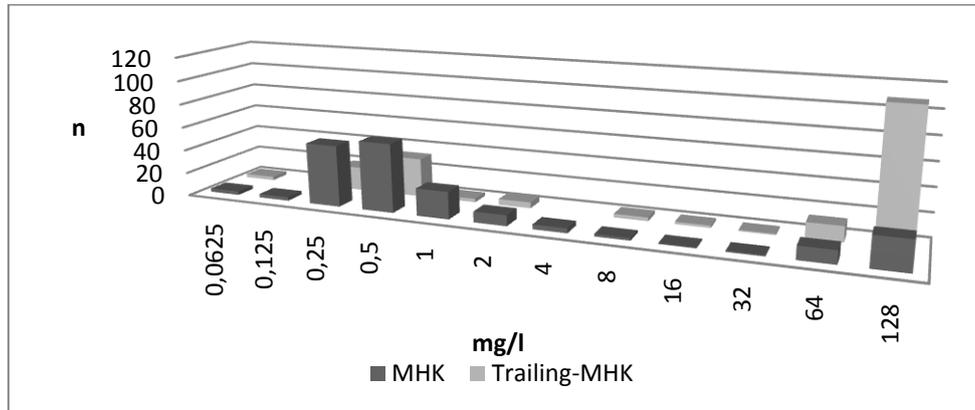


Abb. 3.7 Verteilung der MHK¹- und Trailing-MHK²-Werte der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** nach 48h (N = 192 Testungen)

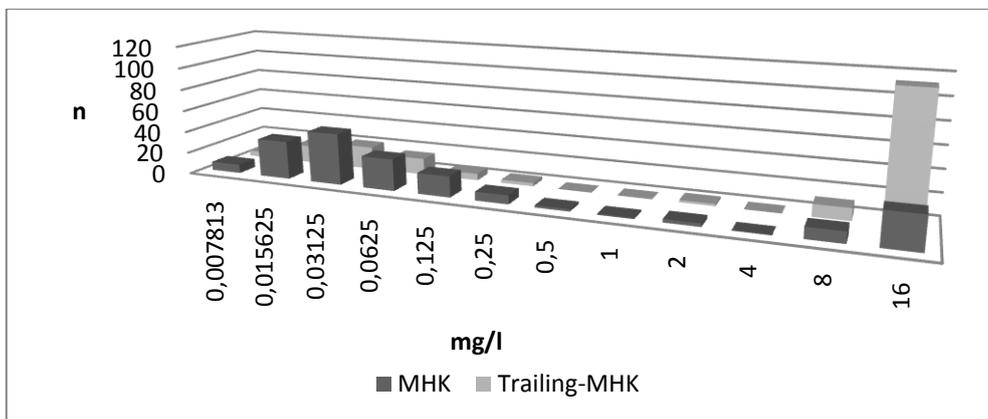
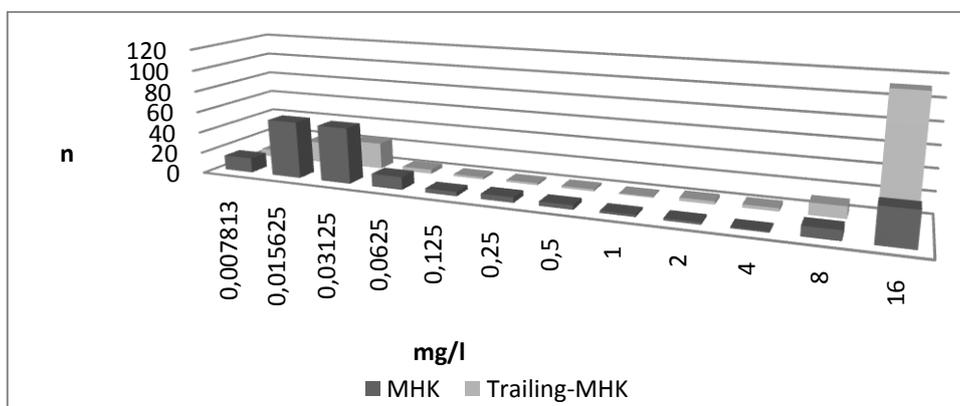


Abb. 3.8 Verteilung der MHK¹- und Trailing-MHK²-Werte der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber **Itraconazol** nach 48h (N = 192 Testungen)



¹ Bei Vorliegen eines Trailingphänomens erfolgte die MHK-Festlegung mittels der 80% Inhibitionsmethode oder „eindeutigem“ Trübungseinbruch (s. Material und Methode)

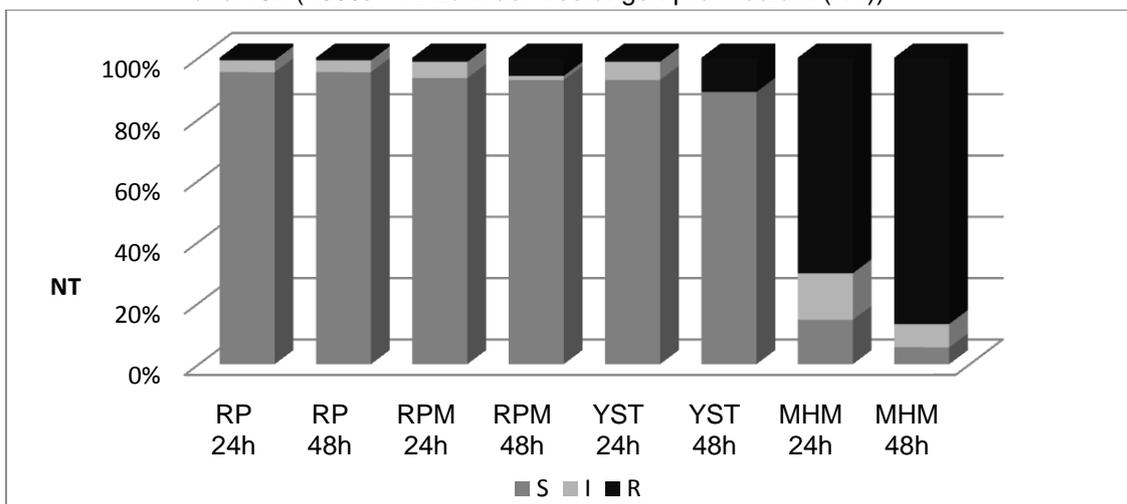
² Trailingendpunkt

3.1.2 Einfluss des Nährmediums auf die Empfindlichkeitsverteilung von *Candida*-Stämmen

Der Einfluss des verwendeten Nährmediums auf die Empfindlichkeitsverteilung der *Candida*-Stämme wurde gegenüber den Antimykotika Flucytosin (FCY), Fluconazol (FLC), Voriconazol (VOR) und Itraconazol (ITR) untersucht. Als Nährmedium wurde RPMI 1640-2.0%-Glucose, RPMI mit Methylenblau, Yeast Sensitivity Test Medium (YST) sowie Mueller-Hinton mit Methylenblau (MH+M) verwendet. Das Testkollektiv, bestehend aus 43 *Candida*-Stämmen, setzte sich wie folgt zusammen: 25 *Candida albicans*-Stämme (MF) sowie ATCC- und DMS-Kontrollstämme mit der Speziesverteilung: 7 *Candida albicans*, 2 *Candida glabrata*, 3 *Candida krusei*, 3 *Candida parapsilosis* und 3 *Candida tropicalis*. Die *Candida*-Stämme wurden anhand der ermittelten MHK-Werte gemäß der S-I-R-Klassifikation (s. Material und Methoden: Auswertung) eingeteilt, um die Empfindlichkeiten vergleichen zu können.

Zur allgemeinen Übersicht wurde das Kollektiv zuerst zusammengefasst betrachtet und ausgewertet. Die Empfindlichkeitsverteilung ist in den nachfolgenden Abbildungen 3.9-3.12 dargestellt.

Abb. 3.9 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber **Flucytosin** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv:

C. albicans-MF-Stämme, *C. albicans*-Kontrollstämme, *C. glabrata*-Kontrollstämme, *C. krusei*-Kontrollstämme, *C. parapsilosis*-Kontrollstämme, *C. tropicalis*-Kontrollstämme

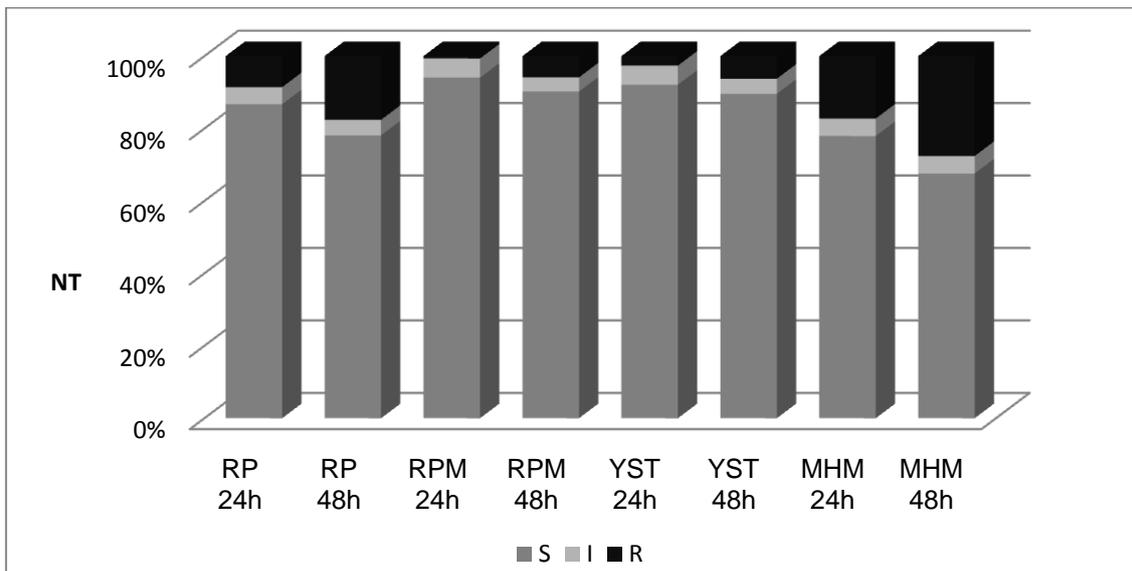
Medien:

RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Bei der Betrachtung des Gesamtkollektivs gegenüber Flucytosin (Abbildung 3.9) fand sich in den Medien RPMI (95,3% 24h und 48h), RPMI+M (93,4% 24h; 92,7% 48h) und YST (92,7% 24h; 88,8% 48h) eine annähernd gleiche Verteilung in die Sensibilitätsklasse „S“ nach 24h und 48h. Der Anteil an Testungen, in denen Isolate MHK-Werte im Bereich der Klasse „R“ aufwiesen, war in dem Medium RPMI mit 0,9% nach 24h und 48h sehr gering. In den Medien RPMI+M und YST zeigte sich der Anteil in der Sensibilitätsklasse „R“ mit 1,3% nach 24h ebenfalls gering, nahm aber nach 48h Inkubationszeit zu (RPMI+M 6%, YST 11,2%).

Auffällig gegenüber den anderen Medien stellte sich in MH+M die Verteilung der Sensibilitätsklassen dar. Hier wiesen Isolate nach 24h nur in 14,4% und nach 48h nur in 5,5% der Testungen MHK-Werte im Bereich der Sensibilitätsklasse „S“ auf. In der Sensibilitätsklasse „R“ hingegen lagen 70,3% (24h) bzw. 86,9% (48h) bei der Untersuchung von MH+M.

Abb. 3.10 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber **Fluconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

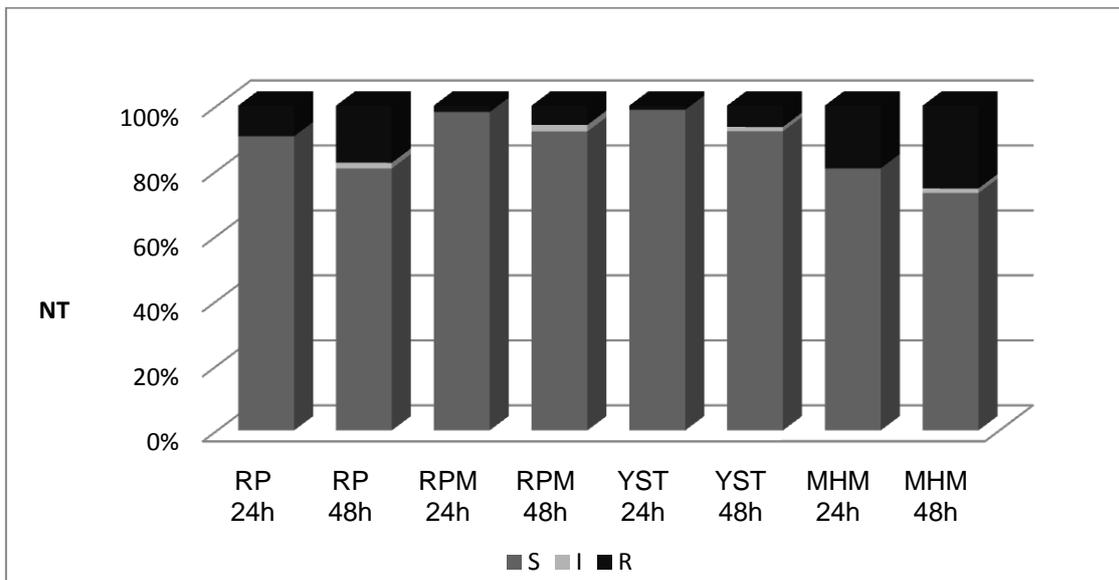
Gegenüber Fluconazol (Abbildung 3.10) fand sich in allen Medien nach 24h und 48h die Mehrzahl MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“. Die Anzahl in dieser Klasse

erwies sich in abnehmender Häufigkeit wie folgt: RPMI+M 94% (24h), 91,4 (48h); YST 92,1% (24h), 84,9% (48h); RPMI 86,7% (24h), 78,1% (48h) und MH+M 77,9% (24h), 67,6% (48h).

Auffällig war eine ähnliche Häufigkeit der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „I“ bei allen verwendeten Medien (3,9-5,3%) nach 24h und 48h. Doch bei genauerer Betrachtung zeigte sich, dass nur der DSM Stamm 11949 bei allen Medien zu jedem Zeitpunkt in diese Klasse einzuordnen war. Bei den übrigen Stämmen ergaben keine Regelmäßigkeiten zwischen den Medien.

Der Anteil der ermittelten MHK-Werte in der Klasse „R“ nahm in jedem Nährmedium nach 48h zu. Der größte Anteil konnte in MH+M (17,2% 24h, 27,6% 48h) festgestellt werden, gefolgt von RPMI (8,6% 24h; 17,6% 48h). Geringer fiel der Anteil in den Medien YST (2,6% 24h; 5,9% 48h) und RPMI+M (0,7% 24h; 6% 48h) aus.

Abb. 3.11 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber **Voriconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

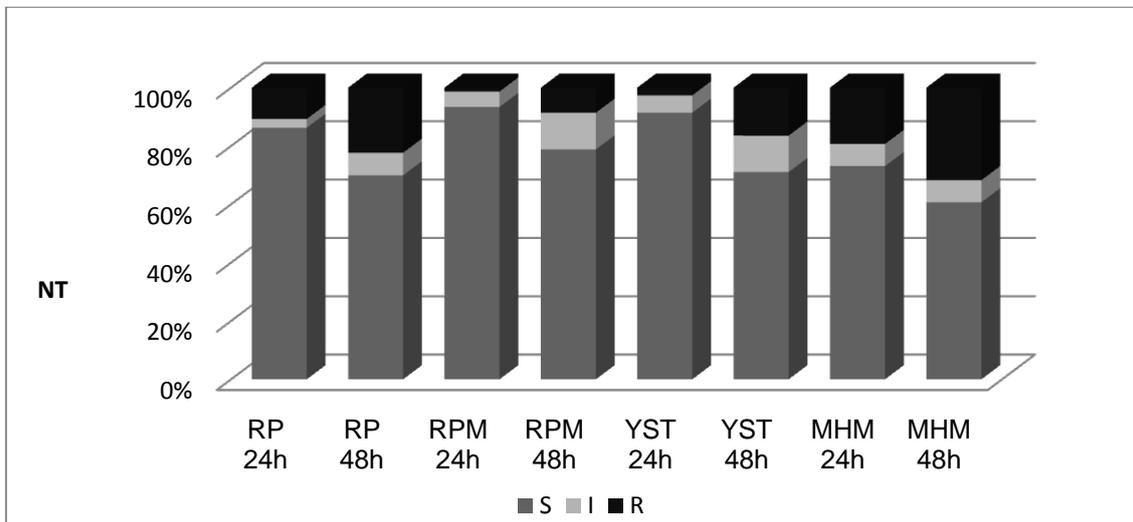
Gegenüber Voriconazol zeigte sich die Mehrzahl der ermittelten MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ (Abbildung 3.11). In den Medien RPMI, RPMI+M und YST lag

sie mit 90,6-98,7% nach 24h etwas höher als in MH+M mit 80,7%. Nach 48h ergab sich ein ähnliches Bild, hier lag der Anteil mit 92,1% in den Medien RPMI+M und YST etwas höher als in den Medien RPMI (80,7%) und MH+M (73,1%).

Der Sensibilitätsklasse „I“ konnte in den Medien nur nach 48h ein geringer Teil der MHK-Werte (1,4-2%) zugewiesen werden.

Im Vergleich mit den anderen Medien in der Klasse „R“ zeigte sich in MH+M erneut ein größerer Anteil (19,3% 24h; 25,5% 48h). In RPMI (9,4% 24h; 17,6% 48h), aber besonders in RPMI+M (2% 24h; 6% 48h) und in YST (1,3% 24h; 6,6% 48h) war der Anteil deutlich geringer.

Abb. 3.12 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung des Gesamtkollektivs gegenüber **Itraconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muell-Hinton+Methylenblau

Der größte Anteil der ermittelten MHK-Werte gegenüber Itraconazol entfiel auf die Sensibilitätsklasse „S“ (Abbildung 3.12). Er war jedoch etwas geringer als gegenüber den anderen Azolantimykotika. So lagen in den Medien RPMI, RPMI+M und YST 86,3-93,4% der MHK-Werte nach 24h und 70-78,8% nach 48h in dieser Klasse. In MH+M ergab sich hier ein Anteil von 73,1% nach 24h und 60,7% nach 48h.

Auffällig zeigte sich gegenüber Itraconazol, dass der Anteil der MHK-Werte in der Klasse „I“ in den Medien RPMI (3% 24h; 7,7% 48h), RPMI+M (5,3% 24h; 12,6% 48h)

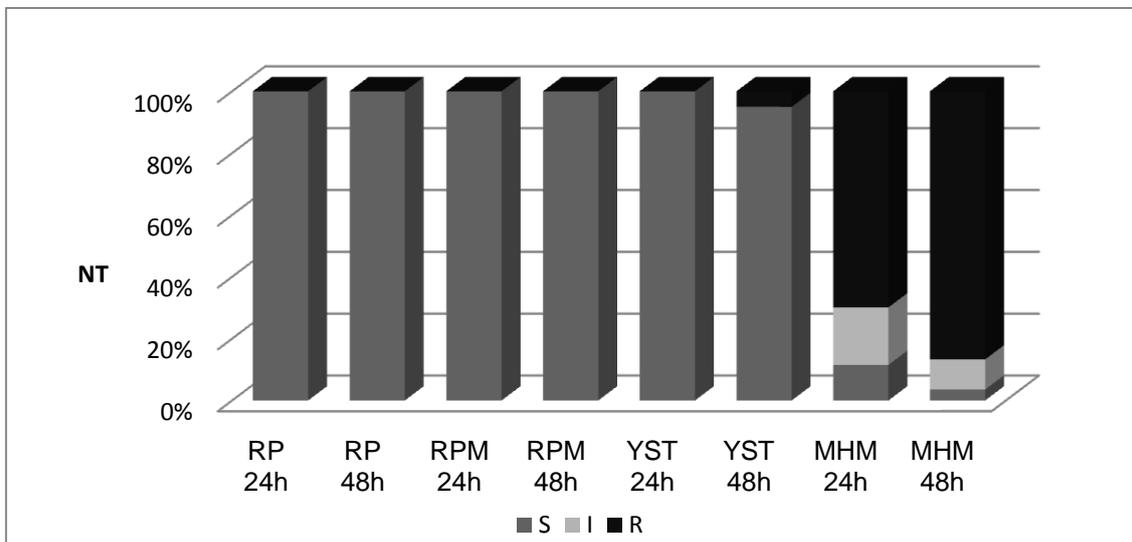
und YST (5,9% 24h; 12,5% 48h) nach 48h deutlich zunahm. Dabei wurden jedoch nur der MF-Stamm MF 17, sowie die ATCC-Stämme 22019 und 6258 in jedem der drei Medien als „intermediär“ eingestuft. Bei den anderen Stämmen zeigte sich keine Regelmäßigkeit.

In der Sensibilitätsklasse „R“ fand sich im Vergleich in dem Medium MH+M (19,3% 24h; 31,7% 48h) der höchste Anteil an MHK-Werten, gefolgt von RPMI (10,7% 24h; 22,3% 48h), YST (2,6% 24h; 16,4% 48h) und RPMI+M (1,3% 24h; 8,6% 48h).

In einem zweiten Schritt der Auswertung wurde das Teilkollektiv der *Candida albicans*-MF-Stämme und das der *Candida albicans*-Kontrollstämmen einzeln betrachtet.

3.1.2.1 *Candida albicans*-MF-Stämme

Abb. 3.13 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Flucytosin** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	192	118	119	113

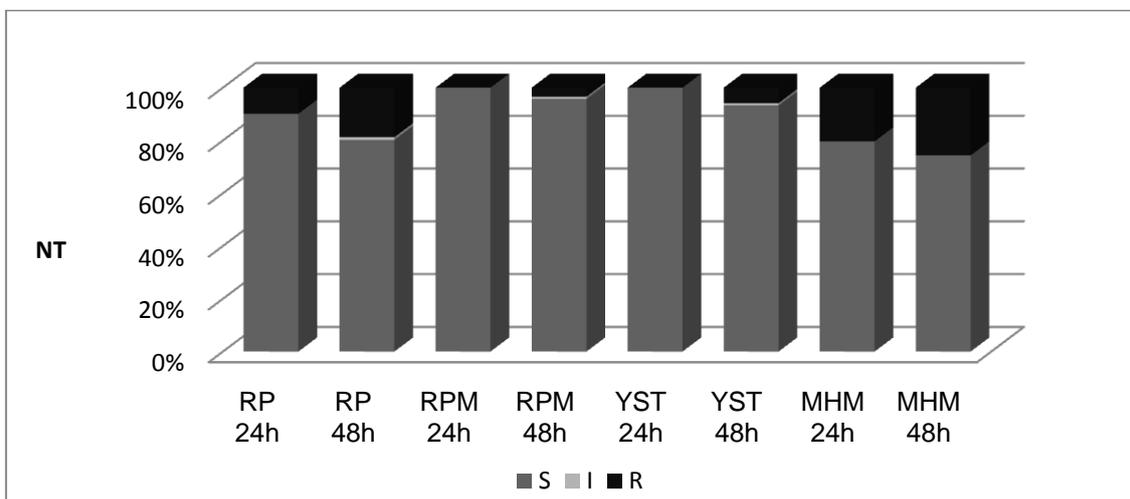
Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Die Empfindlichkeitsverteilung der MHK-Werte gegenüber Flucytosin in den verschiedenen Medien ist in Abbildung 3.13 aufgezeigt.

In den Medien RPMI, RPMI+M und YST lagen nach 24h und 48h mit einer Ausnahme in YST nach 48h 100% der ermittelten MHK-Werte gegenüber Fluocytosin in der Sensibilitätsklasse „S“. Nach 48h fanden sich in YST 95% der MHK-Werte in der Klasse „S“, die weiteren 5% waren in der Klasse „R“ zu finden.

In MH+M hingegen konnte der größte Anteil der MHK-Werte nach 24h und 48h der Sensibilitätsklasse „R“ (69,9% 24h; 86,7% 48h) zugewiesen werden, gefolgt von dem Anteil in der Klasse „I“ mit 18,6% nach 24h und 9,7% nach 48h. Die geringste Anzahl an MHK-Werten zeigte sich in MH+M als sensibel (11,5% 24h; 3,5% 48h).

Abb. 3.14 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Fluconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	192	118	119	113

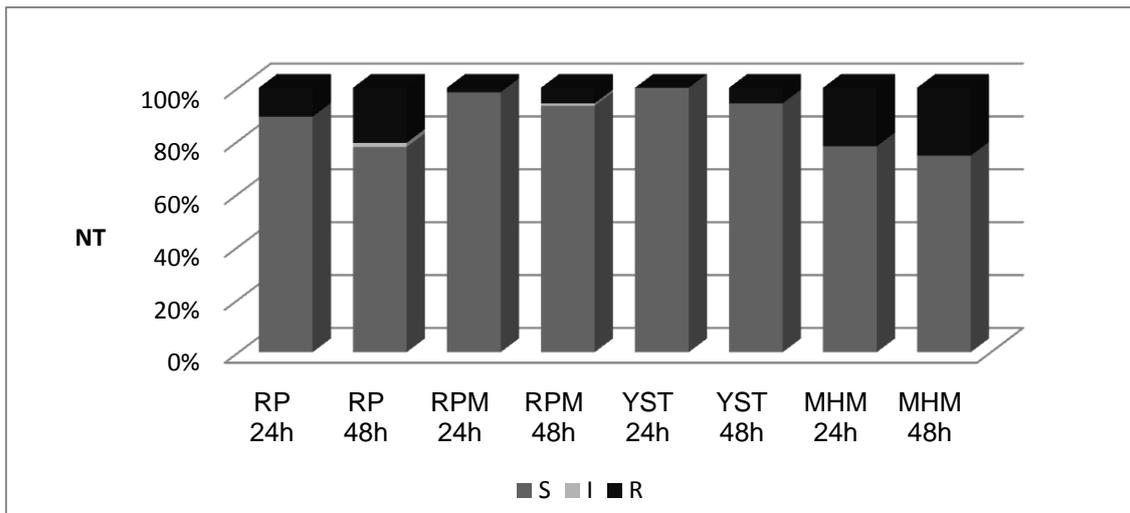
Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Gegenüber dem Antimykotikum Fluconazol (Abbildung 3.14) zeigte sich in allen Medien ein Schwerpunkt der ermittelten MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“. In RPMI+M (100% 24h; 95,8% 48h) und YST (100% 24h; 93,3% 48h) war dieser am größten, gefolgt von RPMI (90,1% 24h; 80,2% 48h). Niedriger als bei den anderen Medien fand sich mit 79,6% nach 24h und 74,3% nach 48h der Anteil der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ in dem Medium MH+M.

Nur nach 48h entfiel in RPMI, RPMI+M und YST mit 0,8-1% ein Teil der MHK-Werte auf die Klasse „I“.

In MH+M (20,4% 24h; 25,7% 48h) zeigte sich ein deutlich größerer Anteil in der Klasse „R“ als in den anderen Medien. In RPMI wiesen 9,8% nach 24h und 18,8% nach 48h der MHK-Werte Konzentrationen in dieser Klasse auf. In RPMI+M (3,4%) und YST (5,9%) hingegen konnten nur nach 48h MHK-Werte in der Klasse „R“ ermittelt werden.

Abb. 3.15 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	192	118	119	113

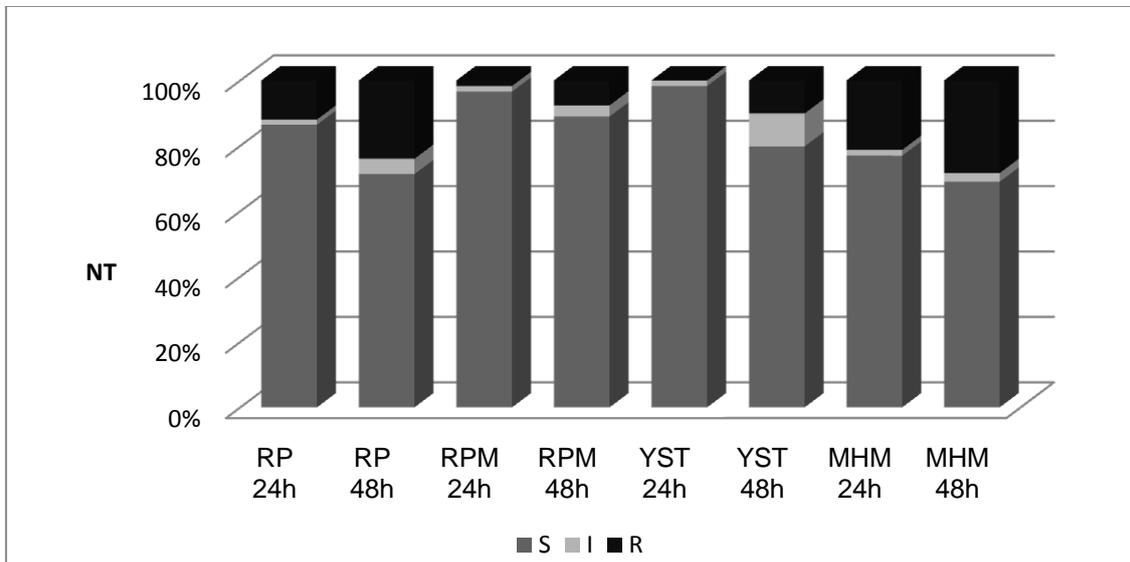
Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Gegenüber Voriconazol (Abbildung 3.15) wurde eine Mehrzahl der MHK-Werte in allen Medien der Sensibilitätsklasse „S“ zugewiesen. Am größten war diese in YST (100% 24h; 94,1% 48h), gefolgt von RPMI+M (98,3% 24h; 93,2% 48h) und RPMI (89,1% 24h; 77,6% 48h). Mit 77,9% nach 24h und 74,3% nach 48h zeigte sich der Anteil in der Sensibilitätsklasse „S“ in MH+M geringer.

In die Klasse „I“ fiel nur nach 48h in den Medien RPMI (1,6%) und RPMI+M (0,8%) ein geringer Anteil der MHK-Werte.

Gegenüber den anderen Medien zeigten RPMI+M (1,7% 24h; 5,9% 48h) und YST (0% 24h; 5,9% 48h) in der Sensibilitätsklasse „R“ den kleinsten Anteil. In RPMI (10,9% 24h; 20,8% 48h) und MH+M (22,1% 24h; 25,7% 48h) fanden sich deutlich mehr MHK-Werte in dieser Klasse.

Abb. 3.16 Prozentuale Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Itraconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (100% = Anzahl der Testungen pro Medium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	192	118	119	113

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muller-Hinton+Methylenblau

Auch gegenüber Itraconazol (Abbildung 3.16) lag der Schwerpunkt der ermittelten MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“. Am größten zeigte sich der Anteil in YST (98,3% 24h; 79,8% 48h) und RPMI+M (96,6% 24h; 89% 48h). In den Medien RPMI (86,5% 24h; 71,4% 48h) und MH+M (77% 24h; 69% 48h) war der Anteil etwas geringer.

Die MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „I“ wiesen mit 1,6-1,8% nach 24h und 3,4-4,7% nach 48h eine ähnliche Häufigkeit in allen Medien auf. Eine Ausnahme zeigte sich in YST nach 48h. Hier lag mit 10,1% der Anteil in dieser Klasse deutlich höher. In der Zusammensetzung des Anteils in der Klasse „I“ gab es im Vergleich der Medien keine Regelmäßigkeiten.

In MH+M konnte mit 21,2% nach 24h und 28,3% nach 48h im Vergleich zu den anderen Medien der größte Anteil der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „R“ festgestellt werden, gefolgt von RPMI mit 12% nach 24h und 24% nach 48h. Einen geringeren Anteil in dieser Klasse fand sich in RPMI+M (1,7% 24h; 7,6% 48h) und YST (0% 24h; 10,1% 48h).

Tab. 3.2 Resistent eingestufte *Candida albicans*-MF-Stämme nach 48h

	F C Y									V O R									
	Stamm-Nr.	N	RP	N	RP+M	N	YST	N	MH+M	Stamm-Nr.	N	RP	N	RP+M	N	YST	N	MH+M	
MF 01	8			5		5	1	5	4	MF 01	8			5		5	1	5	1
MF 02	8			5		5	1	5	5	MF 02	8	1		5		5	1	5	1
MF 03	8			5		5	1	5	4	MF 03	8	4		5		5	2	5	1
MF 04	8			5		6	1	5	5	MF 04	8			5		6	1	5	1
MF 05	8			5		5	1	6	6	MF 05	8			5		5	1	6	1
MF 06	8			5		5	1	5	1	MF 06	8	1		5		5	1	5	1
MF 07	8			5		5		4	4	MF 07	8	2		5		5		4	1
MF 08	8			5		5		6	4	MF 08	8	1		5		5		6	3
MF 09	8			5		5		5	5	MF 09	8			5		5		5	1
MF 10	8			5		5		5	5	MF 10	8	2		5	2	5		5	2
MF 11	8			5		4		5	5	MF 11	8	4		5	1	4		5	2
MF 12	8			5		5		5	4	MF 12	8	4		5	2	5		5	2
MF 13	8			5		4		4	4	MF 13	8	5		5	1	4		4	2
MF 14	7			5		5		4	4	MF 14	7	4		5	1	5		4	1
MF 15	8			5		4		4	4	MF 15	8	2		5		4		4	1
MF 16	7			5		4		4	4	MF 16	7	1		5		4		4	1
MF 17	8			5		5		5	4	MF 17	8	1		5		5		5	2
MF 18	8			5		5		3		MF 18	8	1		5		5		3	
MF 19	8			5		5		5	4	MF 19	8			5		5		5	1
MF 20	7			4		5		5	5	MF 20	7	1		4		5		5	2
MF 21	6			3		4		4	4	MF 21	6	1		3		4		4	2
MF 22	6			4		4		3	2	MF 22	6	1		4		4		3	
MF 23	7			4		4		3	3	MF 23	7	2		4		4		3	
MF 24	8			4		5		4	4	MF 24	8	1		4		5		4	
MF 25	8			4		5		4	4	MF 25	8	1		4		5		4	
Gesamt-N	192			118		119	6	113	98	Gesamt-N	192	40	118	7	119	7	113	29	
	F L C									I T R									
	Stamm-Nr.	N	RP	N	RP+M	N	YST	N	MH+M	Stamm-Nr.	N	RP	N	RP+M	N	YST	N	MH+M	
MF 01	8	1		5		5	1	5	1	MF 01	8			5		5	1	5	1
MF 02	8			5		5	1	5	1	MF 02	8	2		5		5	1	5	1
MF 03	8	4		5		5	2	5	1	MF 03	8	4		5		5	3	5	2
MF 04	8			5		6	1	5	1	MF 04	8	1		5		6	2	5	2
MF 05	8			5		5	1	6	1	MF 05	8	1		5		5	1	6	1
MF 06	8	1		5		5	1	5	1	MF 06	8	2		5	1	5	1	5	2
MF 07	8	1		5		5		4	1	MF 07	8	2		5	1	5		4	1
MF 08	8	1		5		5		6	3	MF 08	8	2		5		5		6	3
MF 09	8			5		5		5	1	MF 09	8			5		5	1	5	1
MF 10	8	2		5	1	5		5	2	MF 10	8	2		5	2	5		5	2
MF 11	8	4		5	1	4		5	2	MF 11	8	4		5	1	4		5	2
MF 12	8	4		5	2	5		5	2	MF 12	8	4		5	2	5	1	5	2
MF 13	8	4		5		4		4	2	MF 13	8	6		5	1	4		4	2
MF 14	7	3		5		5		4	1	MF 14	7	4		5	1	5	1	4	1
MF 15	8	2		5		4		4	1	MF 15	8	2		5		4		4	1
MF 16	7	1		5		4		4	1	MF 16	7	1		5		4		4	1
MF 17	8	2		5		5		5	2	MF 17	8	1		5		5		5	2
MF 18	8			5		5		3		MF 18	8	1		5		5		3	
MF 19	8			5		5		5	1	MF 19	8			5		5		5	1
MF 20	7	1		4		5		5	2	MF 20	7	1		4		5		5	2
MF 21	6	1		3		4		4	2	MF 21	6	2		3		4		4	2
MF 22	6			4		4		3		MF 22	6			4		4		3	
MF 23	7	1		4		4		3		MF 23	7	2		4		4		3	
MF 24	8	1		4		5		4		MF 24	8	1		4		5		4	
MF 25	8	2		4		5		4		MF 25	8	1		4		5		4	
Gesamt-N	192	36		118	4	119	7	113	29	Gesamt-N	192	46	118	9	119	12	113	32	

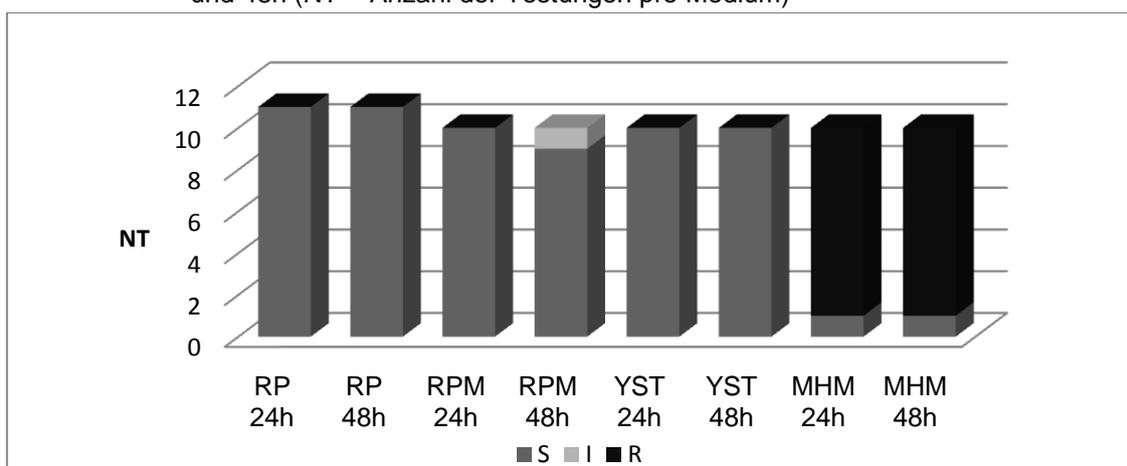
N=Anzahl der Testungen ; n=Anzahl der als „resistent“ bewerteten Isolate

Tabelle 3.2 zeigt eine detaillierte Aufstellung der nach 48h resistent eingestuften *C. albicans*-MF-Stämme in den unterschiedlichen Medien. In RPMI wurden gegenüber jedem Azolantimykotikum die Stämme MF03, MF06-MF08, MF10-MF17 sowie MF23-MF25 in mindestens einer Testung als resistent bewertet. Gegenüber Flucytosin zeigten sich keine Resistenzen. Die MF-Stämme MF10-MF12 erwiesen sich auch in RPMI+M resistent gegenüber den Azolantimykotika in mindestens einer Testung. In YST konnten gegenüber allen vier Antimykotika bei den Stämmen MF01-MF06 in mindestens einer Testung Resistenzen festgestellt werden. Gegenüber den Azolantimykotika zeigten sich in MH+M nur die Stämme MF18 und MF22-MF25 in keiner Testung resistent. MH+M in Kombination mit Flucytosin wies den größten Anteil an Resistenzen nach 48h im Vergleich mit den anderen Kombinationen auf. Es ließ sich feststellen, dass sich weniger Resistenzen in Medien mit Methylenblau (RPMI+M, YST), mit Ausnahme von MH+M, fanden als in Medien ohne Methylenblau (RPMI).

3.1.2.2 Candida albicans-Kontrollstämme

Die Verteilung der ermittelten MHK-Werte der *Candida albicans*-Kontrollstämme in die S-I-R Empfindlichkeitsklassen ist in den folgenden Abbildungen dargestellt. Aufgrund der geringen Zahl der Isolate erfolgte die Darstellung numerisch.

Abb. 3.17 Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-Kontrollstämme gegenüber **Flucytosin** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (NT = Anzahl der Testungen pro Medium)



	RP	RPM	YST	MHM
NT	11	10	10	10

Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

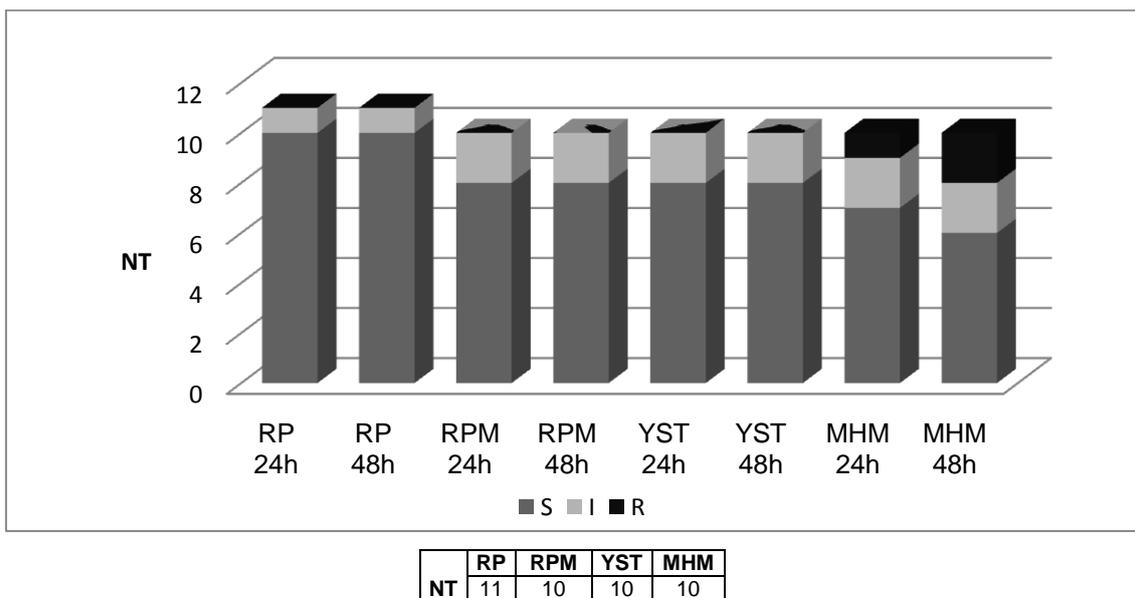
Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Gegenüber Flucytosin (Abbildung 3.17) zeigten sich in den Medien RPMI, RPMI+M und YST nach 24h und 48h mit Ausnahme von RPMI+M nach 48h alle MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“. Die Ausnahme RPMI+M nach 48h wies nur 9 von 10 MHK-Werten in dieser Klasse auf. Der übrige MHK-Wert in RPMI+M fand sich in der Sensibilitätsklasse „I“ (DSM 11943).

Auffallend stellte sich die Empfindlichkeitsverteilung in MH+M dar. Hier lag nach 24h und 48h der Schwerpunkt der MHK-Werte mit 9 von 10 Werten in der Klasse „R“. Ein MHK-Wert konnte der Klasse „S“ zugewiesen werden (DSM 11948).

Es zeigte sich mit Ausnahme von RPMI+M in keinem Medium ein Unterschied in den Ergebnissen zwischen 24h und 48h.

Abb. 3.18 Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-Kontrollstämme gegenüber **Fluconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (NT = Anzahl der Testungen pro Medium)



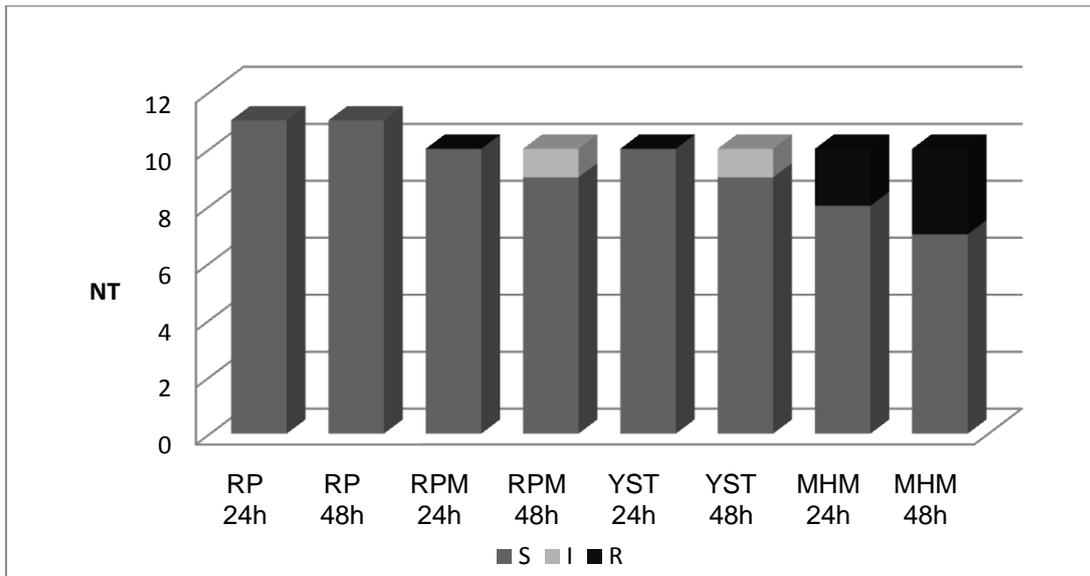
Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Nach 24h und 48h konnte die Mehrzahl der MHK-Werte in allen Nährmedien gegenüber Fluconazol in der Sensibilitätsklasse „S“ festgestellt werden (Abbildung 3.18). Der größte Anteil in dieser Klasse zeigte sich in dem Medium RPMI mit 10 der 11 ermittelten MHK-Werte nach 24h und 48h. In RPMI+M und YST waren es 8 von 10 MHK-Werte nach 24h und 48h, gefolgt von MH+M mit 7 von 10 nach 24h und 6 nach 48h.

In der Sensibilitätsklasse „I“ wurde in allen Medien zu jedem Ablesezeitpunkt nur der DSM-Stamm 11949 in einer Testung eingestuft. Nur in MH+M konnten MHK-Werte in der Klasse „R“ nachgewiesen werden (1 von 10 24h; 2 von 48h).

Abb. 3.19 Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-Kontrollstämme gegenüber **Voriconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (NT = Anzahl der Testungen pro Medium)



	RP	RPM	YST	MHM
NT	11	10	10	10

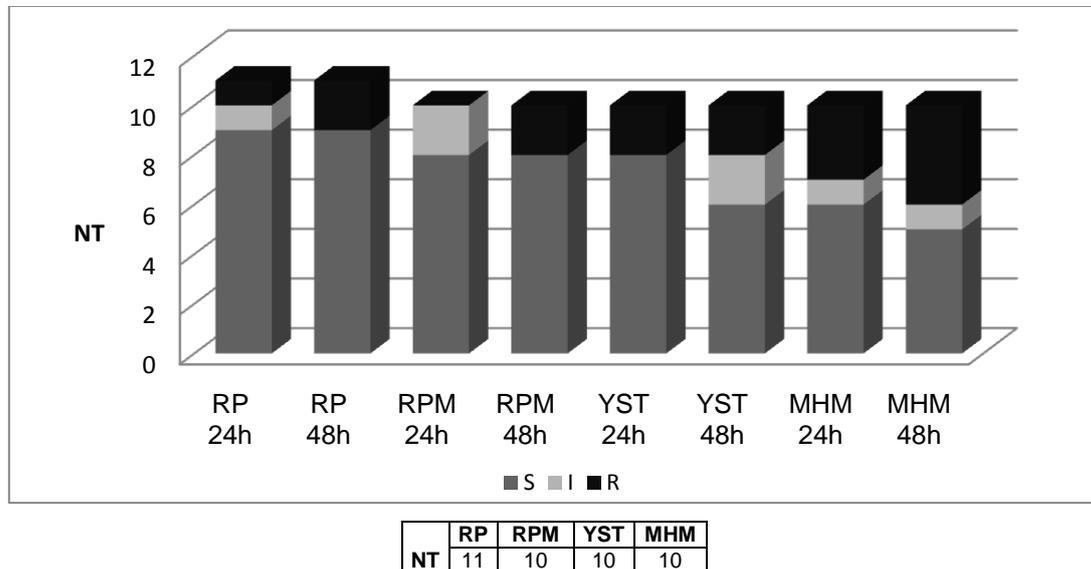
Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muller-Hinton+Methylenblau

Auch gegenüber Voriconazol (Abbildung 3.19) zeigte sich die Mehrzahl der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ nach 24h und 48h. In dem Medium RPMI lagen alle Werte zu jedem Ablesezeitpunkt in dieser Klasse. In den Nährmedien RPMI+M und YST waren es nach 24h ebenfalls alle Werte, nach 48h hingegen 9 der 10 ermittelten MHK-Werte. Der übrige MHK-Wert konnte bei beiden Medien nach 48h der Sensibilitätsklasse „I“ zugewiesen werden (DSM 11949).

In MH+M fanden sich nach 24h 8 der 10 MHK-Werte in der Klasse „S“ und 2 in der Klasse „R“, nach 48h waren es 7 in der Sensibilitätsklasse „S“ und 3 in der Klasse „R“.

Abb. 3.20 Empfindlichkeitsverteilung der *Candida albicans*-Kontrollstämme gegenüber **Itraconazol** in verschiedenen Nährmedien nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h (NT = Anzahl der Testungen pro Medium)



Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton+Methylenblau

Die Mehrzahl der MHK-Werte lag gegenüber Itraconazol (Abbildung 3.20) in der Sensibilitätsklasse „S“. Nach 24h und 48h waren es in den Medien RPMI 9 von 11 MHK-Werten und RPMI+M 8 von 10 Werten. In YST fanden sich nach 24h 8, nach 48h hingegen nur 6 der ermittelten MHK-Werte in dieser Klasse. In MH+M fielen nach 24h 6 nach 48h sogar nur 5 der 10 MHK-Werte in die Klasse „S“.

Der Sensibilitätsklasse „I“ konnten in RPMI einer der 11 MHK-Werte und in RPMI+M 2 der 10 nach 24h, in YST 2 der 10 nach 48h und in MH+M einer der 10 MHK-Werte nach 24h und 48h zugewiesen werden.

Im Vergleich mit den anderen Antimykotika konnten gegenüber Itraconazol in jedem Medium MHK-Werte in der Klasse „R“ festgestellt werden. So waren es in RPMI einer von 11 MHK-Werten nach 24h sowie 2 von 11 nach 48h. 2 (DSM 11949) der 10 ermittelten MHK-Werte in RPMI+M nach 48h konnten ebenfalls der Klasse „R“ zugeordnet werden. In den Nährmedien YST waren es nach 24h und 48h 2 der 10 Werte (DSM 11949). In MH+M zeigte sich nach 24h 3 und nach 48h 4 der Werte in der Klasse „R“. Der DSM-Stamm 11949 wurde in jedem Medium nach 48h in mindestens einer Testung als resistent eingestuft.

Zusammenfassend fanden sich bei den *C. albicans*-MF-Stämmen nach 24h und 48h in den Methylenblau-haltigen Medien RPMI+M (96%) und YST (94%) gegenüber den Azolantimykotika die meisten MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“, gefolgt von RPMI (82%). Der Anteil von Resistenzen war in diesen Medien (RPMI+M/YST=3%) geringer als in RPMI (16%).

Bei den *C. albicans*-Kontrollstämmen hingegen fand sich in RPMI (91%) ein etwas größerer Anteil in der Klasse „S“ als in den anderen beiden Medien (RPMI+M/YST=83%) gegenüber den Azolantimykotika.

Gegenüber Flucytosin war der Anteil der MHK-Werte in der Sensibilitätsklasse „S“ in den Nährmedien RPMI, RPMI+M und YST bei den *C. albicans*-MF-Stämmen und den *C. albicans*-Kontrollstämmen fast immer bei 100%.

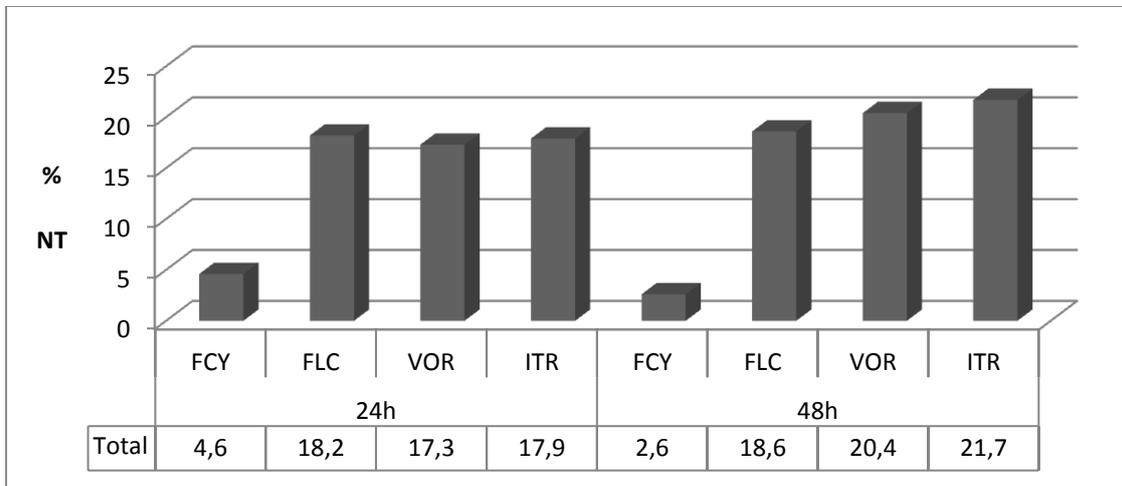
In MH+M wurden gegenüber allen Antimykotika, besonders gegenüber Flucytosin vermehrt MHK-Werte in Konzentrationsbereichen der Sensibilitätsklasse „R“ ermittelt. MH+M war als Nährmedium für diese Empfindlichkeitstestung nicht geeignet.

3.1.3 Einfluss des Antimykotikums, des Nährmediums und des Zeitpunkts der Able- sung auf die Häufigkeit von Trailing

Zur genaueren Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Häufigkeit des Trailingphänomens durch die Wahl des Antimykotikums, des Nährmediums sowie des Zeitpunkts der Ableseung wurde ein Kollektiv von 43 Isolaten zusammengestellt. Darunter befanden sich 25 *Candida (C.) albicans*-Stämme (MF), bei denen das Auftreten des Trailingphänomens bekannt war, sowie ATCC- und DMS-Kontrollstämmen mit nachfolgender Speziesverteilung: 7 *C. albicans*, 2 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 3 *C. parapsilosis* und 3 *C. tropicalis*.

Für einen ersten Überblick wurde das Kollektiv in seiner Gesamtheit betrachtet. In den folgenden Abbildungen ist die Häufigkeit des Trailingphänomens für dieses Gesamtkollektiv dargestellt.

Abb. 3.21 Prozentuale Häufigkeit des Trailingphänomens des Gesamtkollektivs für verschiedene Antimykotika mit Ablesezeitpunkt (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum (NT=681))

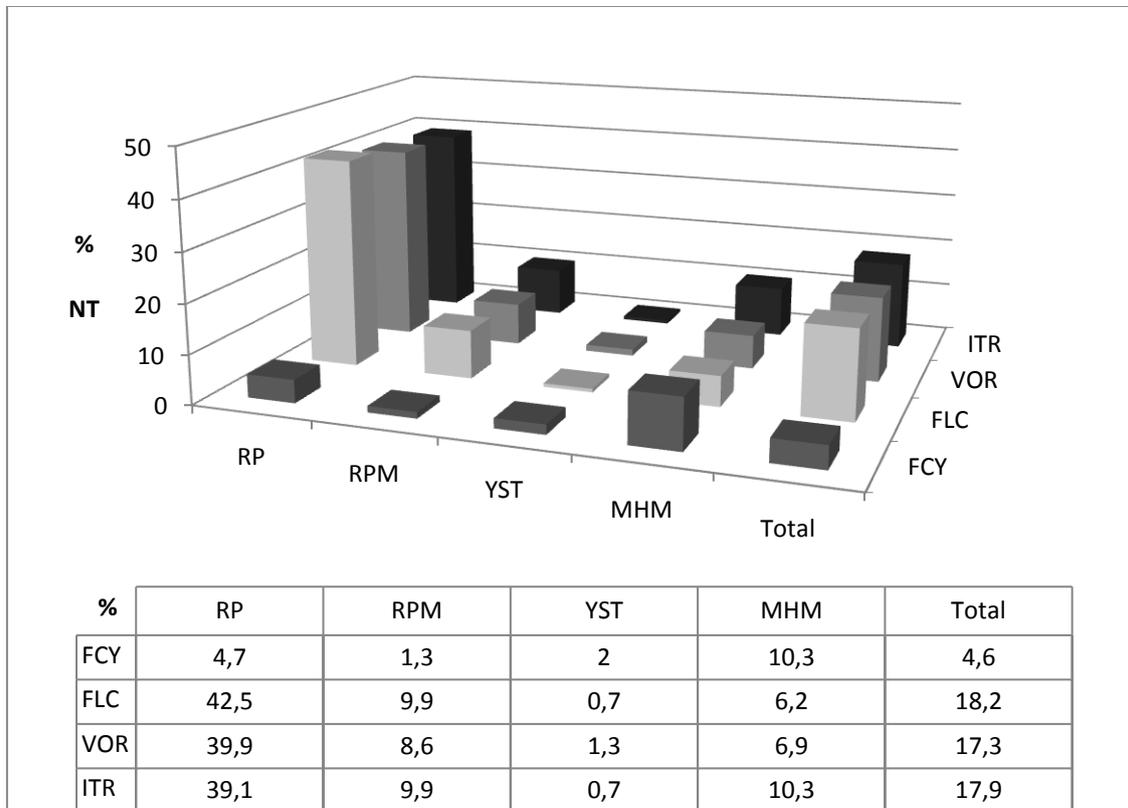


Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albican-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Nach **24h** fand sich mit ca. 18% bei der Verwendung der Triazolantimykotika Fluconazol, Voriconazol und Itraconazol eine deutlich höhere Häufigkeit des Trailingphänomens als bei Flucytosin mit 4,6% (Abbildung 3.21). Nach **48h** zeigte sich die gleiche Auffälligkeit in der Häufigkeit des Trailingphänomens bei den Antimykotika (Triazolantimykotika: ca. 20%, Flucytosin: 2,6%). Der Zeitpunkt der Ablesung hatte bei der Gesamtbetrachtung keinen Einfluss auf die Häufigkeit des Trailingphänomens.

Der Einfluss des verwendeten Mediums nach 24h auf die Trailinghäufigkeit des Gesamtkollektivs wird in Abbildung 3.22 dargestellt.

Abb. 3.22 Häufigkeit (%) des Trailingphänomens des Gesamtkollektivs nach 24h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium (NT))

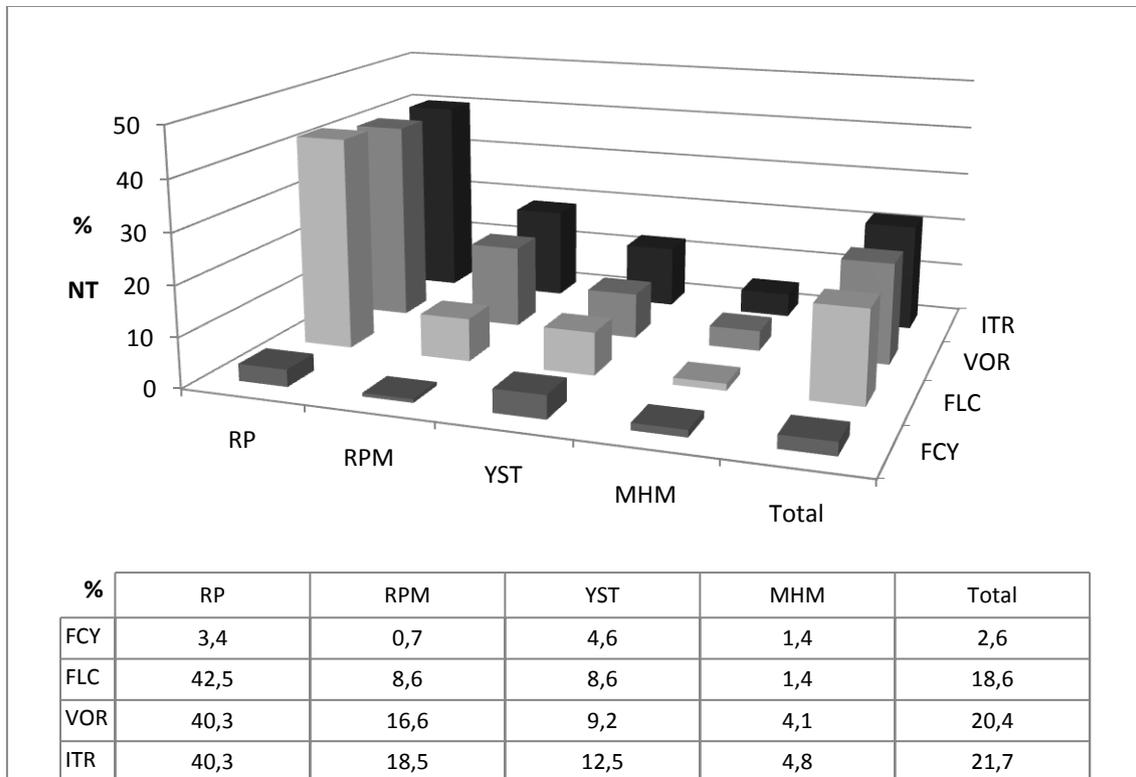


	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muller-Hinton +Methylenblau
 Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Bei den Medien RPMI und RPMI+M konnte eine deutlich höhere Häufigkeit des Trailingphänomens bei den Triazolantimykotika (RPMI 39,9-42,5%; RPMI+M 8,6-9,9%) als bei Flucytosin (RPMI 4,7%; RPMI+M 1,3%) nachgewiesen werden. Mit einer Häufigkeit von 2% bei Flucytosin und 0,7-1,3% bei den Azolantimykotika trat Trailing bei der Verwendung des Mediums YST sehr selten zu diesem Zeitpunkt auf. Auffallend zeigte sich bei der Verwendung des Nährmediums MH+M, dass die Häufigkeit von Trailing bei Flucytosin (10,3%) höher war als bei den Azolantimykotika Fluconazol (6,2%) und Voriconazol (6,9%). Bei Itraconazol entsprach die Trailinghäufigkeit mit 10,3% der bei Gabe von Flucytosin.

Abb. 3.23 Häufigkeit (%) des Trailingphänomens des Gesamtkollektivs nach 48h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	233	151	152	145

Gesamtkollektiv: C.albicans-MF-Stämme, C.albicans-Kontrollstämme, C.glabrata-Kontrollstämme, C.krusei-Kontrollstämme, C.parapsilosis-Kontrollstämme, C.tropicalis-Kontrollstämme
 Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=MueLLer-Hinton +Methylenblau
 Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Bei der Auswertung des Gesamtkollektivs nach **48h** zeigten sich in dem Medium RPMI keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit von Trailing gegenüber der Auswertung nach 24h (Abbildung 3.23).

In RPMI+M verdoppelte sich die Häufigkeit bei den Azolantimykotika Voriconazol (8,6% 24h auf 16,6% 48h) und Itraconazol (9,9% 24h auf 18,5% 48h) nach 48h.

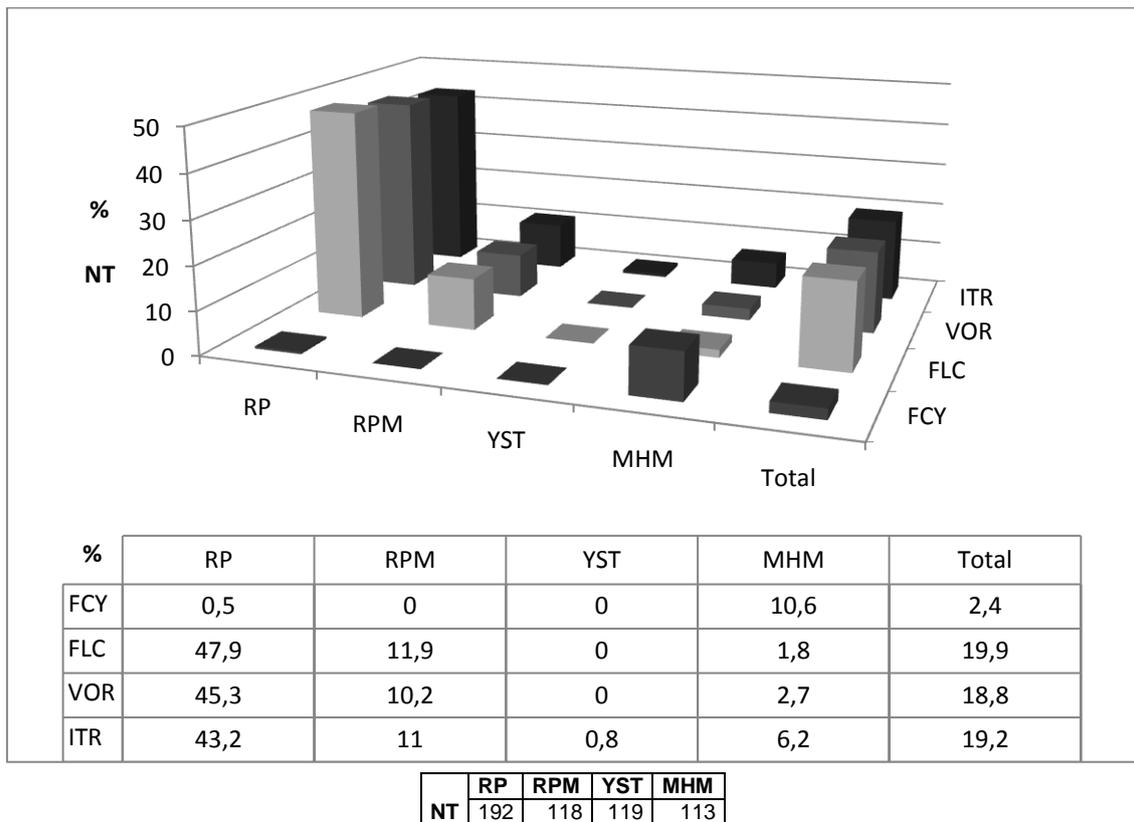
Eine deutliche Häufigkeitssteigerung trat nach 48h in dem Medium YST auf. So konnte bei Flucytosin mit einer Häufigkeit von 4,6%, bei Fluconazol von 8,6%, bei Voriconazol von 9,2% und bei Itraconazol von 12,5% Trailing festgestellt werden.

Bei dem Medium MH+M sank die Häufigkeit des Trailings gegenüber Flucytosin und Fluconazol auf 1,4%, bei Voriconazol auf 4,1% und Itraconazol auf 4,8%. Dieser Rückgang nach 48h konnte mit MHK-Werten in hohen Konzentrationsbereichen erklärt werden, in denen die Stämme als resistent gelten.

3.1.3.1 Candida albicans-MF-Stämme

Die Häufigkeit von Trailing bei einer gesonderten Auswertung der *C. albicans*-MF-Stämme ist in Abb. 3.24 nach 24h und in Abb. 3.25 nach 48h dargestellt.

Abb. 3.24 Häufigkeit (%) des Trailingphänomens der *C. albicans*-MF-Stämme nach 24h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium (NT))



Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton +Methylenblau

Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

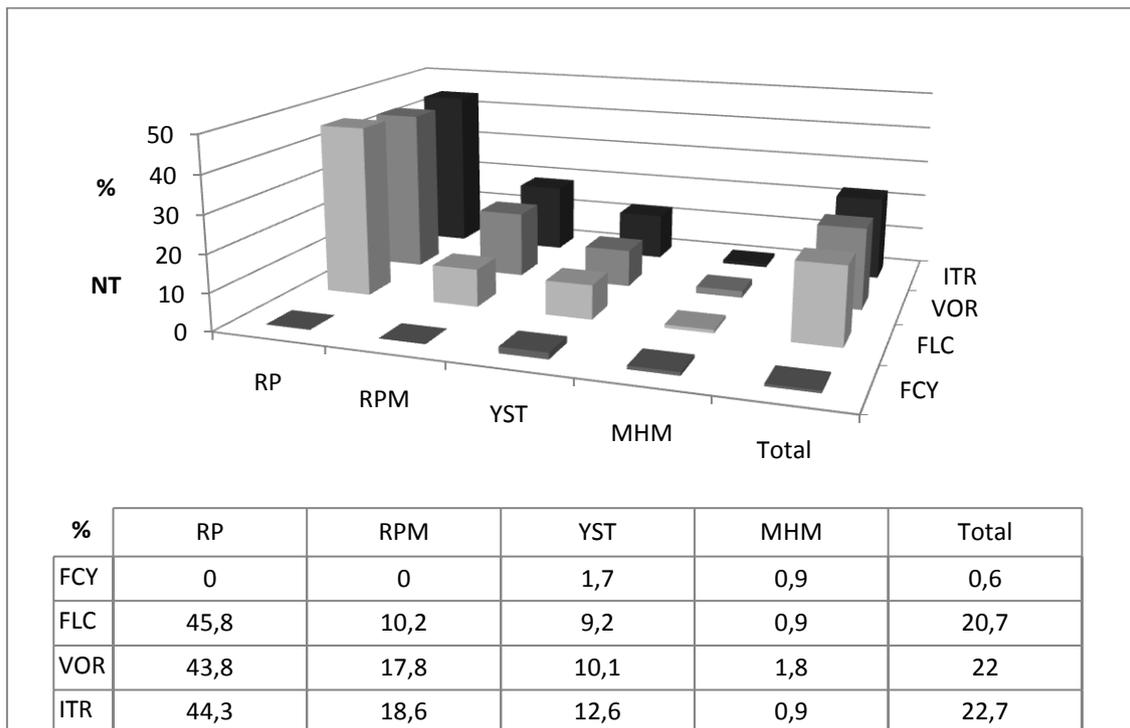
Die genaue Betrachtung dieses Teilkollektivs zeigte, ohne Berücksichtigung der verwendeten Medien, in der Zusammenfassung, dass die Häufigkeit des Trailings nach **24h** bei den Triazolantimykotika mit ca. 19,3% deutlich höher war als bei Flucytosin mit 2,4%.

Bei den Medien RPMI und RPMI+M konnte ebenfalls der deutliche Unterschied in der Häufigkeit des Trailings zwischen Flucytosin (RPMI 0,5%; RPMI+M 0%) und den Triazolantimykotika (RPMI 43,2-47,9%; RPMI+M 10,2-11,9%) festgestellt werden.

In dem Nährmedium YST wurde nur bei der Untersuchung von Itraconazol mit einer Häufigkeit von 0,8% ein Trailing nach 24h nachgewiesen.

Entgegen den anderen Medien fand sich in MH+M in Kombination mit Flucytosin (10,6%) häufiger Trailing als bei den Azolantimykotika (Fluconazol 1,8%; Voriconazol 2,7% und Itraconazol 6,2%); Abbildung 3.24.

Abb. 3.25 Häufigkeit (%) des Trailingphänomens der *C. albicans*-MF-Stämme nach 48h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (100% = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium (NT))



	RP	RPM	YST	MHM
NT	192	118	119	113

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muller-Hinton +Methylenblau

Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Ohne Berücksichtigung der verschiedenen Medien in der Gesamtbetrachtung gab es keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit des Trailingphänomens bei den *C. albicans*-MF-Stämmen bezogen auf die unterschiedlichen Ableszeitpunkte.

In der Einzelbetrachtung bei Verwendung der unterschiedlichen Nährmedien stellt sich ein sehr differenziertes Bild dar.

Bei der Untersuchung des Mediums RPMI trat kein Unterschied in der Häufigkeit des Trailingphänomens nach 24h und 48h auf.

Bei den Antimykotika Voriconazol (24h 10,2%; 48h 17,8%) und Itraconazol (24h 11%; 48h 18,6%) konnte ein Häufigkeitsanstieg des Trailingphänomens in dem Medium RPMI+M nach 48h um den Faktor 1,7 nachgewiesen werden.

In YST fand sich nach 48h ein Trailing bei allen vier Antimykotika gegenüber der 24-Stundenauswertung. Bei den Azolantimykotika zeigte sich das Trailingphänomen mit ca. 10,6% häufiger als bei Flucytosin mit 1,7%.

Bei den Untersuchungen im Nährmedium MH+M konnte entgegen denen in anderen Medien nach 48h eine Abnahme der Trailinghäufigkeit von ca. 5% auf ca.1% festgestellt werden. Dieser Rückgang der Trailinghäufigkeit war durch die Tatsache bedingt, dass die Stämme mit ihrer MHK im resistenten Bereich oberhalb der höchsten getesteten Konzentration lagen. Damit war ein Wachstum in allen Kavitäten gegeben.

In detaillierter Darstellung ist das Trailingwachstumsphänomen der MF-Stämme nach 24h und 48h in den unterschiedlichen Medien der Tabelle 6.6 (s. Anhang) zu entnehmen:

In RPMI zeigten alle MF-Stämme nach 24h und 48h das Trailing-Wachstumsphänomen gegenüber den drei Azolantimykotika in mindestens 2 Untersuchungen pro Stamm. In den Methylenblau-haltigen Medien RPMI+M und YST war die Zahl der Stämme, die gegenüber den Azolantimykotika das Wachstumsphänomen „Trailing“ aufwiesen, deutlich geringer. So konnte in RPMI+M nach 24h bei 5 Stämmen, nach 48h bei 8 Stämmen sowie in YST sogar nur nach 48h bei 7 Stämmen das Wachstumsphänomen in mindestens einer Testung pro Stamm festgestellt werden. Die Stämme MF 03, MF 07 und MF 11 zeigten in allen drei Medien (RPMI, RPMI+M, YST) nach 48h ein Trailing.

Jeder untersuchte Stamm wies in mindestens einem Medium das Wachstumsphänomen nach 24h oder 48h auf. Es fand sich jedoch bei keinem Stamm in jeder Testung ein Trailing, sodass bei diesem Phänomen von einem Lifecircle-dependent-Phänomen auszugehen ist, welches nur an bestimmten Zeitpunkten auftritt.

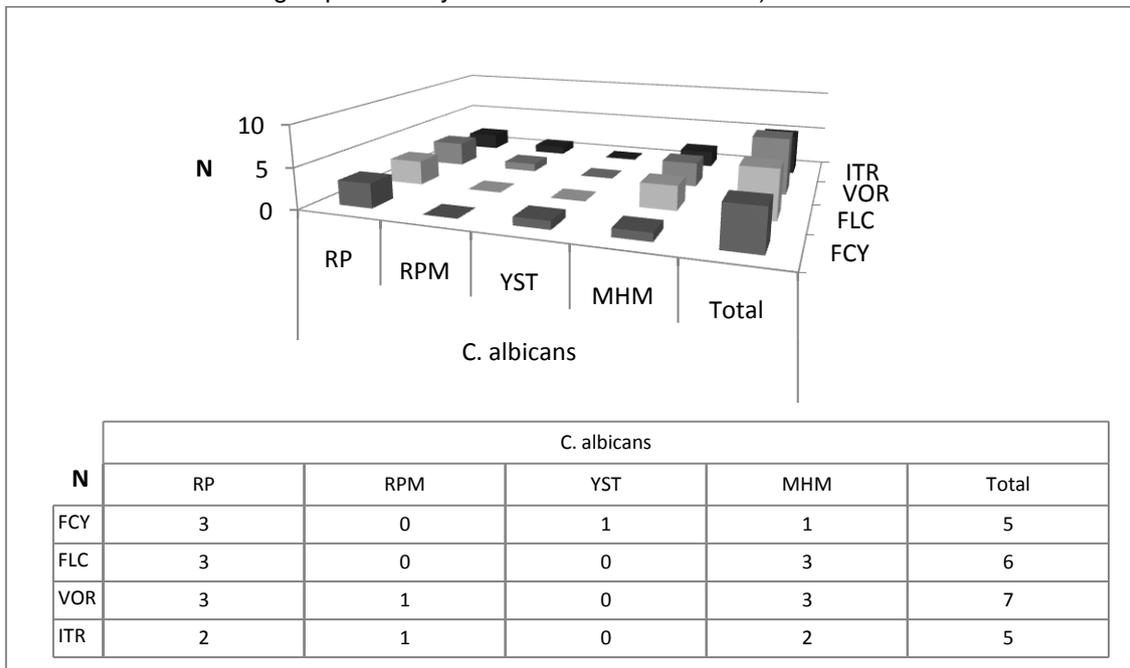
Das Medium MH+M bildete eine Ausnahme, hier fand sich sehr selten das Trailingphänomen, was auf die hohe Anzahl an Resistenzen in diesem Medium zurückzuführen war.

3.1.3.2 Kontrollstämme

In der Auswertung der Kontrollstämme wurden die *C. albicans*-Stämme gesondert betrachtet. Die anderen *Candida*-Arten wurden zur leichteren Orientierung zusammengefasst ausgewertet.

Aufgrund der geringen Zahl der Isolate erfolgte die Darstellung anhand der numerischen Häufigkeit des Trailingphänomens.

Abb. 3.26 Häufigkeit (N) des Trailingphänomens der *Candida albicans*-Kontrollstämme nach 24h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (N = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium)



	RP	RPM	YST	MHM
NT	11	10	10	10

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton +Methylenblau
 Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol
 Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Bei einer orientierenden Gesamtbetrachtung, ungeachtet der verwendeten Medien, zeigte sich nach 24h eine annähernd gleiche Häufigkeit des Trailings bei den vier Antimykotika – Abbildung 3.26.

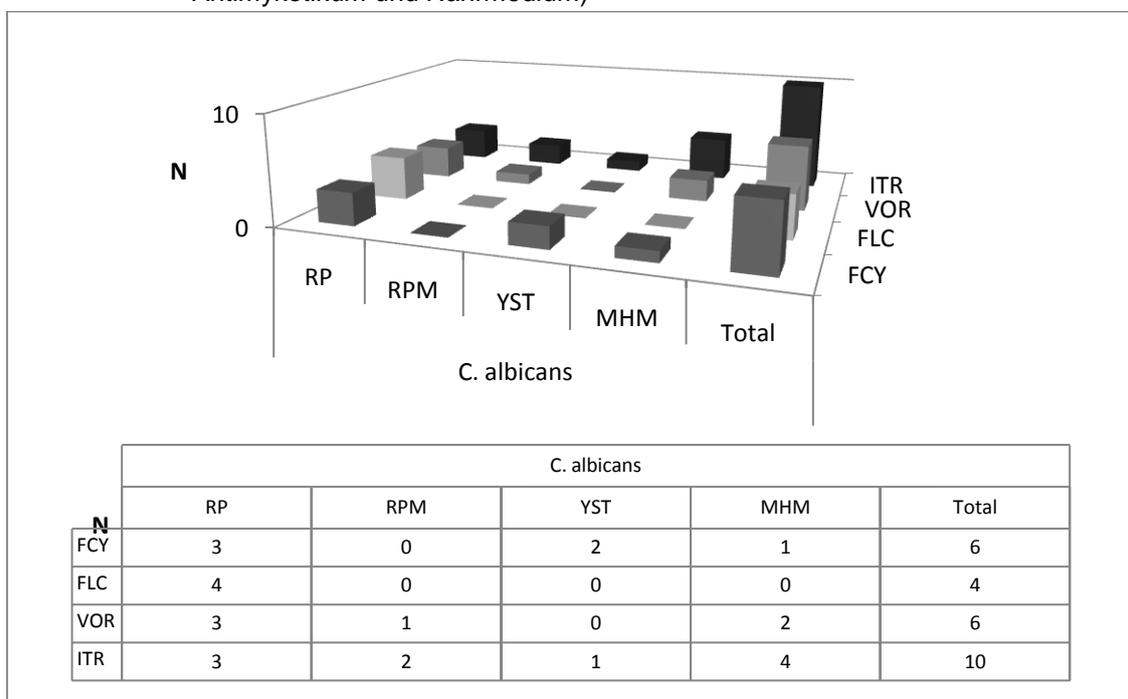
In dem Medium RPMI konnten zwischen den Antimykotika keine signifikanten Unterschiede in der Trailinghäufigkeit nach **24h** festgestellt werden.

In dem Medium RPMI+M konnte nur bei den Antimykotika Voriconazol und Itraconazol in einer von 9 Testungen ein Trailing nachgewiesen werden.

In dem Medium YST trat nur bei der Testung gegenüber Flucytosin in einer von 10 Testungen ein Trailingphänomen auf, nicht jedoch bei den anderen Antimykotika.

Mit der gleichen Häufigkeit wie in dem Medium RPMI zeigte sich das Trailingphänomen in MH+M bei den Azolantimykotika. Bei der Testung gegenüber Flucytosin konnte erneut bei nur einer der 10 Testungen ein Trailing festgestellt werden (Abbildung 3.26).

Abb. 3.27 Häufigkeit (N) des Trailingphänomens der *C. albicans*-Kontrollstämmen nach 48h bei Verwendung unterschiedlicher Nährmedien (N = Anzahl der Testungen pro Antimykotikum und Nährmedium)



	RP	RPM	YST	MHM
NT	11	10	10	10

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Mueller-Hinton +Methylenblau

Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948, DSM 11949

Nach **48h** zeigte sich in der Gesamtbetrachtung (Total) der *Candida albicans*-Stämme, ungeachtet der verwendeten Medien, bei Itraconazol eine Verdopplung der Trailinghäufigkeit von 5 auf 10 der insgesamt 41 Untersuchungen. Bei den Antimykotika Flucytosin und Voriconazol blieb die Häufigkeit des Trailingphänomens annähernd gleich (Abbildung 3.27). Bei Fluconazol war eine leichte Abnahme der Häufigkeit von 6 auf 4 der 41 Untersuchungen zu erkennen.

In dem Medium RPMI konnte gegenüber Flucytosin und Voriconazol kein Unterschied in der Trailinghäufigkeit nach 48h gegenüber 24h festgestellt werden. Bei Fluconazol (3 auf 4) und Itraconazol (2 auf 3) stieg die Häufigkeit nach 48h an.

Ein Trailing lag in RPMI+M erneut nur bei Voriconazol und Itraconazol vor. Während nach 48h gegenüber Itraconazol wieder nur eine von 9 Testungen Trailing aufwies, so zeigten 2 von 9 Testungen gegenüber Voriconazol das Trailingphänomen.

In dem Nährmedium YST ergab sich ein Trailing nach 48h bei 2 von 10 Testungen gegenüber Flucytosin sowie gegenüber Itraconazol bei einer von 10 Testungen.

In dem Medium MH+M wiesen die Stämme bei Verwendung von Fluconazol nach 48h Resistenzen auf, sodass kein Trailing mehr erkennbar war. Auch bei Voriconazol sank die Häufigkeit des Trailings von 3 auf 2 von 10 Testungen. Bei Itraconazol stieg die Häufigkeit des Trailingphänomens von 2 auf 4 von 10 Testungen an.

Aufgrund der geringen Anzahl bei den non-*Candida albicans*-Stämmen sind die Häufigkeiten des Trailingphänomens in Tabelle 3.3 gemeinsam mit den *C. albicans*-Stämmen dargestellt.

RPMI war auch hier das Medium, in dem das Trailingphänomen am häufigsten vorkam. Ein konstantes Trailing-Muster ergab sich jedoch für keine der untersuchten Arten in Bezug auf Nährmedium, Antimykotikum und Zeit.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass nach 24h die geringste Häufigkeit von Trailing in dem Medium YST auftrat gefolgt von RPMI+M < MH+M < RPMI. Dabei ist zu beachten, dass in MH+M zwar weniger Trailing als in RPMI nachzuweisen war, jedoch ein größerer Anteil der ermittelten MHK-Werte in hohen Konzentrationsbereichen lag und daher als resistent einzustufen war. Bei diesem Anteil konnte aufgrund der Resistenz kein Trailingphänomen vorkommen.

Nach 48h konnte in MH+M am wenigsten Trailing festgestellt werden, was auf den Anstieg an Resistenzen zurückzuführen und somit nicht als geringeres Trailingvorkommen zu werten war. In YST war erneut wenig Trailing aufgetreten gefolgt von RPMI+M < RPMI. Insgesamt zeigte sich ein Anstieg des Trailingphänomens bei einer Verlängerung der Inkubationszeit auf 48h.

Tab. 3.3 Häufigkeit des Trailingphänomens bei den Kontrollstämmen nach Arten zusammengefasst

Stamm/N	Medium	N	24h				48h			
			FCY	FLC	VOR	ITR	FCY	FLC	VOR	ITR
C. albicans 7	RP	11	3	3	3	2	3	4	3	3
	RPM	9	0	0	1	1	0	0	1	2
	YST	10	1	0	0	0	2	0	0	1
	MHM	10	1	3	3	2	1	0	2	4
	Total	40	5	6	7	5	6	4	6	10
C. glabrata 2	RP	3	0	0	0	0	0	1	1	1
	RPM	3	0	1	0	0	0	0	1	1
	YST	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	MHM	2	0	0	0	1	0	0	1	0
	Total	10	0	1	0	1	0	1	3	2
C. krusei 3	RP	11	3	2	1	2	1	1	1	1
	RPM	8	0	0	0	0	0	0	0	0
	YST	9	0	0	0	0	0	0	0	0
	MHM	8	1	1	1	1	0	0	0	0
	Total	36	4	3	2	3	1	1	1	1
C. parapsilosis 3	RP	12	3	2	2	4	4	3	3	2
	RPM	9	1	0	0	1	1	0	1	2
	YST	8	1	1	2	0	3	2	1	2
	MHM	8	0	0	0	1	0	1	1	1
	Total	37	5	3	4	6	8	6	6	7
C. tropicalis 3	RP	4	1	0	0	0	0	2	2	2
	RPM	4	1	0	0	0	0	1	1	1
	YST	4	1	0	0	0	0	0	1	1
	MHM	4	1	3	3	3	0	0	0	1
	Total	16	4	3	3	3	0	3	4	5
Total		139	18	16	16	18	15	15	20	25

Medien: RP=RPMI 1640, RPM=RPMI+Methylenblau, YST, MHM=Muller-Hinton
+Methylenblau

Antimykotika: FCY=Flucytosin, FLC=Fluconazol, VOR=Voriconazol, ITR=Itraconazol

Candida albicans: ATCC 90028, DSM 11943, DSM 11944, DSM 11945, DSM 11946, DSM 11948,
DSM 11949

Non-albicans: C. glabrata: DSM 11226, DSM 11950

C. krusei: ATCC 6258, DSM 11956, DSM 11957

C. parapsilosis: ATCC 22019, DSM 11224, DSM 11950

C. tropicalis: DSM 11951, DSM 11952, DSM 11953

3.2 Fractional Inhibitory Concentration (FIC) in der Checkerboard-Testung

Mittels der Checkerboard-Testung ist es möglich die Empfindlichkeit von Isolaten gegenüber zwei Antimykotika in Kombination sowie gegenüber jedem der beiden Antimykotikum einzeln zu testen. Die hier verwendeten Kombinationen bestanden aus Amphotericin B mit Flucytosin, Voriconazol mit Flucytosin und Voriconazol mit Anidulafungin. Durch die in diesem Testverfahren ermittelten MHK-Werte gegenüber den Antimykotika einzeln und gegenüber den Antimykotika in Kombination, die Kreuztitrations-MHK-Werte (KT-MHK), konnte die Fractional Inhibitory Concentration berechnet und in einem weiteren Schritt quantitativ und qualitativ bewertet werden (s. Material und Methoden: Auswertung). Daraufhin konnten Aussagen über das Verhalten der Antimykotikakombinationen wie synergistisch, additiv, indifferent oder antagonistisch gemacht werden. Die Testkollektive setzten sich unter anderem aus Stämmen zusammen, die gegenüber einem oder beiden der angewandten Antimykotika resistent waren. Außerdem stellte sich die Frage, ob bei diesen Antimykotikakombinationen ein Trailing-Wachstumsphänomen nachzuweisen ist.

3.2.1 Fractional Inhibitory Concentration der Kontrollstämmen und der *C. albicans*-MF-Stämme

Die ATCC-Kontrollstämmen (ATCC 6258, ATCC 22019, ATCC 90018) und die 25 *Candida albicans*-MF-Stämme wurden gegenüber den drei Antimykotikakombinationen getestet und deren Verhalten bestimmt. Als Nährmedium für diese Versuchsreihe wurde RPMI 2%-Glucose (in Anlehnung an das M 27-A2 document der CLSI) verwendet. Die Ablesung der MHK-Werte und der Kreuztitrations-MHK-Werte (KT-MHK) erfolgte visuell nach 24h und 48h.

3.2.1.1 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin gegenüber *Candida*-Kontrollstämmen und *Candida albicans*-MF-Stämmen

Candida-Kontrollstämmen

Die MHK-Werte (MHK) der Kontrollstämmen gegenüber Amphotericin B (APH) und Flucytosin (FCY) in der Einzeltestung, die MHK-Werte bei der Verwendung der Antimykotika in Kombination (Kreuztitration: KT-MHK) und die daraus errechneten FIC-Indices mit ihren quantitativen und qualitativen Auswertungen sind nach 24h und 48h in Tabelle 3.4 dargestellt.

Tab. 3.4 ATCC-Kontrollstämmen gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 24h und 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

ATCC-Stamm	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		APH	FCY	APH	FCY	FIC APH	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
6258	<i>C. krusei</i>	1	2	0,5	0,0625	0,5	0,03125	0,53125	ADD
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
90028	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,5	0,0625	1	0,25	1,25	IND
48h									
6258	<i>C. krusei</i>	1	4	1	0,0625	1	0,015625	1,015625	IND
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,5	0,25	0,25	0,125	0,5	0,5	1	IND
90028	<i>C. albicans</i>	1	1	0,5	0,0625	0,5	0,0625	0,5625	ADD

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Nach einer Inkubationszeit von **24h** wurde der FIC-Index des *C. krusei*-Stamms (ATCC 6258) in der qualitativen Bewertung als additiv eingestuft. Die FIC-Indices des *C. parapsilosis*-Stamms (ATCC 22019) und des *C. albicans*-Stamms (ATCC 90028) wurden als indifferent bewertet.

Bei einer Verlängerung der Inkubationszeit auf **48h** konnte ein Wechsel in der qualitativen Bewertung der FIC-Indices des *C. krusei*-Stamms und des *C. albicans*-Stamms festgestellt werden. So wurde der FIC-Index des *C. krusei*-Stamms als indifferent und der des *C. albicans*-Stamms als additiv bestimmt. Bei dem *C. parapsilosis*-Stamm zeigte sich keine Veränderung in der Bewertung bei verlängerter Inkubationszeit.

Es konnte zu keinem Zeitpunkt bei einem der Kontrollstämme gegenüber der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin ein antagonistischer Effekt festgestellt werden. Außerdem trat kein Trailingwachstumsphänomen auf.

Tab.3.5 Wechsel der qualitativen FIC-Index-Bewertung der ATCC-Kontrollstämme abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

ATCC-Stämme	Genus/Spezies	N		24h/48h	N
6258	<i>C. krusei</i>	1	▼	ADD/IND	1
22019	<i>C. parapsilosis</i>	1	►	IND/IND	1
90028	<i>C. albicans</i>	1	▲	IND/ADD	1

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Candida albicans-MF-Stämme

Die bei den *C. albicans*-MF-Stämmen ermittelten MHK-Werte gegenüber Amphotericin B und Flucytosin in der Einzeltestung (MHK) sowie in der Kombination (KT-MHK) mit den daraus resultierenden Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihren Bewertungen sind den Tabellen 3.6 und 3.7 zu entnehmen.

Tab.3.6 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		APH	FCY	APH	FCY	FIC APH	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
MF 01	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 02	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 03	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 04	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 05	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 06	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 07	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 08	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 09	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 10	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 11	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 12	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 13	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 14	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 15	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 16	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 17	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 18	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 19	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 20	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 21	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 22	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 23	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 24	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 25	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1	1,25	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Nach einer Inkubationszeit von **24h** wurde der FIC-Index bei 7 MF Stämmen (MF 06, MF 11, MF 14, MF 16, MF 17, MF 18, MF 21) als additiv eingestuft (Tabelle 3.6). Bei diesen Stämmen lag die MHK (0,5 mg/l) gegenüber Amphotericin B zwei Konzentrationsstufen höher als die Kreuztitrations-MHK (0,125 mg/l). Gegenüber Flucytosin lag die MHK (0,125 mg/l) eine Konzentrationsstufe höher als die

Kreuztitrations-MHK (0,0625 mg/l). Die FIC-Indices der verbleibenden MF-Stämme wurden als indifferent bewertet.

Tab.3.7 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		APH	FCY	APH	FCY	FIC APH	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
48h									
MF 01	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,25	0,125	0,5	0,5	1	IND
MF 02	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,25	0,0625	0,5	0,25	0,75	ADD
MF 03	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,25	0,125	0,5	0,5	1	IND
MF 04	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 05	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,125	0,125	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 06	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 07	<i>C. albicans</i>	0,5	0,5	0,25	0,125	0,5	0,25	0,75	ADD
MF 08	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 09	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 10	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,5	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MF 11	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,5	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MF 12	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,125	0,5	1	1,5	IND
MF 13	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,5	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MF 14	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 15	<i>C. albicans</i>	0,5	0,25	0,5	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MF 16	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 17	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,125	0,125	0,125	1	1,125	IND
MF 18	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,125	0,125	0,125	1	1,125	IND
MF 19	<i>C. albicans</i>	1	0,25	0,5	0,0625	0,5	0,25	0,75	ADD
MF 20	<i>C. albicans</i>	0,5	0,5	0,25	0,125	0,5	0,25	0,75	ADD
MF 21	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,125	0,125	0,125	1	1,125	IND
MF 22	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND
MF 23	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,125	0,125	0,125	1	1,125	IND
MF 24	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,125	0,125	0,125	1	1,125	IND
MF 25	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1	1,25	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Durch eine Verlängerung der Inkubationszeit auf **48h** wurden die nach 24h als additiv bewerteten FIC-Indices der 7 Stämme als indifferent eingestuft (Tabelle 3.7). Bei diesen Stämmen zeigte sich gegenüber Flucytosin mit Ausnahme des MF 11 Stamms kein Unterschied zwischen der MHK und der KT-MHK mehr. Der MF 11 Stamm wies gegenüber Flucytosin einen Unterschied zwischen der MHK und der KT-MHK von zwei Konzentrationsstufen auf, gegenüber Amphotericin B hingegen keinen. Gegenüber Amphotericin B fand sich bei den Stämmen MF 17, MF 18 und MF 21 ein Unterschied der MHK (1 mg/l) und der KT-MHK (0,125 mg/l) von drei Konzentrationsstufen.

5 weitere Stämme (MF 02, MF 05, MF 07, MF 19, MF 20) zeigten einen Wechsel in ihrer qualitativen FIC-Index Bewertung. Es kam zu einem Wechsel von indifferent nach 24h zu additiv nach 48h. Bei den Stämmen MF 02, MF 07, MF 19 und MF 20 fanden sich gegenüber Amphotericin B MHK-Werte, die eine Konzentrationsstufe höher lagen als die KT-MHK-Werte. Diese Abweichung unterliegt der Schwankungsbreite der Methode. Gegenüber Flucytosin zeigte sich bei diesen Stämmen die ermittelte MHK zwei Konzentrationsstufen höher als die KT-MHK.

Die verbleibenden 13 Stämme wurden erneut als indifferent eingestuft.

Tab.3.8 Wechsel der qualitativen FIC-Index Bewertung der *Candida albicans*-MF-Stämme abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

Genus/Spezies		24h/48h	N
C. albicans N=25	▶	IND/IND	13
	▼	ADD/IND	7
	▲	IND/ADD	5

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Es konnte bei 5 Stämmen eine Verbesserung der Qualität durch die Verlängerung der Inkubationszeit festgestellt werden, bei 7 jedoch eine Verschlechterung (Tabelle 3.8).

Bei keinem der MF-Stämme konnte zu irgendeinem Zeitpunkt ein antagonistischer Effekt oder ein Trailing bei der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin ermittelt werden.

3.2.1.2 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Flucytosin gegenüber *Candida*-Kontrollstämmen und *Candida albicans*-MF-Stämmen

Candida-Kontrollstämmen

Die MHK-Werte (MHK) der Kontrollstämmen gegenüber Voriconazol (VOR) und Flucytosin (FCY) in der Einzeltestung, die MHK-Werte bei der Verwendung der Antimykotika in Kombination (Kreuztitration: KT-MHK) und die daraus hervorgehenden FIC-Indices mit ihren quantitativen und qualitativen Auswertungen nach 24h und 48h sind in Tabelle 3.9 dargestellt.

Tab. 3.9 ATCC-Kontrollstämmen gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 24h und 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

ATCC-Stamm	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	FCY	VOR	FCY	FIC VOR	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
6258	<i>C. krusei</i>	0,25	2	0,25	0,0625	1	0,031	1,031	IND
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
90028	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
48h									
6258	<i>C. krusei</i>	0,5	4	0,5	0,0625	1	0,016	1,016	IND
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
90028	<i>C. albicans</i>	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Bei der qualitativen Bewertung des FIC-Index der drei Kontrollstämmen (ATCC 6258, ATCC 22019, ATCC 90028) wurden sie nach 24h und 48h als indifferent eingestuft.

Candida albicans-MF-Stämme

Die MHK-Werte gegenüber Voriconazol (VOR) und Flucytosin (FCY) in der Einzeltestung sowie in Kombination (KT-MHK) mit der errechneten Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihrer Bewertung sind in den Tabellen 3.10 und 3.11 aufgeführt.

Tab.3.10 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	FCY	VOR	FCY	FIC VOR	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
MF 01	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 02	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 03	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,0625	0,008	1	1,008	IND
MF 04	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 05	<i>C. albicans</i>	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MF 06	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 07	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 08	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 09	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 10	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 11	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 12	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 13	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 14	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 15	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 16	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 17	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 18	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 19	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 20	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 21	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 22	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 23	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 24	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 25	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Nach **24h** Inkubationszeit wurden die FIC-Indices aller MF-Stämme qualitativ als indifferent bewertet. Der MF 03-Stamm zeigte sich nach 24h bereits resistent gegenüber Voriconazol. Bei den MF-Stämmen MF 08 und MF 09 lag die MHK (0,5 mg/l) gegenüber Voriconazol eine Konzentrationsstufe höher als die KT-MHK (0,25 mg/l), was in der Schwankungsbreite der Methode lag. Die MHK (1 mg/l) des MF 05 Stamms lag zwei Konzentrationsstufen höher als die KT-MHK (0,125 mg/l) gegenüber Voriconazol. Gegenüber Flucytosin konnte nur bei dem Stamm MF 07 eine Abweichung der MHK (0,125 mg/l) von der KT-MHK (0,0625 mg/l) festgestellt werden.

Tab.3.11 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	FCY	VOR	FCY	FIC VOR	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
48h									
MF 01	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 02	<i>C. albicans</i>	4	0,125	0,25	0,0625	0,063	0,5	0,563	ADD
MF 03	<i>C. albicans</i>	32	0,125	0,25	0,0625	0,008	0,5	0,508	ADD
MF 04	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 05	<i>C. albicans</i>	1	0,125	0,25	0,0625	0,25	0,5	0,75	ADD
MF 06	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 07	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 08	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 09	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 10	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,0625	0,5	0,5	1	IND
MF 11	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 12	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 13	<i>C. albicans</i>	2	0,125	0,25	0,0625	0,125	0,5	0,625	ADD
MF 14	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 15	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 16	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 17	<i>C. albicans</i>	2	0,125	0,25	0,0625	0,125	0,5	0,625	ADD
MF 18	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 19	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,0625	0,5	0,5	1	IND
MF 20	<i>C. albicans</i>	2	0,125	0,25	0,0625	0,125	0,5	0,625	ADD
MF 21	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,0625	0,5	0,5	1	IND
MF 22	<i>C. albicans</i>	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MF 23	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MF 24	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MF 25	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,0625	0,5	0,5	1	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Bei der qualitativen Bewertung der FIC-Indices nach **48h** wurden 6 MF-Stämme (MF 02, MF 03, MF 05, MF 13, MF 17, MF 20) als additiv eingestuft (Tabelle 3.11). Es trat somit eine Verbesserung des Kombinationseffekts durch die verlängerte Inkubationszeit ein. Diese 6 Stämme zeigten gegenüber Flucytosin eine MHK (0,125 mg/l), die eine Konzentrationsstufe höher lag als die KT-MHK (0,0625 mg/l). Gegenüber Voriconazol zeigten sich der MF 02 (MHK 4 mg/l) und MF 03 Stamm (32 mg/l) resistent. Die Stämme MF 13, MF 17 und MF 20 (MHK 2 mg/l) wurden gegenüber Voriconazol in der S-I-R Klassifikation als intermediär eingeordnet, nur der MF 05 Stamm, der durch den FIC-Index ebenfalls als additiv eingestuft wurde, erwies sich als sensibel gegenüber Voriconazol nach 48h.

Bei den verbleibenden 19 MF Stämmen wurden die FIC-Indices nach verlängerter Inkubationszeit qualitativ erneut als indifferent bewertet.

Tab.3.12 Wechsel der qualitativen FIC-Index Bewertung der *Candida albicans*-MF-Stämme abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

Genus/Spezies		24h/48h	N
<i>C. albicans</i> N=25	▶	IND/IND	19
	▲	IND/ADD	6

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Weder bei den MF-Stämmen noch bei den Kontrollstämmen konnte ein antagonistischer Effekt bei der Kombination von Voriconazol und Flucytosin verzeichnet werden. Außerdem konnte auch bei dieser Antimykotikakombination kein Trailingphänomen festgestellt werden.

3.2.1.3 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Anidulafungin gegenüber *Candida*-Kontrollstämmen und *Candida albicans*-MF-Stämmen

Candida-Kontrollstämmen

Die MHK-Werte (MHK) der Kontrollstämmen gegenüber Voriconazol (VOR) und Anidulafungin (ANF) in der Einzeltestung, die MHK-Werte bei der Verwendung der Antimykotika in Kombination (Kreuztitration: KT-MHK) und die daraus hervorgehenden

FIC-Indices mit ihren quantitativen und qualitativen Auswertungen nach 24h und 48h sind in Tabelle 3.13 dargestellt.

Tab. 3.13 ATCC-Kontrollstämmen gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** bei einer Inkubationszeit von 24h und 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

ATCC-Stamm	Genus/Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	ANF	VOR	ANF	FIC VOR	FIC ANF	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
6258	<i>C. krusei</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,25	0,5	0,25	0,03125	1	0,0625	1,0625	IND
90028	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
48h									
6258	<i>C. krusei</i>	0,5	0,25	0,25	0,03125	0,5	0,125	0,625	ADD
22019	<i>C. parapsilosis</i>	0,25	0,5	0,25	0,03125	1	0,0625	1,0625	IND
90028	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Bei der qualitativen Bewertung der errechneten Fractional Inhibitory Concentration nach **24h** zeigte sich bei allen Kontrollstämmen ein indifferentes Verhalten.

In der **48h**-Bewertung konnte bei dem *Candida krusei*-Stamm ATCC 6258 ein additiver Effekt festgestellt werden (Tabelle 3.13). Hier ergab sich bei der qualitativen Auswertung des FIC-Index ein Wechsel von indifferent nach additiv bei verlängerter Inkubationszeit auf 48h. Die beiden anderen ATCC-Kontrollstämmen erhielten nach 48h die gleiche Bewertung des Indexes (Indifferenz) wie nach 24h.

Tab.3.14 Wechsel der qualitativen FIC-Index Bewertung der ATCC- Kontrollstämmen abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

ATCC-Stamm	Genus/Spezies	N		24h/48h	N
90028	<i>C. albicans</i>	1	▶	IND/ IND	1
6258	<i>C. krusei</i>	1	▲	IND/ ADD	1
22019	<i>C. parapsilosis</i>	1	▶	IND/ IND	1

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Es zeigte sich bei den Kontrollstämmen zu keinem Zeitpunkt ein Antagonismus in der qualitativen Bewertung des FIC-Index (Tabelle 3.13).

Candida albicans-MF-Stämme

Die MHK-Werte (MHK) der *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber Voriconazol (VOR) und Anidulafungin (ANF) in der Einzeltestung sowie in der Kombination (KT-MHK) mit der sich daraus ergebenden Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihrer quantitativen und qualitativen Bewertung sind den Tabellen 3.15-3.16 zu entnehmen.

Tab.3.15 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** nach einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	ANF	VOR	ANF	FIC VOR	FIC ANF	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
24h									
MF01	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF02	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF03	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0626	0,25	0,03125	1	0,499	1,499	IND
MF04	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF05	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF06	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF07	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF08	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF09	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF10	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF11	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF12	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF13	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF14	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF15	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF16	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF17	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF18	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF19	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF20	<i>C. albicans</i>	0,5	0,03125	0,25	0,03125	0,5	1	1,5	IND
MF21	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF22	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF23	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF24	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF25	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Bei den *C. albicans*-MF-Stämmen ergab sich bei allen Stämmen in der **24h**-Bewertung ein indifferentes Verhalten. Drei Stämme (MF 03, MF 11, MF 25) zeigten eine Abweichung der MHK (0,0625 mg/l) von der KT-MHK (0,03125 mg/l) gegenüber Anidulafungin um eine Konzentrationsstufe. Bei dem MF 20 Stamm fand sich eine

Abweichung der MHK (0,5 mg/l) von der KT-MHK (0,25 mg/l) gegenüber Voriconazol. Diese Abweichungen entsprachen der Schwankungsbreite der Methode. Bei MHK-Werten in diesen Konzentrationsbereichen gilt der Stamm in der S-I-R Klassifikation als sensibel.

Tab.3.16 *Candida albicans*-MF-Stämme gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** nach einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr. I	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	ANF	VOR	ANF	FIC VOR	FIC ANF	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
48h									
MF01	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF02	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF03	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,008	0,5	0,508	ADD
MF04	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF05	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF06	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF07	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF08	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,5	0,5	1	IND
MF09	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF10	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF11	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,5	0,5	1	IND
MF12	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF13	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,008	0,5	0,508	ADD
MF14	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF15	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF16	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF17	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF18	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF19	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF20	<i>C. albicans</i>	0,5	0,125	0,25	0,03125	0,5	0,25	0,75	ADD
MF21	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF22	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1	1	2	IND
MF23	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF24	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND
MF25	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1	0,5	1,5	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Bei der qualitativen Bewertung des FIC-Index der *Candida albicans*-MF-Stämme nach **48h** konnte bei drei Stämmen (MF 03, MF 13, MF 20) ein additiver Effekt im Gegensatz zu den anderen Stämmen festgestellt werden. Es zeigte sich bei allen drei Stämmen eine Veränderung von indifferent zu additiv nach einer verlängerten Inkubationszeit auf 48h (Tabelle 3.17). Die Stämme MF 03 und MF 13 erwiesen sich nach 48h als

resistent gegenüber Voriconazol. Bei den verbleibenden 22 Stämmen fand sich keine Veränderung in der qualitativen FIC-Index Bewertung nach 48h, das Verhalten in der Kreuztitration war und blieb indifferent einzustufen (Tabelle 3.17). Es zeigten sich bei einigen dieser Stämme Abweichungen zwischen den MHK-Werten und den KT-MHK-Werten gegenüber beiden Antimykotika, die jedoch nicht mehr als eine Konzentrationsstufe voneinander abwichen und somit der methodischen Schwankungsbreite unterlagen.

Bei den *Candida albicans*-MF-Stämmen fand sich weder nach 24h noch nach 48h Inkubationszeit ein Antagonismus in der qualitativen Bewertung des FIC-Index. Auch ein Trailingphänomen konnte nicht festgestellt werden.

Tab.3.17 Wechsel der qualitativen FIC-Index Bewertung der *Candida albicans*-MF-Stämme abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

Genus/Spezies		24h/48h	N
<i>C. albicans</i> N=25	▶	IND/ IND	22
	▲	IND/ ADD	3

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass weder bei den Kontrollstämmen noch bei den *C. albicans*-MF-Stämmen in einer der drei Antimykotikakombinationen zu irgendeinem Zeitpunkt ein Antagonismus auftrat. Nach 24h und 48h konnten die FIC-Indices qualitativ nur als additiv oder indifferent bewertet werden.

Bei den Kontrollstämmen stellte sich kein Muster in der qualitativen Bewertung dar.

Bei den *Candida albicans*-MF-Stämmen zeigten sich hingegen Muster in der Bewertung nach 48h. Die in der Antimykotikakombination Voriconazol und Anidulafungin als additiv eingestuft Stämme MF 03, MF 13 und MF 20 wurden auch in der Kombination Voriconazol und Flucytosin nach 48h als additiv eingestuft. So wurden die in der Kombination Voriconazol und Flucytosin nach 48h als additiv bewerteten Stämme MF 02, MF 05 und MF 20 auch in der Kombination Flucytosin und Amphotericin B als additiv bewertet. Bei diesen Stämmen führte die Verlängerung der Inkubationszeit auf 48h zu einem verbesserten Kombinationseffekt.

Es ist zu betonen, dass bei keiner der drei Kombinationen ein Trailing-Wachstumsphänomen festzustellen war.

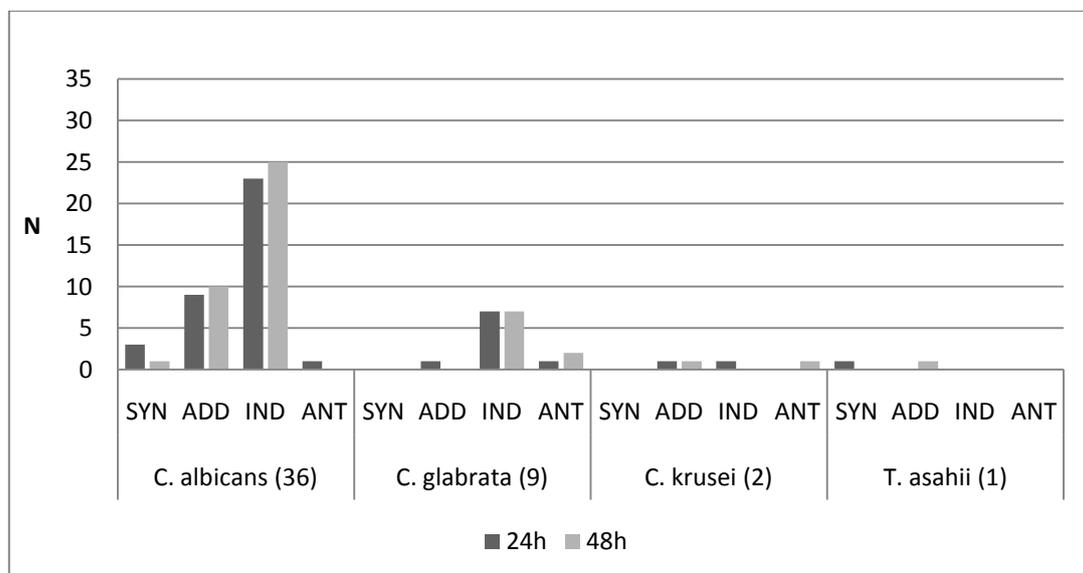
3.2.2 Fractional Inhibitory Concentration bei Patientenstämmen

Das Kollektiv aus 48 Patientenstämmen setzte sich wie folgt zusammen: 36 *Candida albicans*-Stämme, 9 *Candida glabrata*-Stämme, 2 *Candida krusei*-Stämme und ein *Trichosporon asahii*-Stamm. Es wurde der Einfluss der Kombination von Amphotericin B mit Flucytosin, Voriconazol mit Flucytosin und Voriconazol mit Anidulafungin auf die Empfindlichkeit dieser Stämme getestet. Als Nährmedium wurde in Anlehnung an das CLSI M27-A2 document RPMI 2%-Glucose verwendet. Die Ablesung erfolgte nach 24h und 48h visuell.

3.2.2.1 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Amphotericin B und Flucytosin gegenüber Patientenstämmen

Die qualitative Bewertung des FIC-Index der Patientenstämmen ist in Abbildung 3.28 im Überblick dargestellt.

Abb. 3.28 Patientenstämmen gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h spezienbezogen dargestellt (N = Anzahl der Stämme)



Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SYN**ergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Die MHK-Werte (MHK) der Patientenstämme gegenüber Amphitericin B (APH) und Flucytosin (FCY) in der Einzeltestung sowie in der Kombination (KT-MHK) mit der daraus berechneten Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihrer quantitativen und qualitativen Bewertung nach 24h und 48h sind den Tabellen 3.18-3.19 zu entnehmen.

Bei der qualitativen Bewertung der FIC-Indices nach einer Inkubationszeit von **24h** wurde bei den meisten Isolaten ein indifferenter Effekt der Antimykotikakombination festgestellt (31 von 48 Isolaten) gefolgt von einem additiven Effekt bei 11 der 48 Isolate. Bei 4 der Isolate wurde der FIC-Index als synergistisch bewertet. Die FIC-Indices des *C. albicans*-Stamms MY 7474 und des *C. glabrata*-Stamms MZ 174 wurden als antagonistisch eingestuft. Bei beiden Stämmen lagen die KT-MHK-Werte für FCY um den Faktor 4 (MHK 0,0625mg/l, KT-MHK 0,25mg/l) höher, sodass rechnerisch nach dem FIC-Index qualitativ ein Antagonismus vorlag. Der KT-MHK-Wert und der MHK-Wert gegenüber Flucytosin sind jedoch als (hoch-) sensibel nach den Breakpoints zu bewerten. Hier liegt daher ein mathematischer Antagonismus vor, der keine klinische Relevanz hat. Die Gesamtbewertung nach 24h zeigte sich wie folgt: SYN n=4, ADD n=11, IND n=31, ANT n=2.

Bei der Verlängerung der Inkubationszeit auf **48h** fand sich bei den meisten Isolaten eine qualitative Bewertung der FIC-Indices als indifferent (33 von 48 Isolaten). Bei 11 Isolaten ergab die Bewertung eine Einstufung der Antimykotikakombination als additiv. Nur bei dem Stamm MY 6194 wurde der nach der Inkubationszeit von 24h als synergistisch bewertete FIC-Index auch nach 48h als synergistisch bewertet. Der FIC-Index des MZ 174 Stamms (*C. glabrata*) wurde nach 48h erneut als antagonistisch eingestuft. Der KT-MHK-Wert und der MHK-Wert gegenüber Flucytosin sind weiterhin als sensibel zu bewerten. Desweiteren wurde der FIC-Index des MZ 196 Stamms (*C. glabrata*) und des MY 4511 Stamms (*C. krusei*) nach der verlängerten Inkubationszeit als antagonistisch bewertet. Diese Stämme erwiesen sich gegenüber Amphotericin B in der S-I-R Klassifikation als resistent, jedoch sensibel gegenüber Flucytosin. Daher liegt auch hier ein mathematischer Antagonismus. Die Gesamtbewertung nach 48h stellte sich wie folgt dar: SYN n=1, ADD n=11, IND n=33, ANT n=3

Bei 18 der 48 Stämme konnte ein Wechsel in der Bewertung nach 48h festgestellt werden (Tabelle 3.20). Dabei verbesserte sich bei 6 Stämmen der Effekt der Kombination durch die Verlängerung der Inkubationszeit. Bei 12 Stämmen hingegen verschlechterte er sich. Bei 30 Stämmen zeigte sich nach 48h keine Veränderung in der Bewertung.

Tab. 3.18 Patientenstämme gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		APH	FCY	APH	FCY	FIC APH	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 420 I	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 238	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 7474	C. albicans	1	0,0625	0,125	0,25	0,13	4,00	4,13	ANT
MZ 569	C. albicans	1	0,125	0,125	0,0625	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 563 I	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1161	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 685	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 590	C. albicans	0,5	0,0625	0,0625	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 588	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 586	C. albicans	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1369	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1204	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1173	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 923	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 837 II	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1452	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 6555	C. albicans	1	0,5	0,5	0,125	0,50	0,25	0,75	ADD
MY 6559	C. albicans	3	0,0625	0,125	0,0625	0,04	1,00	1,04	IND
MZ 1551	C. albicans	0,5	0,25	0,125	0,25	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1553	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1563	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1569	C. albicans	0,5	0,5	0,125	0,0625	0,25	0,13	0,38	SYN
MZ 1571	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1579	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1559	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1537	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1440 I	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1420	C. albicans	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MX 74	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 6363	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 6372	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 6194	C. albicans	0,5	0,5	0,125	0,0625	0,25	0,13	0,38	SYN
MY 6130	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1490	C. albicans	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,25	0,25	0,50	SYN
MZ 1486	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 4659	C. albicans	0,5	0,25	0,125	0,25	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 563 II	T. asahii	1	2	0,125	0,0625	0,13	0,03	0,16	SYN
MZ 196	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 174	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,25	0,13	4,00	4,13	ANT
MZ 601	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 961	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1461 I	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1481	C. glabrata	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 1478	C. glabrata	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MY 4622	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MY 4256	C. glabrata	1	64	0,5	4	0,50	0,06	0,56	ADD
MZ 425 I	C. krusei	1	8	0,5	2	0,50	0,25	0,75	ADD
MY 4511	C. krusei	1	2	0,125	2	0,13	1,00	1,13	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab. 3.19 Patientenstämme gegenüber **Amphotericin B** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		APH	FCY	APH	FCY	FIC APH	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 420 I	C. albicans	1	0,25	0,5	0,25	0,50	1,00	1,50	IND
MZ 238	C. albicans	1	0,25	0,125	0,25	0,13	1,00	1,13	IND
MY 7474	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 569	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 563 I	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1161	C. albicans	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 685	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 590	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 588	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 586	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1369	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1204	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1173	C. albicans	1	0,25	0,125	0,125	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 923	C. albicans	1	0,25	0,125	0,25	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 837 II	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1452	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MY 6555	C. albicans	1	2	0,5	0,5	0,50	0,25	0,75	ADD
MY 6559	C. albicans	4	0,125	0,125	0,125	0,03	1,00	1,03	IND
MZ 1551	C. albicans	1	0,5	0,125	0,5	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1553	C. albicans	1	0,25	0,125	0,125	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 1563	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1569	C. albicans	1	0,5	0,125	0,25	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 1571	C. albicans	1	0,125	0,125	0,0625	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 1579	C. albicans	0,5	0,25	0,125	0,125	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1559	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,0625	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 1537	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1440 I	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1420	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MX 74	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MY 6363	C. albicans	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MY 6372	C. albicans	0,5	0,125	0,125	0,125	0,25	1,00	1,25	IND
MY 6194	C. albicans	1	64	0,125	8	0,13	0,13	0,25	SYN
MY 6130	C. albicans	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1490	C. albicans	1	0,5	0,125	0,5	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1486	C. albicans	0,5	0,25	0,125	0,125	0,25	0,50	0,75	ADD
MY 4659	C. albicans	1	2	0,5	0,125	0,50	0,06	0,56	ADD
MZ 563 II	T. asahii	2	16	0,5	8	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 196	C. glabrata	2	0,125	0,125	0,25	0,06	2,00	2,06	ANT
MZ 174	C. glabrata	1	0,125	0,125	0,25	0,13	2,00	2,13	ANT
MZ 601	C. glabrata	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 961	C. glabrata	2	0,125	0,125	0,125	0,06	1,00	1,06	IND
MZ 1461 I	C. glabrata	1	0,125	0,125	0,125	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1481	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MZ 1478	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MY 4622	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,0625	0,13	1,00	1,13	IND
MY 4256	C. glabrata	1	64	1	0,0625	1,00	0,01	1,01	IND
MZ 425 I	C. krusei	2	8	1	4	0,50	0,50	1,00	IND
MY 4511	C. krusei	2	2	0,125	4	0,06	2,00	2,06	ANT

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab.3.20 Wechsel der qualitativen FIC-Index-Bewertung der Patientienstämme abhängig von der Inkubtionszeit 24h und 48h

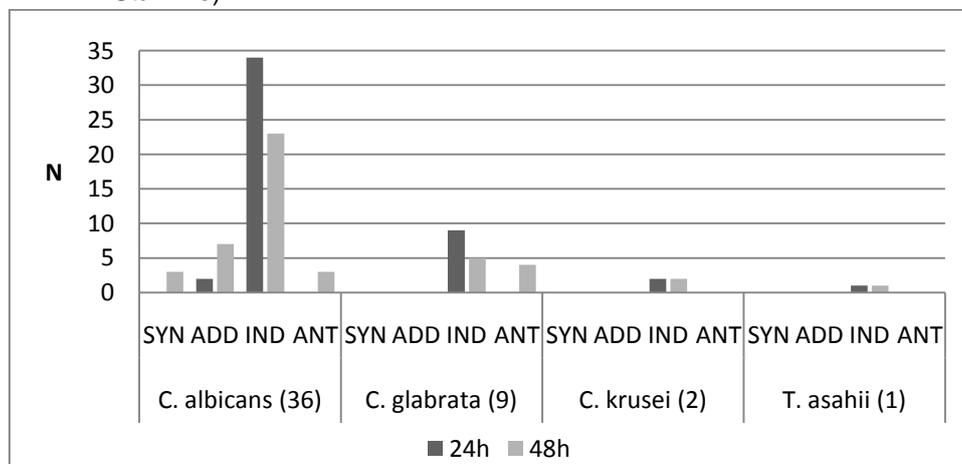
Stamm-Nr. I	Genus/Spezies		24h/48h
MY 4659	C. albicans	▲	IND/ADD
MY 7474	C. albicans	▲	ANT/IND
MZ 1173	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1369	C. albicans	▼	ADD/IND
MZ 1440 I	C. albicans	▼	ADD/IND
MZ 1486	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1490	C. albicans	▼	SYN/IND
MZ 1559	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1569	C. albicans	▼	SYN/ADD
MZ 1571	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 569	C. albicans	▼	ADD/IND
MZ 837 II	C. albicans	▼	ADD/IND
MZ 923	C. albicans	▼	ADD/IND
MY 4256	C. glabrata	▼	ADD/IND
MZ 196	C. glabrata	▼	IND/ANT
MY 4511	C. krusei	▼	IND/ANT
MZ 425 I	C. krusei	▼	ADD/IND
MZ 563 II	T. asahii	▼	SYN/ADD

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

3.2.2.2 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Flucytosin gegenüber Patientienstämmen

In Abbildung 3.29 ist die qualitative Bewertung der FIC-Indices der Patientienstämme zusammengefasst dargestellt.

Abb. 3.29 Patientienstämme gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h speziesbezogen dargestellt (N = Anzahl der Stämme)



Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab. 3.21 Patientenstämme gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	FCY	VOR	FCY	FIC VOR	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 569	C. albicans	32	0,125	0,25	0,0625	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 563 I	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 420	C. albicans	8	0,0625	0,25	0,0625	0,03125	1	1,03125	IND
MZ 238	C. albicans	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MY 7474	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1161	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 685	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 590	C. albicans	2	0,0625	0,25	0,0625	0,125	1	1,125	IND
MZ 588	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 586 I	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1369	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1204	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1173	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 923	C. albicans	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MZ 837 II	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1559	C. albicans	2	0,0625	0,25	0,0625	0,125	1	1,125	IND
MZ 1537	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1440 I	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1420	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MX 74	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 6363	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 6372	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 6194	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MY 6130	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1490	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MZ 1486	C. albicans	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MY 6555	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MY 6559	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1551	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MZ 1553	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1563	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1569	C. albicans	0,25	0,5	0,25	0,0625	1	0,125	1,125	IND
MZ 1571	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1579	C. albicans	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MY 4659	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MZ1452	C. albicans	4	0,125	0,25	0,0625	0,0625	0,5	0,5625	ADD
MZ 563 II	T. asahii	0,25	8	0,25	0,0625	1	0,0078125	1,0078125	IND
MZ 196	C. glabrata	2	0,0625	0,25	0,0625	0,125	1	1,125	IND
MZ 174	C. glabrata	0,5	0,0625	0,25	0,0625	0,5	1	1,5	IND
MZ 601	C. glabrata	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MZ 961	C. glabrata	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MZ 1461 I	C. glabrata	8	0,0625	0,25	0,0625	0,03125	1	1,03125	IND
MZ 1481	C. glabrata	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1478	C. glabrata	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 4622	C. glabrata	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 4256	C. glabrata	8	64	8	0,0625	1	0,00097656	1,00097656	IND
MZ 425 I	C. krusei	0,25	4	0,25	0,0625	1	0,015625	1,015625	IND
MY 4511	C. krusei	2	2	2	0,0625	1	0,03125	1,03125	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Die MHK-Werte (MHK) gegenüber Voriconazol (VOR) und Flucytosin (FCY) in der Einzeltestung sowie in Kombination (KT-MHK) mit der daraus errechneten Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihrer quantitativen und qualitativen Bewertung nach 24h und 48h sind den Tabellen 3.21-3.22 zu entnehmen.

Nach einer Inkubationszeit von **24h** wurden die FIC-Indices bei 46 der 48 Stämme qualitativ als indifferent bewertet. Bei 2 Stämmen konnte der FIC-Index als additiv eingestuft werden. Auch die Kontroll- und *Candida albicans*-MF-Stämme zeigten bei dieser Antimykotikakombination eine indifferente FIC-Index Bewertung. Die Gesamtbewertung nach 24h stellte sich wie folgt dar: ADD n=2, IND n=46.

Nach einer Verlängerung der Inkubationszeit auf **48h** fand sich ein differenzierteres Bild bei der qualitativen Auswertung der Indices.

Bei 31 der 48 Stämme konnte trotz der längeren Inkubationszeit keine andere qualitative Bewertung der FIC-Indices erfolgen. Bei 30 Stämmen wurde der Index wie nach 24h auch nach 48h als indifferent bewertet. Die qualitative Bewertung bei dem *C. albicans*-Stamm MZ 1452 war und blieb additiv.

Bei 3 der *C. albicans*-Stämme wurde eine Einstufung als synergistisch nach 48h vorgenommen, die nach 24h noch als indifferent galten. Die Mehrzahl mit 31 von 48 Stämmen wurde als indifferent eingeteilt. Als antagonistisch wurde der FIC-Index nach 48h Inkubationszeit bei 7 Stämmen bewertet. In der S-I-R Klassifikation wurden aufgrund der MHK-Werte der Einzeltestung 5 der Stämme als resistent und 2 als intermediär gegenüber Voriconazol eingeordnet. Gegenüber Flucytosin waren alle 7 Stämme hochsensibel. Die höheren KT-MHK von Flucytosin wurden hier im qualitativen FIC-Index als antagonistisch bewertet, doch lagen alle KT-MHK-Werte nach den geltenden Breakpoints immer noch im sensiblen Bereich. Es liegt daher ein mathematischer Antagonismus vor. Insgesamt zeigte sich die Bewertung wie folgt: SYN n=3, ADD n=7, IND n=31, ANT n=7.

Bei 9 Stämmen verbesserte sich durch die verlängerte Inkubationszeit (48h) der Effekt der Kombination, bei 8 Stämmen hingegen verschlechterte er sich (Tabelle 3.23).

Tab. 3.22 Patientenstämme gegenüber **Voriconazol** und **Flucytosin** bei einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	FCY	VOR	FCY	FIC VOR	FIC FCY	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 569	C. albicans	32	0,25	0,25	0,25	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 563 I	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 420	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 238	C. albicans	32	0,25	0,25	0,0625	0,0078125	0,25	0,2578125	SYN
MY 7474	C. albicans	0,25	0,125	0,25	0,125	1	1	2	IND
MZ 1161	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 685	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 590	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 588	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 586 I	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
MZ 1369	C. albicans	32	0,125	0,25	0,0625	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 1204	C. albicans	32	0,125	0,25	0,0625	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 1173	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 923	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 837 II	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1559	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1537	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1440 I	C. albicans	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MZ 1420	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
MX 74	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MY 6363	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,0625	0,0078125	1	1,0078125	IND
MY 6372	C. albicans	0,25	0,125	0,25	0,0625	1	0,5	1,5	IND
MY 6194	C. albicans	2	64	0,25	0,0625	0,125	0,000977	0,125977	IND
MY 6130	C. albicans	0,25	0,0625	0,25	0,0625	1	1	2	IND
MZ 1490	C. albicans	2	0,5	0,25	0,0625	0,125	0,125	0,25	SYN
MZ 1486	C. albicans	32	0,125	0,25	0,0625	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MY 6555	C. albicans	0,25	2	0,25	0,0625	1	0,03125	1,03125	IND
MY 6559	C. albicans	32	0,125	0,25	0,125	0,0078125	1	1,0078125	IND
MZ 1551	C. albicans	32	0,5	0,25	0,25	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 1553	C. albicans	32	0,125	0,25	1	0,0078125	8	8,0078125	ANT
MZ 1563	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MZ 1569	C. albicans	32	0,5	0,25	0,25	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 1571	C. albicans	32	0,25	0,25	0,125	0,0078125	0,5	0,5078125	ADD
MZ 1579	C. albicans	32	0,25	0,25	0,0625	0,0078125	0,25	0,2578125	SYN
MY 4659	C. albicans	0,25	0,25	0,25	0,0625	1	0,25	1,25	IND
MZ1452	C. albicans	16	0,125	0,25	0,0625	0,015625	0,5	0,515625	ADD
MZ 563 II	T. asahii	0,25	8	0,25	0,0625	1	0,007813	1,007813	IND
MZ 196	C. glabrata	4	0,0625	0,25	0,125	0,0625	2	2,0625	ANT
MZ 174	C. glabrata	2	0,0625	0,25	0,125	0,125	2	2,125	ANT
MZ 601	C. glabrata	2	0,125	0,25	0,125	0,125	1	1,125	IND
MZ 961	C. glabrata	2	0,125	0,25	0,125	0,125	1	1,125	IND
MZ 1461 I	C. glabrata	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
MZ 1481	C. glabrata	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MZ 1478	C. glabrata	2	0,0625	0,25	0,125	0,125	2	2,125	ANT
MY 4622	C. glabrata	1	0,0625	0,25	0,0625	0,25	1	1,25	IND
MY 4256	C. glabrata	8	64	8	4	1	0,0625	1,0625	IND
MZ 425 I	C. krusei	1	4	0,25	4	0,25	1	1,25	IND
MY 4511	C. krusei	4	8	4	0,125	1	0,015625	1,015625	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab.3.23 Wechsel der qualitativen FIC-Index-Bewertung der Patientienstämme abhängig von der Zeit 24h und 48h

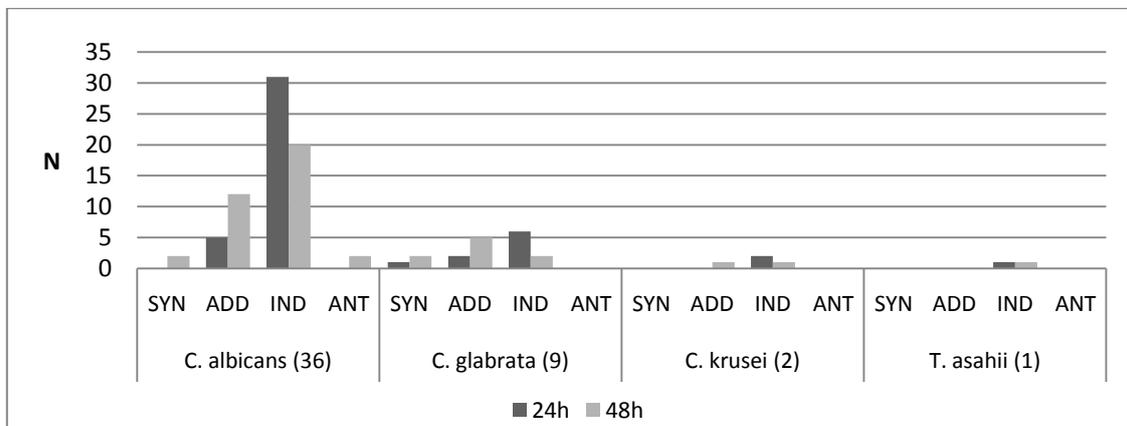
Stamm-Nr. I	Genus/Spezies		24h/48h
MZ 1204	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1369	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1420	C. albicans	▼	IND/ANT
MZ 1486	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1490	C. albicans	▲	IND/SYN
MZ 1551	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1553	C. albicans	▼	IND/ANT
MZ 1569	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1571	C. albicans	▲	IND/ADD
MZ 1579	C. albicans	▲	IND/SYN
MZ 238	C. albicans	▲	IND/SYN
MZ 569	C. albicans	▼	ADD/IND
MZ 586 I	C. albicans	▼	IND/ANT
MZ 1461 I	C. glabrata	▼	IND/ANT
MZ 1478	C. glabrata	▼	IND/ANT
MZ 174	C. glabrata	▼	IND/ANT
MZ 196	C. glabrata	▼	IND/ANT

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

3.2.2.3 Fractional Inhibitory Concentration bei der Kombination von Voriconazol und Anidulafungin gegenüber Patientienstämmen

Ein erster Überblick anhand der qualitativen Bewertung des FIC-Indexes ist in Abbildung 3.30 dargestellt.

Abb. 3.30 Patientienstämme gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h spezienbezogen dargestellt (N = Anzahl der Stämme)



Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab. 3.24 Patientenstämme gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** bei einer Inkubationszeit von 24h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	ANF	VOR	ANF	FIC VOR	FIC ANF	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 569	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 563 I	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 420 I	<i>C. albicans</i>	1	0,03125	0,25	0,03125	0,25	1,00	1,25	IND
MZ 238	<i>C. albicans</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	ADD
MY 7474	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1161	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MZ 685	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 590	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 588	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 586 I	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1369	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1204	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1173	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 923	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 837 II	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1559	<i>C. albicans</i>	4	0,03125	0,25	0,03125	0,06	1,00	1,06	IND
MZ 1537	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1440 I	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1420	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MX 74	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6363	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6372	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6194	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MY 6130	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1490	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1486	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6555	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6559	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MZ 1551	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MZ 1553	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1563	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1569	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1571	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1579	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 4659	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1452	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,0078	1	1,0078	IND
MZ 563 II	<i>T. asahii</i>	0,25	32	0,25	0,03125	1,00	0,00	1,00	IND
MZ 196	<i>C. glabrata</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 174	<i>C. glabrata</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MZ 601	<i>C. glabrata</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MZ 961	<i>C. glabrata</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MZ 1461 I	<i>C. glabrata</i>	8	0,0625	0,25	0,03125	0,03	0,50	0,53	ADD
MZ 1481	<i>C. glabrata</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MZ 1478	<i>C. glabrata</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MY 4622	<i>C. glabrata</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 4256	<i>C. glabrata</i>	8	0,125	0,25	0,03125	0,03	0,25	0,28	SYN
MZ 425 I	<i>C. krusei</i>	0,25	0,125	0,25	0,03125	1,00	0,25	1,25	IND
MY 4511	<i>C. krusei</i>	0,25	2	0,25	0,03125	1,00	0,02	1,02	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Die MHK-Werte (MHK) der Patientenstämme gegenüber Voriconazol (VOR) und Anidulafungin (ANF) in der Einzeltestung sowie in der Kombination (KT-MHK) mit der sich daraus berechneten Fractional Inhibitory Concentration (FIC) und ihrer quantitativen und qualitativen Bewertung nach 24h und 48h sind den Tabellen 3.24-3.25 zu entnehmen.

In der qualitativen FIC-Index-Bewertung nach **24h** konnte bei den meisten Isolaten (40 von 48) ein indifferenten Effekt festgestellt werden (SYN n=1, ADD n=7, IND n=40).

Nach **48h** zeigte sich ein differenzierteres Bild in der qualitativen FIC-Index-Bewertung. Bei 28 Stämmen fand sich kein Wechsel in der qualitativen FIC-Index-Bewertung bei der Verlängerung der Inkubationszeit (48h). So zeigte der *C. glabrata*-Stamm MY 4256 zu jedem Zeitpunkt einen Synergismus. Die gleiche Bewertung nach 24h und 48h in der Gruppe „additiv“ erhielten 4 *C. albicans*-Stämme und ein *C. glabrata*-Stamm, in der Gruppe „indifferent“ blieben 19 *C. albicans*-Stämme, ein *C. glabrata*-, ein *C. krusei*- und der *Trichosporon asahii* Stamm.

Eine Veränderung in der Bewertung nach 48h zeigten 20 der 48 Stämme. So konnte bei den *C. albicans*-Stämmen MZ 1553 und MZ 1563 ein Wechsel des Kombinationseffekts von indifferent nach antagonistisch festgestellt werden. Diese Stämme erwiesen sich nach 48h in der Einzeltestung resistent gegenüber Voriconazol (MHK 32mg/l) und sensibel gegenüber Anidulafungin (2mg/l). In der Kombination resistent (VOR KT-MHK 16mg/l; ANF KT-MHK 4mg/l). Hier liegt eine Verschiebung um eine Konzentrationsstufe vor, was der Schwankungsbreite der Methode unterliegt. Es ist darauf hinzuweisen, dass die vorläufige S-I-R-Klassifikation für Anidulafungin keine Sensibilitätsklasse „I“ vorsieht, sodass $\leq 2\text{mg/l}$ als sensibel, $> 2\text{mg/l}$ als resistent eingestuft wird. Daher führt ein Wechsel um eine Konzentrationsstufe zu einem Wechsel von sensibel zu resistent in der Bewertung. Die ermittelten MHK- und KT-MHK-Werte gegenüber Anidulafungin lagen direkt an den Breakpointgrenze. Klinisch würde man aufgrund der MHK-Werte von einem therapeutischen Einsatz absehen. In dieser Untersuchung ist von einem methodisch-, mathematisch-bedingten Antagonismus auszugehen. Bei den *C. albicans*-Stämmen MZ 1161 und MZ 1452 konnte ein Wechsel von indifferent nach synergistisch, bei dem *C. glabrata*-Stamm MZ 1461 ein Wechsel von additiv zu synergistisch nachgewiesen werden. Bei den übrigen 15 Stämmen fand ein Wechsel von indifferent nach additiv statt (SYN n=4, ADD n=19, IND n=23, ANT n=2). So zeigte sich zusammenfassend bei 18 Stämmen eine Verbesserung des Kombinationseffekts durch die verlängerte Inkubationszeit, bei 3 Stämmen eine Verschlechterung (Tabelle 3.26).

Tab. 3.25 Patientenstämme gegenüber **Voriconazol** und **Anidulafungin** bei einer Inkubationszeit von 48h

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
		VOR	ANF	VOR	ANF	FIC VOR	FIC ANF	FIC-Index	
								Quantitativ	Qualitativ
MZ 569	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 563 I	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 420 I	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 238	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MY 7474	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1161	<i>C. albicans</i>	16	0,25	0,25	0,03125	0,02	0,13	0,14	SYN
MZ 685	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 590	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 588	<i>C. albicans</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MZ 586 I	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1369	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1204	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1173	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 923	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 837 II	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1559	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 1537	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1440 I	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MZ 1420	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MX 74	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6363	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MY 6372	<i>C. albicans</i>	32	0,03125	0,25	0,03125	0,01	1,00	1,01	IND
MY 6194	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MY 6130	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1490	<i>C. albicans</i>	0,25	0,0625	0,25	0,03125	1,00	0,50	1,50	IND
MZ 1486	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6555	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MY 6559	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1551	<i>C. albicans</i>	32	0,0625	0,25	0,03125	0,01	0,50	0,51	ADD
MZ 1553	<i>C. albicans</i>	32	2	16	4	0,50	2,00	2,50	ANT
MZ 1563	<i>C. albicans</i>	32	2	16	4	0,50	2,00	2,50	ANT
MZ 1569	<i>C. albicans</i>	32	2	1	2	0,03	1,00	1,03	IND
MZ 1571	<i>C. albicans</i>	32	2	16	2	0,50	1,00	1,50	IND
MZ 1579	<i>C. albicans</i>	32	2	16	2	0,50	1,00	1,50	IND
MY 4659	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03125	0,25	0,03125	1,00	1,00	2,00	IND
MZ 1452	<i>C. albicans</i>	32	0,125	0,25	0,03125	0,0078	0,25	0,2578	SYN
MZ 563 II	<i>T. asahii</i>	0,25	32	0,25	0,03125	1,00	0,00	1,00	IND
MZ 196	<i>C. glabrata</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	IND
MZ 174	<i>C. glabrata</i>	1	0,0625	0,25	0,03125	0,25	0,50	0,75	ADD
MZ 601	<i>C. glabrata</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 961	<i>C. glabrata</i>	4	0,0625	0,25	0,03125	0,06	0,50	0,56	ADD
MZ 1461 I	<i>C. glabrata</i>	8	0,125	0,25	0,03125	0,03	0,25	0,28	SYN
MZ 1481	<i>C. glabrata</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	ADD
MZ 1478	<i>C. glabrata</i>	2	0,0625	0,25	0,03125	0,13	0,50	0,63	ADD
MY 4622	<i>C. glabrata</i>	0,5	0,0625	0,25	0,03125	0,50	0,50	1,00	IND
MY 4256	<i>C. glabrata</i>	8	0,125	0,25	0,03125	0,03	0,25	0,28	SYN
MZ 425 I	<i>C. krusei</i>	0,5	0,125	0,25	0,03125	0,50	0,25	0,75	ADD
MY 4511	<i>C. krusei</i>	0,25	4	0,25	0,0625	1,00	0,02	1,02	IND

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Tab.3.26 Wechsel der qualitativen FIC-Index-Bewertung der Patientienstämme abhängig von der Inkubationszeit 24h und 48h

Stamm-Nr. I	Genus/Spezies		24h/48h
MY 6130	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MY 6194	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MY 6559	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MY 7474	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MZ 1161	<i>C. albicans</i>	▲	IND /SYN
MZ 1173	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MZ 1420	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MZ 1452	<i>C. albicans</i>	▲	IND /SYN
MZ 1551	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MZ 1553	<i>C. albicans</i>	▼	IND/ANT
MZ 1563	<i>C. albicans</i>	▼	IND/ANT
MZ 238	<i>C. albicans</i>	▼	ADD/IND
MZ 685	<i>C. albicans</i>	▲	IND/ADD
MZ 1461 I	<i>C. glabrata</i>	▲	ADD/SYN
MZ 1478	<i>C. glabrata</i>	▲	IND/ADD
MZ 1481	<i>C. glabrata</i>	▲	IND/ADD
MZ 174	<i>C. glabrata</i>	▲	IND/ADD
MZ 601	<i>C. glabrata</i>	▲	IND/ADD
MZ 961	<i>C. glabrata</i>	▲	IND/ADD
MZ 425 I	<i>C. krusei</i>	▲	IND/ADD

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **SY**Nergismus, **ADD**itivität, **IND**ifferenz, **ANT**agonismus

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass der bei der Kombination von Antimykotika zu erwartende Antagonismus selten auftrat.

Bei allen drei Kombinationen zeigte sich der Antagonismus verstärkt nach 48h. Bei der Kombination von **Voriconazol** und **Flucytosin** stieg die Anzahl der als antagonistisch zu bewertenden FIC-Indices bei der Verlängerung der Inkubationszeit (48h) von 0 auf 7 an. In der Einzeltestung erwiesen sich die Stämme, deren FIC-Index als antagonistisch eingestuft wurde, gegenüber Voriconazol als resistent bzw. intermediär, gegenüber Flucytosin als sensibel. In der Kreuztitration wurden die KT-MHK-Werte gegenüber beiden Antimykotika als sensibel bewertet. Es ist bei diesem antagonistischen Kombinationseffekt also von einem „mathematischen“ Antagonismus auszugehen. Der Kombinationseffekt von Voriconazol und Flucytosin verbesserte sich bei 9 Stämmen, verschlechterte sich hingegen bei 8 Stämmen nach 48h.

Bei der Kombination von **Amphotericin B** und **Flucytosin** verschlechterte sich der Kombinationseffekt bei 12, verbesserte sich bei 6 der 48 Stämme durch die längere Inkubationszeit. Gegenüber dieser Kombination wurde nach 24h ein Antagonismus bei 2 Stämmen festgestellt. Als antagonistisch nach 48h wurden die FIC-Indices von 3

Stämmen eingestuft. Diese Stämme erwiesen sich in der Einzeltestung resistent gegenüber Amphotericin B und sensibel gegenüber Flucytosin. Die Kreuztitrations-MHK-Werte waren gegenüber beiden Antimykotika sensibel einzustufen. Somit ist auch dieser festgestellte Antagonismus nach 24h und 48h ein „mathematischer Antagonismus“ ohne klinische Bedeutung.

Bei den *C. glabrata*-Stämmen MZ 174 und MZ 196 wurden die FIC-Indices nach 48h bei den Kombinationen Amphotericin B und Flucytosin als auch bei Voriconazol und Flucytosin als antagonistisch bewertet. Bei den anderen Stämmen konnten keine Muster festgestellt werden.

Bei der Antimykotikakombination von **Voriconazol** und **Anidulafungin** führte die Verlängerung der Inkubationszeit auf 48h bei 18 von 48 Stämmen zu einer Verbesserung des Kombinationseffekts, bei 3 Stämmen jedoch zu einer Verschlechterung, darunter bei 2 Stämmen zu einem Antagonismus. Hier zeigte sich ebenfalls keine klinische Relevanz des Antagonismus. Obwohl sich die Stämme in der Einzeltestung resistent gegenüber Voriconazol und sensibel gegenüber Anidulafungin erwiesen, wurden die KT-MHK-Werte gegenüber beiden Antimykotika als resistent bewertet. Dabei ist zu beachten, dass die von der CLSI vorgeschlagenen Empfindlichkeitsklassen keine „intermediäre“ Klasse für Anidulafungin vorsehen. Die Grenze der Klassen sensibel und resistent liegt zwischen den Breakpoints 2 mg/l und 4 mg/l, also eine Konzentrationsstufe auseinander. Gegenüber beiden Antimykotika unterscheiden sich die MHK und die KT-MHK Werte nur eine Konzentrationsstufe und unterliegen damit der Schwankungsbreite der Methode. Es ist also erneut von einem mathematisch-, methodisch-bedingten Antagonismus auszugehen.

4 Diskussion

In den letzten Jahrzehnten ist das Auftreten von Mycosen durch *Candida* (*C.*) Spezies stark angestiegen. *Candida* Spezies sind die viert häufigste Ursache für nosocomiale Blutstrom-Infektionen mit einer Mortalität von 40% (BUSTAMANTE (2005), MANJUNATH (2007)). Durch den Anstieg an schweren Pilzinfektionen und die Gefahr der Resistenzbildung gegenüber einigen Antimykotika wurde die Empfindlichkeitstestung in den letzten Jahren immer wichtiger (REES (1998), VANDEN BOSSCHE (1998), ARTHINGTON-SKAGGS (2000)). Die von der CLSI (früher NCCLS) vorgeschlagene Methode (M27 A) zur Testung der Empfindlichkeiten hat jedoch ihre Grenzen (GIRMENIA (2000)). Bei der Testung gegenüber Azolantimykotika zeigt sich gegenüber einem Teil der Isolate ein Trailing-Wachstumsphänomen, was nach einem Wachstumseinbruch eine kontinuierliche Abnahme des Restwachstums statt einem klaren Endpunkt durch vollständige Hemmung des Wachstums bedeutet. Auf die Möglichkeit, dass dadurch sensible Stämme als resistent eingestuft werden, verwiesen verschiedene Autoren (REX (1993), GIRMENIA (2000)).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Einflussnahme unterschiedlicher Nährmedien (RPMI, RPMI mit Methylenblau (RPMI+M), Yeast Sensitivity Test Medium (YST) und Mueller-Hinton mit Methylenblau (MH+M)) sowie des Ablesezeitpunktes (Inkubationszeit) auf die Empfindlichkeitsbestimmung gegenüber verschiedenen Antimykotika, allein und in Kombination, und auf das Trailing-Wachstumsphänomen untersucht. Die Antimykotika entstammten dabei den vier Wirkstoffklassen: den Polyenen (Amphotericin B, APH), den Nukleinsäureanaloga (Flucytosin; FCY), den Azolantimykotika (Fluconazol, FLC; Voriconazol, VOR; Itraconazol, ITR) und den Echinocandinen (Anidulafungin; ANF).

Das untersuchte Kollektiv an Hefe-Isolaten zeichnete sich dadurch aus, dass die 25 *C. albicans* (MF) Isolate in unterschiedlich ausgeprägtem Maße das Trailing-Phänomen aufwiesen. Die Empfindlichkeitstestungen wurden in Anlehnung an das CLSI-Protokoll M 27 A2 durchgeführt.

„Positionierung“ der MF-Stämme im Vergleich

Bei der Empfindlichkeitsverteilung in RPMI entfiel die Mehrzahl der MHK-Werte der *Candida albicans*-MF-Stämme nach 24h ($\geq 86,5\%$) und 48h ($\geq 71,4\%$) gegenüber den Azolantimykotika auf den als „sensibel“ bewerteten Anteil. Zu entsprechenden Ergebnissen kam SEIFERT (2007). Auch ESPINEL-INGROFF erhielt in der Studie aus dem Jahr 2005 einen ähnlichen Trend der Ergebnisse. So zeigten sich dort gegenüber Fluconazol nach 24h 46% nach 48h 43% der MHK-Werte der *C. albicans*-Isolate „sensibel“. Diese Prozentzahlen sind deutlich geringer als die in der vorliegenden Arbeit (24h 90,1%, 48h 80,2%), obwohl ESPINEL-INGROFF als MHK die Antimykotikakonzentration festlegte, die einer Reduktion des Wachstums von $\geq 50\%$, im Gegensatz zu $>80\%$ wie in dieser Arbeit, entsprach. Als Medium wurde in beiden Arbeiten RPMI 1640 verwendet, jedoch wurde das Medium in der vorliegenden Arbeit anstatt mit 0,2% mit 2%-Glucose substituiert. OSTROSKY-ZEICHNER (2003) legte in seiner Studie dar, dass durch die Substitution von 2%-Glucose die MHK-Werte gegenüber Fluconazol und Voriconazol sinken, gegenüber Itraconazol jedoch steigen. Auch GIRMENIA (2000) konnte eine Reduktion der MHK-Werte gegenüber Fluconazol und Voriconazol durch die erhöhte Glucosekonzentration von 2% in RPMI feststellen. Mit 85% nach 24h und 83% nach 48h entsprachen die Ergebnisse der ESPINEL-INGROFF Studie gegenüber Voriconazol denen der vorliegenden Arbeit (89,1% nach 24h; 77,7% nach 48h). Im Vergleich mit den anderen Triazolantimykotika zeigte sich gegenüber Itraconazol in der vorliegenden Arbeit ebenfalls die Mehrzahl der MHK-Werte sensibel, jedoch lag die Prozentzahl mit 86,5% nach 24h und 71,4% nach 48h etwas niedriger. In der Studie von SEIFERT (2007) lagen hingegen alle MHK-Werte (Range: 0,002-0,016 mg/l) gegenüber Itraconazol in Konzentrationsbereichen, die als „sensibel“ eingestuft werden.

Gegenüber den Antimykotika Anidulafungin und Flucytosin waren $\geq 98\%$ der MHK-Werte nach 24h und 48h als „sensibel“ einzuordnen.

Die Studie von PFALLER aus dem Jahr 2005 entsprach diesen Ergebnissen gegenüber Anidulafungin, so waren alle MHK-Werte der in der PFALLER-Studie getesteten Fluconazol-sensiblen und –resistenten *C. albicans*-Isolate (N=1222) als „sensibel“ gegenüber Anidulafungin einzustufen. OSTROSKY-ZEICHNER (2003) konnte in seiner Studie bei 90% der 733 *C. albicans*-Isolate ein MHK-Wert von 0,03mg/l) gegenüber Anidulafungin feststellen, sodass diese ebenfalls als „sensibel“

einestufen waren. In dieser Studie zeigte er, dass durch die Substitution von 2% anstatt von 0,2%-Glucose in dem Medium RPMI 1640 höhere MHK-Werte vorlagen. In der Studie von SEIFERT (2007) erwiesen sich entsprechend der vorliegenden Arbeit 165 von 166 getesteten *C. albicans*-Isolaten „sensibel“ gegenüber Flucytosin.

Als Ausnahme im Vergleich mit den anderen Antimykotika stellte sich Amphotericin B dar. Gegenüber Amphotericin B zeigte sich im MF-Kollektiv die Mehrzahl der MHK-Werte zu jedem Ablesezeitpunkt in dem „intermediären“ Anteil der MHK-Werte. Diese Ergebnisse überraschten, da es sich bei Amphotericin B um ein sehr potentes Antimykotikum mit einem großen Wirkspektrum handelt. In der Studie von SEIFERT (2007) erwiesen sich alle *C. albicans*-Isolate (N=166) gegenüber Amphotericin B hingegen als „sensibel“, was jedoch auf eine andere Wahl von Breakpoints zurückzuführen war. So wurden alle MHK-Werte $\leq 1\text{mg/l}$ anstatt $\leq 0,25\text{mg/l}$ als „sensibel“ eingeordnet. Würden diese Breakpoints auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit übertragen, so müssten ebenfalls alle ermittelten MHK-Werte gegenüber Amphotericin B als „sensibel“ bewertet werden und das Ergebnis würde den Erwartungen entsprechen. An dieser Stelle sei nochmal darauf hingewiesen, dass es sich bei den hier in der Arbeit vorgegebenen Breakpoints für Amphotericin B um vorläufige, noch in der Diskussion befindliche Breakpoints handelt. Somit sind die MHK-Werte dieser Arbeit gegenüber Amphotericin B als methodisch bedingt „intermediär“ zu bewerten.

Einflussnahme der Inkubationszeit

Eine Fragestellung der vorliegenden Arbeit war, welchen Einfluss die Inkubationszeit auf die Empfindlichkeit der *C. albicans*-MF-Stämme hat. Der von der CLSI im M27 A2 Protokoll vorgeschriebene Auswertzeitpunkt liegt 48h nach Inkubationsbeginn.

Gegenüber den Antimykotika Amphotericin B und den Azolantimykotika wurde in dieser Arbeit eine signifikante Abhängigkeit der Empfindlichkeitsverteilung von der Inkubationszeit (24h/48h) festgestellt. So geht eine Verlängerung der Inkubationszeit von 24h auf 48h mit einer Zunahme des resistenten Anteils in RPMI für die MF-Stämme einher: APH (36%) > ITR (12%) > VOR (9,9%) > FLC (8,9%). Auch TAKAKURA stellte in der Studie aus dem Jahr 2004 inkubationszeitabhängige Unterschiede der MHK-Werte gegenüber den Azolantimykotika fest. So zeigten sich auch dort bei den meisten *Candida* Spezies gegenüber Itraconazol etwas höhere Resistenzraten als

gegenüber Fluconazol (ITR=2,7%, FLC=1,8%). ARTHINGTON-SKAGGS (2002) zeigte ebenfalls einen Anstieg an „resistent“ zu bewerteten *C. albicans*-Isolaten durch die Verlängerung der Inkubationszeit von 24h auf 48h gegenüber Fluconazol (24h n=4, 48h n=82) und Itraconazol (24h n=6, 48h n=80). Ein Teil der in der ARTHINGTON-SKAGGS-Studie getesteten *C. albicans*-Isolate (N=429) wies nach 48h das Trailing-Wachstumsphänomen auf (FLC=18,2%, ITR=16,4%), was die Endpunkt-Bestimmung erschwert und dadurch Isolate fälschlicherweise „resistent“ erscheinen lassen kann. Gegenüber den Antimykotika Flucytosin und Anidulafungin konnte keine inkubationszeitabhängige Empfindlichkeitsveränderung nachgewiesen werden.

Einflussnahme des Nährmediums

Als weiteres stellte sich die Frage nach dem Einfluss des Nährmediums auf die Empfindlichkeitsverteilung und die Häufigkeit des Trailingphänomens. Durch den Zusatz von Metylenblau, welches als terminaler Elektronenakzeptor der Atmungskette dient und zu verbesserten Wachstumsbedingungen des Organismus führt, wurde versucht klare Wachstumsendpunkte zu erreichen.

In den Metylenblau-haltigen Medien RPMI+M und YST lag mit 96% bzw. 94% der anhand der ermittelten MHK-Werte sensible Anteil der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber den Azolantimykotika signifikant höher als in RPMI mit 82%. Auch in der Studie von FEGELER (2003) zeigten sich gegenüber den Azolantimykotika signifikant geringere MHK-Werte in HR+M (YST) als in RPMI. In der vorliegenden Studie war der gegenüber Flucytosin als „sensibel“ bewertete Anteil an MHK-Werten in den Nährmedien RPMI, RPMI+M und YST bei den *Candida albicans*-MF-Stämmen 100% mit Ausnahme von YST nach 48h (95%). Dies bestätigten ebenfalls die Studienergebnisse von FEGELER (2003), so fanden sich nach 48h gegenüber Flucytosin in YST mehr MHK-Werte im als „resistent“ bewerteten Konzentrationsbereich als in RPMI. In MH+M wurden gegenüber allen Antimykotika vermehrt MHK-Werte in Konzentrationsbereichen der Sensibilitätsklasse „resistent“ ermittelt, besonders gegenüber Flucytosin. Die Versuche zeigten, dass von MH+M als allgemeines Medium für die Empfindlichkeitsbestimmung von Hefe auf Grund seiner inaktivierenden Wirkung von Flucytosin Abstand genommen werden sollte. Wenn auch die große Schwankungsbreite der Konzentration von Calcium und Magnesium von verschiedenen Herstellern durch entsprechende Supplementierung kompensiert wird, so

ist bei zwei wesentlichen Bestandteilen des Mediums, der dehydrierten Rindfleischbrühe sowie dem hydrolysierten Casein, maximal eine chargenabhängige Standardisierung möglich (TURNIDGE, BELL 2005; AMSTERDAM 2005). Das Medium entspricht damit nicht den Anforderungen eines modernen Qualitätsmanagements für die antimykotische Empfindlichkeitstestung.

Einfluss der Inkubationszeit und des Nährmediums auf das Trailing-Wachstumsphänomen

Viele Autoren beschreiben das Trailing-Wachstumsphänomen bei *Candida* Spezies in der Sensibilitätstestung gemäß den Vorgaben des M27 A2 Protokolls der CLSI gegenüber den Azolantimykotika als problematisch. ARTHINGTON-SKAGGS (2002) beschrieb, dass Trailing ein größeres Problem darstellt als zunächst angenommen. So zeigten in ihrer Studie 18,2% der getesteten *C. albicans*-Isolate ein Trailing gegenüber Fluconazol und 16,3% gegenüber Itraconazol. Ursprünglich war sie davon ausgegangen, dass ca. 5% der *C. albicans*-Isolate dieses Phänomen gegenüber Fluconazol aufweisen (ARTHINGTON-SKAGGS 2000). Sie stellte außerdem dar, dass das Trailing so ausgeprägt sein kann, sodass Isolate nach 24h Inkubation „sensibel“ jedoch nach 48h „resistent“ erscheinen. Dieses ermittelte Trailing bzw. die interpretierte Resistenz korreliert jedoch nicht mit dem klinischen Erfolg oder Misserfolg der Therapie (OSTROSKY-ZEICHNER 2003, ARTHINGTON-SKAGGS 2000). Aus den genannten Gründen ist eine Modifikation des M27 A2 Protokolls als Sensibilitätstestung von Hefe mit Trailing-Wachstumsphänomen zu bedenken.

Die geringste Häufigkeit (48h) des Trailingphänomens gegenüber den Azolantimykotika konnte in der vorliegenden Arbeit in YST (11%) festgestellt werden, gefolgt von RPMI+M (16%) < RPMI (45%). Auch in der Studie von SCHMALRECK (2003) zeigte sich in YST gegenüber den Azolantimykotika eine Trailingrate von 6-17% nach 48h.

In MH+M konnte wenig Trailing festgestellt werden, dies war auf den Anstieg der Resistenzen zurückzuführen und somit nicht als geringeres Trailing-Vorkommen zu werten. SCHMALRECK (2003) fand hingegen eine Trailingrate von 43-71% in MH+M. Diese Unterschiede zeigen deutlich das Problem der Endpunktbestimmung bei Isolaten, die das Trailingphänomen aufweisen. So entschied auch SCHMALRECK (2003), dass MH+M sich nicht zur Empfindlichkeitstestung von Hefen gegenüber

Azolantimykotika und Flucytosin eignet, aufgrund der möglichen falschen Interpretation des Trailingphänomens. So kann das Trailingphänomen fälschlicherweise als Resistenz gedeutet werden. Oder sogar eine Resistenz als Trailing missinterpretiert werden. Die MHK- Bestimmung ist bei Vorliegen des Trailingphänomens sehr subjektiv und nicht als reproduzierbar zu bezeichnen.

Checkerboard-Testung

Die derzeit erhältlichen Antimykotika wirken nicht immer optimal (TE DORSTHORST 2002) - vor allem nicht bei invasiven Candidosen. Bei vielen der Antimykotika lässt sich eine Toxizität und ein Anstieg der Resistenzbildung feststellen (GHANNOUM 1999, TE DORSTHORST 2002). Die Resistenzentwicklung, verursacht durch Prophylaxe- und Langzeittherapien, stieg gegenüber Fluconazol (SANGUINETI 1993, WEIG 2001) rasant an. Das lässt die Therapie der Mykosen, besonders bei immunsupprimierten Patienten problematischer werden. Durch die Kombination von Antimykotika könnte eine Erweiterung der gleichzeitigen Wirkungsorte durch die unterschiedliche Pharmakokinetik und -dynamik erreicht, die Dauer einer Antimykotikatherapie verkürzt, Resistenzbildung vermindert, sowie ein breiteres antimykotisches Spektrum erzielt werden (BARCHIESI 2004). Außerdem könnte eine Kombination der Antimykotika zu einer Steigerung der Wirkung bis hin zu einem Synergismus führen, was die therapeutische Medikamentendosis und somit auch die Nebenwirkungen senken würde (TE DORSTHORST 2002). Als synergistisch ist eine Kombination zu bezeichnen, deren inhibitorischer Effekt größer als die Summe der inhibitorischen Wirkungen der kombinierten Antimykotika in der Monotherapie ist (CUENCA-ESTRELLA 2004). Es muss bei einer Kombinationstherapie jedoch auch mit einem negativen Effekt gerechnet werden. Wenn die Kombination eine geringere Wirkung als die Antimykotika in der Monotherapie hat, so liegt ein Antagonismus der beiden Antimykotika vor (CUENCA-ESTRELLA 2004). Da dies klinisch zu einem großen Schaden führen kann, bedarf der Antagonismus besonderer Aufmerksamkeit.

In der vorliegenden Arbeit wurden 25 *Candida (C.) albicans*-(MF)-Stämme und 48 Patientenstämmen (36 *C. albicans*-Stämme, 9 *C. glabrata*-Stämme, 2 *C. krusei*-

Stämme und ein *Trichosporon asahii*-Stamm) auf ihre Empfindlichkeit in der Checkerboard-Testung gegenüber Amphotericin B (APH) und Flucytosin (FCY), Flucytosin (FCY) und Voriconazol (VOR) sowie Voriconazol (VOR) und Anidulafungin (ANF) in Kombination getestet und die Interaktion der beiden Antimykotika bewertet. Das Kollektiv wurde aus resistenten und sensiblen Stämmen gegenüber einem oder beiden Antimykotika zusammengestellt, um Veränderungen durch die Kombination feststellen zu können.

Einfluss der Kombination auf die MHK-Werte

Keiner der *C. albicans*-MF-Stämme zeigte sich nach 24h und 48h in der Kombination von **APH und FCY** resistent. Nach 24h waren alle Stämme in der Einzeltestung gegenüber APH als intermediär einzustufen, gegenüber FCY hingegen sensibel. Die Kombination der beiden Antimykotika führte gegenüber FCY nach 24h und 48h zu keiner Veränderung in der Empfindlichkeitsbewertung. Bei APH bewirkte die Kombination mit FCY eine Reduktion der MHK-Werte von 0,5 mg/l in der Einzeltestung auf 0,125 mg/l in der Kombination. Dadurch wurden die Stämme gegenüber APH in der Kombinationstherapie als sensibel bewertet. Nach 48h erwiesen sich 6 Stämme gegenüber APH in der Einzeltestung resistent, in der Kombination mit FCY verringerte sich die MHK gegenüber APH (1 mg/l auf 0,5-0,125 mg/l), es zeigten sich alle Stämme sensibel bzw. intermediär. Die Kombination führte zu einer Reduktion der Dosis gegenüber beiden Antimykotika, jedoch nur gegenüber APH zu einem Wechsel in der Sensibilitätsklasse nach sensibel bzw. intermediär. TE DORSTHORST (2002) beschrieb, dass derzeit keine randomisierte Studie vorliegt, die darlegt, ob die Kombination von FCY und APH wirkungsvoller als die Monotherapie ist. Jedoch sind die unterschiedlichen Wirkkompartimente (Liquorgängigkeit) und das erweiterte Erregerspektrum ein wichtiger Grund für die Kombinationstherapie.

Gegenüber der Antimykotikakombination **VOR und FCY** erwiesen sich alle *C. albicans*-MF-Stämme nach 24h und 48h sensibel. Gegenüber VOR zeigten sich in der Einzeltherapie nach 24h und 48h einige Stämme resistent. Nach der Zugabe von FCY waren alle sensibel einzustufen, somit lagen eine Dosisreduktion und ein Wechsel der Sensibilitätsklasse vor. Gegenüber FCY einzeln und in Kombination erwiesen sich alle Stämme sensibel. Den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit entsprachen die Studienergebnisse von BARCHIESI (2004). Bei der Kombination dieser Antimykotika

ist FCY als das „dominante“ Antimykotikum zu bezeichnen, welches zu einer Sensibilität der Stämme führt. Jedoch sind auch in diesem Fall die unterschiedlichen Wirkkompartimente und das erweiterte Erregerspektrum als Vorteil einer Kombination zu werten.

Die *C. albicans*-MF-Stämme zeigten sich nach 24h und 48h sensibel in der Kombinations- und Monotherapie gegenüber **VOR und ANF**, mit Ausnahme von 2 resistenten Stämmen gegenüber VOR nach 48h. Die Kombination beider Antimykotika führte nach 48h bei einigen Stämmen zu einer Reduktion der MHK-Werte jedoch zu keinem Empfindlichkeitsklassenwechsel. Nur bei den 2 resistenten Stämmen bewirkte die Kombination der beiden Antimykotika einen Sensibilitätsklassenwechsel hin zu sensibel. In diesen beiden Fällen scheint ANF als „dominanter“ Wirkungspartner zu fungieren. BACHMANN stellte in einer Studie (2003) fest, dass die Antimykotika FLC und Caspofungin (Echinocandin) sich indifferent zueinander verhalten. Sie zeigen jedoch die time-kill-Kurve der Kombination ähnlich wie die von Caspofungin allein darstellt. Dies würde darauf hinweisen, dass das Echinocandin (Caspofungin) das „dominante“ Antimykotikum in der Kombination ist. Auf Grund der häufigen Resistenzentwicklungen gegenüber Azolantimykotika, stellen die Echinocandine mit ihrem anderen Wirkziel einen entschiedenen Vorteil der Kombination dar. Durch die von den Echinocandinen gestörte Zellwandsynthese kann die Penetration anderer Antimykotika erleichtert werden (DENNING 2003, CUENCA-ESTRELLA 2004).

Auch bei den Patientenstämmen führte die Zugabe von **FCY zu APH** zu einer deutlichen Reduktion der Antimykotikakonzentration von APH nach 24h und 48h im Gegensatz zur Monotherapie. Durch die Zugabe von FCY waren nahezu alle Stämme sensibel gegenüber APH (3 nach 24h und 4 nach 48h intermediär, 2 nach 48h resistent). In der Monotherapie zeigten sich alle Stämme intermediär bzw. resistent gegenüber APH.

Die Zugabe von APH zu FCY führte nach 24h bei dem als resistent und dem als intermediär bewerteten Stamm zu einer sensiblen Einstufung, bei den übrigen Stämmen zeigte die Zugabe keinen Einfluss auf die Empfindlichkeit. Nach 48h zeigte sich durch die Zugabe von APH zu FCY bei drei Stämmen eine Dosisreduktion und ein Empfindlichkeitsklassenwechsel. Bei den übrigen Stämmen war auch nach 48h kein Einfluss auf die therapeutische Dosis von FCY durch die Zugabe von APH zu erkennen.

Bei der Kombination der Antimykotika **VOR und FCY** zeigten sich in der Einzeltestung gegenüber VOR nach 24h Stämme resistent (n=11), intermediär (n=4) sowie sensibel (n=33). Durch die Zugabe von FCY erwiesen sich alle Stämme sensibel. Auch nach 48h führte die Zugabe von FCY dazu, dass alle Stämme sensibel waren. In der Einzeltherapie mit VOR waren nach 48h 30 Stämme als resistent und 6 als intermediär einzustufen. Gegenüber FCY in der Einzeltestung zeigte sich nach 24h der *T. asahii*-Stamm intermediär und ein *C. glabrata*-Stamm resistent. Nach 48h erwies sich ein *C. albicans*-Stamm und ein *C. glabrata*-Stamm resistent, ein *C. krusei*-Stamm und der *T. asahii*-Stamm waren intermediär. Durch die Zugabe von VOR waren diese Stämme sensibel einzustufen. Alle übrigen Stämme, und damit die Mehrheit, zeigten sich schon in der Einzeltherapie mit FCY sensibel. Die deutlich Dosisreduktion gegenüber VOR durch die Zugabe von FCY und die geringfügige Reduktion gegenüber FCY bei Zugabe von VOR entsprach den Beobachtungen von BARCHIESI (2004) in seiner Studie mit *C. glabrata*-Stämmen. Bei der Betrachtung der *C. albicans*-Stämme erwies sich FCY als das „dominante“ Antimykotikum in dieser Kombination.

Bei der Betrachtung der Kombination von **VOR und ANF** zeigten sich in der Einzeltherapie gegenüber VOR nach 24h 11 Stämme resistent sowie 2 intermediär. Die übrigen Stämme waren sensibel. Durch die Zugabe von ANF erwiesen sich alle Stämme als sensibel. Nach 48h waren 28 (davon 25 *C. albicans*) resistent und 4 Stämme intermediär gegenüber VOR. Durch die Zugabe von ANF zeigten sich von den 25 der resistenten *C. albicans*-Stämme weiterhin 4 resistent und 1 intermediär. Die übrigen Stämme waren sensibel einzustufen. Somit führte ANF in der Kombination zu einer Konzentrationsreduktion von VOR. Bei der Einzeltestung mit ANF nach 24h zeigte sich der *T. asahii*-Stamm resistent nach der Zugabe von VOR jedoch hochsensibel. Nach 48h war erneut der *T. asahii*-Stamm resistent einzustufen, sowie auch 1 *C. krusei*-Stamm. In der Kombination mit VOR waren diese Stämme sensibel, jedoch 2 *C. albicans*-Stämme resistent. Ihre KT-MHK lag mit 4mg/l eine Konzentrationsstufe über der MHK (2mg/l), was der Schwankungsbreite der Methode unterliegt, jedoch aufgrund der von der CLSI vorgeschlagenen Breakpoints der Empfindlichkeitsklassen für ANF als sensibel und resistent eingeteilt werden müssen. Eine intermediäre Klasse ist für ANF nicht vorgesehen. Eine eindeutige Dosisreduktion von ANF durch VOR war nicht festzustellen.

Bei den in der vorliegenden Arbeit festgestellten Dosisreduktionen der Antimykotika sei jedoch deutlich darauf hingewiesen, dass es sich um in vitro Ergebnisse handelt, die

weder die Pharmakodynamik, noch die Pharmakokinetik der Antimykotika berücksichtigen. CUENCA-ESTRELLA (2004) beschrieb, dass der in vitro beobachtete Synergismus vieler Antimykotikakombinationen bei in vivo Tests nicht vorlag. Auch TE DORSTHORST (2002) betonte, dass die in vitro Ergebnisse nicht unbedingt mit dem klinischen outcome korrelieren. Ob eine eventuelle Dosisreduktion sinnvoll ist, ergibt sich aus der klinischen Situation.

Ein großer Vorteil aller getesteten Kombinationen ist das erweiterte Erregerspektrum sowie die Wirkung in zusätzlichen Kompartimenten auf Grund der unterschiedlichen Pharmakodynamik und Pharmakokinetik.

Auf Grund der unterschiedlichen Wirkmechanismen der einzelnen Antimykotika können durch Kombinationen auch Erreger gehemmt werden, die gegen eines der beiden Antimykotika möglicherweise resistent sind. All dies sind Aspekte, die unabhängig von Synergismus bzw. additiver Wirkung oder auch bei einem indifferenten Verhalten der beiden Antimykotika in vitro in einer Kombinationstherapie klinisch zum Tragen kommen können.

Diskussion der qualitativen FIC-Index Bewertung

Durch den Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC-Index) konnte eine qualitative Bewertung des Verhaltens der beiden Antimykotika in Kombination zueinander erfolgen. Der FIC-Index ist die am häufigsten verwendete Methode in der Literatur (ELIOPOULOS 1991).

Bei den 25 *C. albicans*-MF-Stämmen konnte nach 24h und 48h nur ein indifferentes bzw. additives Verhalten der Antimykotika in allen drei Kombinationen zueinander festgestellt werden.

Bei den 48 Patientenstämmen trat in allen drei Kombinationen bei einigen Isolaten ein Antagonismus auf. Der Antagonismus bedarf wie oben erwähnt einer genaueren Betrachtung und Beurteilung. Da der zur qualitativen Bewertung verwendete FIC-Index mathematisch ermittelt wird, muss er auf seine klinische Relevanz überprüft werden. In Tabelle 4.1 sind die minimalen Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), der FIC-Index sowie seine Bewertung dargestellt.

Tab. 4. Antagonismus der unterschiedlichen Antimykotikakombinationen

(Minimale Hemmkonzentration (MHK), Kreuztitrations-MHK (KT-MHK), Fractional Inhibitory Concentration (FIC))

Nr.	Stamm-Nr.	Genus/ Spezies	MHK (mg/l)		KT-MHK (mg/l)		Fractional Inhibitory Concentration			
			A	B	A	B	FIC A	FIC B	FIC-Index	
									Quantitativ	Qualitativ
			APH	FCY	APH	FCY	APH	FCY		
1	MY 7474	C. albicans	1	0,0625	0,125	0,25	0,13	4,00	4,13	ANT
2	MZ 174	C. glabrata	1	0,0625	0,125	0,25	0,13	4,00	4,13	ANT
3	MZ 196	C. glabrata	2	0,125	0,125	0,25	0,06	2,00	2,06	ANT
4	MZ 174	C. glabrata	1	0,125	0,125	0,25	0,13	2,00	2,13	ANT
5	MY 4511	C. krusei	2	2	0,125	4	0,06	2,00	2,06	ANT
			VOR	FCY	VOR	FCY	VOR	FCY		
6	MZ 586 I	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
7	MZ 1420	C. albicans	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
8	MZ 1553	C. albicans	32	0,125	0,25	1	0,0078125	8	8,0078125	ANT
9	MZ 196	C. glabrata	4	0,0625	0,25	0,125	0,0625	2	2,0625	ANT
10	MZ 174	C. glabrata	2	0,0625	0,25	0,125	0,125	2	2,125	ANT
11	MZ 1461 I	C. glabrata	32	0,0625	0,25	0,125	0,0078125	2	2,0078125	ANT
12	MZ 1478	C. glabrata	2	0,0625	0,25	0,125	0,125	2	2,125	ANT
			VOR	ANF	VOR	ANF	VOR	ANF		
13	MZ 1553	C. albicans	32	2	16	4	0,50	2,00	2,50	ANT
14	MZ 1563	C. albicans	32	2	16	4	0,50	2,00	2,50	ANT

Qualitative Bewertung des FIC-Index: **ANT**agonismus

Bei den antagonistisch bewerteten Fällen Nr. 1, 2, 8 zeigten sich die Stämme resistent gegenüber APH bzw. VOR in der Einzeltestung, jedoch sensibel in Kombination mit FCY. Gegenüber FCY erwiesen sie sich sowohl in der Einzel- wie auch in der Kombinationstestung als hochsensibel. Daher ist der FIC-Index mit 4,13 und 8 zwar laut den Definitionen als antagonistisch zu bewerten, ist jedoch auf die mathematische Ermittlung dieses Index zurückzuführen.

Bei den Fällen 3-7 und 9-12 zeigten sich die Stämme resistent gegenüber APH und resistent bzw. intermediär gegenüber VOR in der Einzeltestung, in der Kombination mit FCY jedoch sensibel. Gegenüber FCY waren sie in der Einzel- und Kombinationstestung sensibel. Bei FCY wich die MHK nur eine Konzentrationsstufe von der KT-MHK ab, was innerhalb der Schwankungsbreite der Methode lag. Daher kann man in diesen Fällen von einem „methodisch-bedingten Antagonismus“ sprechen. Gleichzeitig werfen diese Fälle die Frage auf, ob ein FIC-Index von ≥ 2 als Breakpoint für den „Antagonismus“ sinnvoll ist oder ob dieser Wert nicht höher liegen muss.

In den Fällen 13 und 14 waren die Stämme gegenüber VOR sowohl in der Einzel- wie auch in der Kombination mit ANF resistent. Daher ist diese Kombination nicht effektiv. Gegenüber ANF zeigten sie sich in der Einzeltherapie noch sensibel (2 mg/l), in der Kombination (4 mg/l) resistent. Dabei ist zu beachten, dass die von der CLSI

vorgeschlagenen Empfindlichkeitsklassen keine „intermediäre“ Klasse für ANF vorsehen. Die Grenze der Klassen „sensibel“ und „resistent“ liegt zwischen den Breakpoints 2 mg/l und 4 mg/l, also eine Konzentrationsstufe auseinander. Sowohl gegenüber VOR als auch gegenüber ANF unterscheiden sich die MHK und die KT-MHK-Werte nur um eine Konzentrationsstufe und unterliegen damit der Schwankungsbreite der Methode. Man könnte in diesen Fällen von einem „methodisch bedingten Antagonismus“ sprechen.

Die Kombination von APH und FCY ist die meist verwendete Kombination von Antimykotika bei *Candida* und *Cryptococcus* Infektionen in der Klinik, jedoch liegen derzeit keine Studienergebnisse vor, ob die Kombination von FCY mit APH besser als die Monotherapie gegen invasive Candidosen wirkt (TE DORSTHORST 2002). In der vorliegenden Arbeit fand sich bei den *C. albicans*-Patientenstämmen bei einem von 36 Stämmen ein Synergismus und bei keinem Stamm ein Antagonismus nach 48h bei dieser Kombination. Bei den 9 *C. glabrata*-Stämmen konnte bei 2 Stämmen ein Antagonismus, sowie auch bei einem der 2 *C. krusei*-Stämme festgestellt werden. Ein Synergismus zeigte sich nicht. Die FIC-Indices der übrigen Stämme wurden unabhängig von der Spezies mehrheitlich als indifferent bzw. additiv bewertet. Dies entspricht der Aussage von CUENCA-ESTRELLA (2004), dass die Kombination von FCY mit APH allgemein als additiv/indifferent oder synergistisch, selten als antagonistisch bewertet wird. In einer Studie von TE DORSTHORST (2002) hingegen lag der Anteil an antagonistisch bewerteten FIC-Indices der Kombination FCY und APH bei den getesteten *C. albicans*-Stämmen bei 5 von 9 Isolaten sowie bei den *C. krusei*-Stämmen bei 6 von 9 Isolaten. Auch der Anteil an beobachtetem Synergismus war im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit höher (*C. albicans* 4 von 9 Isolaten; *C. krusei* 3 von 9 Isolaten). Dieser Unterschied ist auf eine andere Wahl der FIC-Index Bewertung zurückzuführen. So wählte TE DORSTHORST (2002) die FIC-Index Definition nach BERENBAUM (Tabelle 4.2). Würde diese Definition auch in der vorliegenden Arbeit angewandt, würde ebenfalls die Mehrheit der FIC-Indices als antagonistisch bewertet werden (*C. albicans* ANT n=25, SYN n= 11; *C. glabrata* ANT n=9, *C. krusei* IND n=1, ANT n=1). Da die Definition der Interpretation des FIC-Index nicht eindeutig festgelegt ist, ist der Vergleich der unterschiedlichen Studienergebnisse schwierig. Ein weiteres Problem bei der Bewertung der Kombination APH und FCY lag in der unterschiedlichen Festlegung der MHK-Werte. So konnte bei APH ein klarer Endpunkt des Wachstums festgestellt werden. Als MHK wurde die Konzentration bestimmt, in der

kein Wachstum mehr vorhanden war. Bei FCY wurde die Konzentration als MHK gewählt, bei der eine Inhibition des Wachstums um $\geq 80\%$ im Vergleich zur antimykotikafreien Wachstumskontrolle vorlag, da es bei einigen Stämmen keinen klaren Endpunkt des Wachstums gab (TE DORSTHORST 2002).

Tab. 4.2 Definitionen zur Interpretation des FIC-Index

Interpretation	Definitionen gemäß den Referenzen				
	Berenbaum 1978	Eliopoulos 1991	Nguyen et al. 1995	Walsh et al. 1995	White et al. 1996
Synergismus	<1	$\leq 0,5$	<1	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$
Additiv	=1	0,5-1	1	0,5-1	
Indifferent			1-2	>1-4	>0,5-4
Antagonismus	>1	≥ 2	>2	>4	>4

Modifiziert nach TE DORSTHORST (2002)

Bei der Kombination der Antimykotika VOR und FCY zeigte sich nach 48h bei 3 der 36 *C. albicans*-Patientenstämme ein Synergismus, sowie bei 3 ein Antagonismus. Bei 4 der 9 *C. glabrata*-Stämme fand sich ein Antagonismus, dies Ergebnis deckte sich mit der Aussage von CUENCA-ESTRELLA (2004) über Antagonismus bei der Kombination von FCY mit Azolantimykotika bei *C. glabrata* und *C. lusitaniae*. Bei den übrigen Stämmen zeigte sich ein additives oder indifferentes Verhalten. So beschrieb auch CUENCA-ESTRELLA (2004), dass für die meisten *Candida* und *Aspergillus* Spezies in vitro jedoch keine Interaktion der Antimykotika festgestellt werden konnte. BARCHIESI (2004) fand in seiner Studie mit 20 *C. glabrata*-Stämmen einmal einen Synergismus, bei 19 von 20 Stämmen keine Interaktion (=additiv/indifferent) und bei keinem Stamm einen Antagonismus. Er wählt jedoch die FIC-Index Definition $\leq 0,5$ Synergismus, >0,5-4 indifferent und >4 Antagonismus. Bei der Anwendung dieser Definition auf die FIC-Index Werte dieser Arbeit zeigten sich alle *C. glabrata*-Stämme indifferent und entsprachen damit dem Ergebnis von BARCHIESI (2004).

Bei der Kombination von VOR mit ANF fand sich nach 48h bei 2 der 36 *C. albicans*-Patientenstämme ein Antagonismus und bei 2 ein Synergismus. Bei 2 der 9 *C. glabrata*-Stämme zeigte sich ebenfalls ein Synergismus. In einer Studie von

BACHMANN (2003) stellte sich ein indifferentes Verhalten bei der Kombination von Fluconazol und Caspofungin gegenüber *C. albicans*-Stämmen dar. Auch hier wurde für die Bewertung „indifferent“ ein FIC-Index-Wert von $>0,5-4$ gewählt. Bei dieser Definition sind auch in der vorliegenden Arbeit die antagonistisch bewerteten FIC-Indices als indifferent zu beurteilen und stimmen somit mit der Studie überein. Auch in einer Studie von HEYN (2003) zeigte sich die Kombination von VOR und Micafungin bei 97% der *Candida*-Isolate als indifferent. Ebenfalls berichtete CUENCA-ESTRELLA (2004) in seinem Review über ein indifferentes Verhalten und selten vorkommenden Synergismus bei *Candida* spp. bei der Kombination von Azolantimykotika mit Echinocandinantimykotika.

Es konnte gezeigt werden, dass das Fehlen einer einheitlichen Interpretation des FIC-Index das Bewerten und den Vergleich von Interaktionen zweier Antimykotika erschwert. Auch ist die unterschiedliche Festlegung des Endpunkts des Wachstums bei einigen Kombinationen ein Nachteil dieser Methode. Aber besonders wichtig ist, dass ein festgestellter Antagonismus unbedingt einer weiteren Betrachtung bedarf, da es in vielen Fällen auf Grund mathematischer Gegebenheiten zu dieser Bewertung kommt. Ein in vitro festgestelltes Verhalten muss nicht unbedingt dem klinischen Bild entsprechen, da Faktoren wie verlängerte Therapie und die Pharmakokinetik der Antimykotika eine entscheidende Rolle in der Klinik spielen (TE DORSTHORST 2002).

Der „Antagonismus 2“ leitet sich aus der methodisch bedingten Schwankungsbreite ab. Liegt die KT-MHK eine Konzentrationsstufe höher als die MHK, so liegt dieser Unterschied in der Schwankungsbreite der Methode. Wird aus diesen Werten die Fractional Inhibitory Concentration errechnet, ergibt sich immer ein FIC-Wert von 2 und daher ein FIC-Index von >2 . Dieser FIC-Index wird qualitative als antagonistisch bewertet, ist jedoch mathematisch bzw. methodisch bedingt. Liegt dieser Fall bei beiden Antimykotika vor, so ergibt sich ein FIC-Index von 4, der ebenfalls mathematisch bzw. methodisch bedingt ist. Der qualitative FIC-Wert der beiden Antimykotika zueinander sollte als indifferent anstelle von antagonistisch bezeichnet werden, wenn die MHK- und KT-MHK-Werte im Bereich der als „sensibel“ bewerteten Konzentrationen liegen, wie in Fällen dieser Arbeit. Da in diesen Fällen nicht von einem „echten“ Antagonismus auszugehen ist. Würde der Antagonismus mit einem FIC-Index von >4 anstatt mit ≥ 2 definiert, so könnte der errechnete Antagonismus als dieser bewertet werden, da die „mathematisch und methodisch“ bedingten Antagonismen ausgeschlossen sind (EPIOPOULOS und MOELLERING 1991).

Einfluss der Kombination von Antimykotika auf das Trailing-Wachstumsphänomen

Das gegenüber den Azolantimykotika in Monotestung beobachtete Trailing-Wachstumsphänomen konnte bei keiner der Antimykotikakombinationen weder nach 24h noch nach 48h festgestellt werden. Voriconazol zeigte in Kombination mit Flucytosin oder Anidulafungin kein Trailing, so dass die MHK-Werte „eindeutig“ durch einen klaren Wachstumsendpunkt abgelesen werden konnten.

5 Zusammenfassung

Infektionen mit Hefepilzen der Gattung *Candida* (*C.*) führen bei immungeschwächten Hochrisikopatienten wie HIV- und Krebspatienten immer noch sehr häufig zum Tode (25-50%). Durch die Entwicklung von Resistenzen und durch das Auftreten des Trailingwachstumsphänomens gegenüber unterschiedlichen Antimykotika wird die Empfindlichkeitstestung und Therapie erschwert.

Mittels der Mikrodilutionstestung wurde modellhaft die Empfindlichkeitsverteilung und das Auftreten von Trailing an 25 *C. albicans*-Stämme (MF) gegenüber den Antimykotika Flucytosin (FCY), Amphotericin B (APH), Fluconazol (FLC), Voriconazol (VOR), Itraconazol (ITR) und Anidulafungin (ANF) untersucht. Als Nährmedium wurde RPMI 1640-2.0% Glucose in Anlehnung an das M27 A2 Protokoll des CLSI (früher NCCLS) verwendet. In einer weiteren Testreihe zum Einfluss des Mediums auf die Empfindlichkeit und die Häufigkeit des Auftretens des Trailingphänomens gegenüber FCY, FLC, VOR, ITR wurden zusätzlich zu dem Nährmedium RPMI auch RPMI mit Methylblau, Yeast Sensitivity Test Medium (YST) und Mueller-Hinton mit Methylblau (MH+M) eingesetzt. Alle Medien hatten eine 2%ige-Glucose-endkonzentration. Die Auswertung erfolgte visuell nach einer Inkubationszeit von 24h und 48h bei 37°C.

Eine signifikante Abhängigkeit der Empfindlichkeitsverteilung von der Inkubationszeit (24h/48h) zeigte sich bei APH sowie bei den Azolantimykotika, nicht aber bei FCY und ANF. Das Ausmaß der Empfindlichkeitsveränderung war abhängig vom Antimykotikum, dargestellt an der Zunahme des resistenten Anteils an Isolaten, in RPMI für die MF-Stämme: APH (36%) > ITR (12%) > VOR (9,9%) > FLC (8,9%). Die Mehrzahl der MHK-Werte war gegenüber den Azolantimykotika jedoch nach 24h ($\geq 86,5\%$) und 48h ($\geq 71,4\%$) als sensibel zu bewerten. Gegenüber den Antimykotika Anidulafungin und Flucytosin waren $\geq 98\%$ der MHK-Werte nach 24h und 48h als sensibel einzuordnen. Als Ausnahme im Vergleich mit den anderen Antimykotika stellte sich Amphotericin B dar. Gegenüber Amphotericin B waren im MF-Kollektiv die meisten Isolate an beiden Ablesezeitpunkten auf Grund der MHK-Werte als intermediär einzustufen.

Im Vergleich waren in den Methylblau-haltigen Medien RPMI+M 96% und YST 94% der MF-Stämme gegenüber den Azolantimykotika anhand der ermittelten MHK-Werte als sensibel einzuordnen, in RPMI waren es 82%. Gegenüber Flucytosin war der als sensibel bewertete Anteil an MHK-Werten in den Nährmedien RPMI, RPMI+M und YST bei den *Candida albicans*-MF-Stämmen 100% mit Ausnahme von YST nach 48h

(95%). In MH+M wurden gegenüber allen Antimykotika vermehrt MHK-Werte in Konzentrationsbereichen der Sensibilitätsklasse „resistent“ ermittelt, besonders gegenüber Flucytosin. MH+M war als Medium für diese Empfindlichkeitstestung nicht geeignet.

Die geringste Häufigkeit (48h) des Trailingphänomens gegenüber den Azolantimykotika konnte in YST (11%) festgestellt werden, gefolgt von RPMI+M (16%) < RPMI (45%). In MH+M konnte wenig Trailing festgestellt werden, dies war wiederum auf den Anstieg der Resistenzen zurückzuführen und somit nicht als geringeres Trailingvorkommen zu werten.

Mittels der Checkerboard-Testung konnte modellhaft das Empfindlichkeitsverhalten und das Auftreten von Trailing anhand der 25 *C. albicans*-MF-Stämmen und einem Kollektiv aus 48 ausgewählten Patientenstämmen (36 *C. albicans* Stämme, 9 *C. glabrata* Stämme, 2 *C. krusei* Stämme, 1 *T. asahii* Stamm) in einer Kombinationstherapie mit zwei Antimykotika (APH+FCY, VOR+FCY, VOR+ANF) untersucht werden. Die Ergebnisse wurden anhand des Fractional Inhibitory Concentration-Index (FIC-Index) qualitativ ausgewertet. Als Nährmedium wurde RPMI 2%-Glucose verwendet. Die Ablesung erfolgte nach 24h und 48h visuell.

Bei den *C. albicans*-MF-Stämmen trat in keiner der drei Antimykotikakombinationen zu irgendeinem Zeitpunkt ein Antagonismus, ein Synergismus sowie ein Trailing auf. Nach 24h und 48h konnten die FIC-Indices qualitativ als additiv oder indifferent bewertet werden.

Bei der qualitativen Auswertung der FIC-Indices der Patientenstämmen konnte bei den Antimykotikakombinationen ein Synergismus festgestellt werden (N/Zeit): APH+FCY: 4/24h, 1/48h; VOR+FCY: 3/48h, VOR+ANF: 1/24h, 4/48h. Der bei Kombinationen von Antimykotika zu erwartende Antagonismus trat insgesamt selten auf. So fand sich ein Antagonismus für die Kombinationen (N/Zeit): APH+FCY: 2/24h, 3/48h; VOR+FCY: 7/48h, VOR+ANF: 2/48h. Bei allen Antimykotikakombinationen zeigte sich bei genauerer Betrachtung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) in der Monotherapie und den Kreuztitrations-MHK-Werten (KT-MHK) in der Kombinationstestung der Isolate, deren FIC-Index qualitativ als antagonistisch bewertet wurde, dass es sich um mathematisch- oder methodisch-bedingte Antagonismen handelte. Bei Kombinationen mit FCY fand sich eine Verschiebung aus dem hochempfindlichen zum sensiblen Bereich, die so mathematisch zum Antagonismus führte. Mit einem quantitativen FIC-Index von 2,5 ist der Antagonismus der beiden *C. albicans*-Stämme in der Kombination VOR+ANF auch methodisch zu hinterfragen.

Ein Trailing konnte im Rahmen der Kombinationstestung nicht festgestellt werden.

6 Tabellenanhang

Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640 2%-Glucose

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
ATCC 22019	C. para.	0,5	2	0,25	1	0,015625	0,125	0,015625	0,03125
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,25	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,5	2	4	0,03125	0,125	0,015625	0,5
ATCC 22019	C. para.	0,125	0,125	2	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
ATCC 22019	C. para.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,125	0,015625	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,125	0,5	2	2	0,03125	0,125	0,03125	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,125	0,5	1	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,125	0,0625	1	0,007813	0,03125	0,007813	0,03125
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,125	0,125	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
ATCC 6258	C. krusei	8	16	32	64	0,5	1	0,5	1
ATCC 6258	C. krusei	8	8	32	32	0,5	0,5	0,5	1
ATCC 6258	C. krusei	8	8	16	64	0,25	1	0,0625	0,5
ATCC 6258	C. krusei	8	8	16	32	0,25	0,5	0,0625	1
ATCC 6258	C. krusei	8	8	16	32	0,25	0,5	0,0625	0,125
ATCC 6258	C. krusei	0,25	4	4	16	0,0625	0,25	0,015625	0,125
ATCC 6258	C. krusei	2	2	16	32	0,0625	2	0,03125	0,0625
ATCC 90028	C. alb.	2	2	0,5	4	0,0625	0,0625	0,007813	0,03125
ATCC 90028	C. alb.	0,25	0,5	0,25	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
ATCC 90028	C. alb.	0,25	1	0,25	0,25	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625
ATCC 90028	C. alb.	0,125	1	0,25	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
DSM 11224	C. para.	0,0625	0,125	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
DSM 11226	C. glab.	0,0625	0,0625	2	4	0,0625	0,25	0,0625	0,25
DSM 11943	C. alb.	0,25	4	0,25	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
DSM 11944	C. alb.	0,125	0,125	0,5	0,5	0,0625	0,0625	16	16
DSM 11945	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
DSM 11946	C. alb.	0,5	2	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
DSM 11948	C. alb.	0,5	1	1	1	0,015625	0,0625	0,03125	0,03125
DSM 11948	C. alb.	0,5	1	1	1	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625
DSM 11949	C. alb.	0,125	1	16	32	0,5	0,5	0,5	1
DSM 11950	C. glab.	0,0625	0,125	2	4	0,125	0,25	0,0625	0,5
DSM 11950	C. glab.	0,25	0,5	16	16	0,5	0,5	0,5	0,5
DSM 11951	C. trop.	32	128	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,03125	0,03125
DSM 11951	C. trop.	0,0625	0,0625	0,5	2	0,125	0,25	0,0625	0,125
DSM 11951	C. trop.	128	128	0,5	0,5	0,0625	0,125	0,0625	0,0625
DSM 11952	C. trop.	0,0625	0,125	128	128	16	16	2	16
DSM 11955	C. para.	0,0625	0,125	2	2	0,125	0,125	0,125	0,125
DSM 11955	C. para.	0,125	0,25	1	4	0,25	0,5	0,125	0,25
DSM 11956	C. krusei	8	8	32	64	0,5	1	0,125	0,25
DSM 11956	C. krusei	8	8	32	64	0,25	1	0,0625	0,5
DSM 11956	C. krusei	8	8	16	32	0,25	0,5	0,0625	0,5
DSM 11957	C. krusei	8	8	4	8	0,0625	0,125	0,03125	0,0625

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 01	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,0625	0,007813	0,0625
MF 01	C. alb.	0,0625	0,25	0,125	64	0,007813	0,25	0,007813	0,0625
MF 01	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,007813	0,03125	0,007813	0,03125
MF 01	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,007813
MF 01	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,03125
MF 01	C. alb.	0,125	0,25	0,125	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 02	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,007813	0,5	0,007813	16
MF 02	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,125	0,015625	0,0625
MF 02	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 02	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 02	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,03125
MF 02	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,25	0,015625	8	0,015625	8
MF 02	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 02	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 03	C. alb.	0,25	0,5	128	128	16	16	16	16
MF 03	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	64	8	8	8	8
MF 03	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,125	0,125	0,03125	0,03125
MF 03	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 03	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 03	C. alb.	0,0625	0,25	128	128	16	16	16	16
MF 03	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 03	C. alb.	0,125	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	4	0,25	0,25	0,015625	1
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,015625	0,0625	0,007813	0,0625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,03125	0,03125
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,125	0,5	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
MF 05	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,0625	0,125	0,0625	0,125
MF 05	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 05	C. alb.	0,0625	0,125	0,0625	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 05	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,125	0,015625	16
MF 05	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 05	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 06	C. alb.	0,125	0,125	1	4	0,015625	0,125	0,015625	0,03125
MF 06	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 06	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,0625
MF 06	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	16
MF 06	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 06	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	64	0,015625	16	0,015625	16
MF 06	C. alb.	0,0625	0,125	0,0625	0,125	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 06	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 07	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,25	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 07	C. alb.	0,125	0,25	1	0,5	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 07	C. alb.	0,0625	0,5	0,25	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 07	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,0625	0,25	0,03125	0,0625
MF 07	C. alb.	0,125	0,25	8	32	0,5	16	16	16
MF 07	C. alb.	0,25	0,25	1	64	0,5	16	16	16
MF 07	C. alb.	0,0625	0,25	0,125	1	0,007813	0,25	0,007813	0,125
MF 07	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,0625	0,007813	0,03125
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	0,0625	0,5	0,015625	2	0,015625	2
MF 08	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 08	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	128	0,015625	16	0,015625	16
MF 08	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	0,125	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 08	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 08	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,25	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 09	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 09	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,007813
MF 09	C. alb.	0,0625	0,0625	0,5	16	0,015625	0,125	0,007813	0,25
MF 09	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 10	C. alb.	0,125	0,25	2	2	0,25	0,25	0,5	0,5
MF 10	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 10	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 10	C. alb.	0,0625	0,25	128	128	16	16	16	16
MF 10	C. alb.	0,125	0,25	128	128	16	16	16	16
MF 10	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 10	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,03125	0,125	0,015625	0,015625
MF 10	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 11	C. alb.	0,0625	0,25	128	128	16	16	16	16
MF 11	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 11	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 11	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 11	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 11	C. alb.	0,125	0,125	1	8	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 11	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	4	0,03125	0,5	0,03125	0,5
MF 11	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	64	0,03125	8	0,015625	8
MF 12	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,03125	0,0625	0,03125	0,0625

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 13	C. alb.	0,125	0,25	0,25	64	0,015625	8	0,015625	8
MF 13	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,125	0,125	2
MF 13	C. alb.	0,125	0,125	0,25	64	0,015625	8	0,015625	8
MF 13	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 13	C. alb.	0,125	0,125	0,25	64	0,0625	8	0,0625	8
MF 13	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	4	0,0625	0,125	0,015625	0,03125
MF 13	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,03125	0,125	0,0625	0,5
MF 13	C. alb.	0,125	0,25	0,125	0,5	0,015625	8	0,015625	8
MF 14	C. alb.	0,125	0,25	0,5	2	0,0625	8	0,015625	8
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	64	0,0625	8	0,03125	0,03125
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,03125	0,125	0,015625	0,0625
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,0625	1	0,125	0,25
MF 14	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,015625	0,125	0,125	1
MF 15	C. alb.	0,125	0,25	0,5	2	0,015625	2	0,03125	0,25
MF 15	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	128	0,015625	16	0,015625	16
MF 15	C. alb.	0,0625	0,0625	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	0,0625	0,0625	0,5	0,5	0,03125	0,125	0,015625	0,25
MF 15	C. alb.	0,0625	0,0625	128	128	16	16	16	16
MF 15	C. alb.	0,125	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,007813	0,015625
MF 15	C. alb.	0,125	0,25	0,5	1	0,03125	0,25	0,0625	0,25
MF 16	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,0625	0,125	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 16	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 16	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 16	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,03125	0,0625	0,0625	0,125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	64	0,03125	2	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 17	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,5	0,03125	0,0625	0,25	0,5
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,0625	0,0625
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,015625	0,125	0,007813	0,007813
MF 18	C. alb.	0,0625	0,0625	8	8	16	16	16	16
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,0625	0,125	0,015625	0,0625
MF 18	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	2	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 19	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,007813	0,007813	0,007813	0,03125
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,007813
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 19	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 19	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,0625
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	1	2	0,0625	0,125	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,0625	0,125	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 20	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	0,5	1	0,125	0,25	0,25	8
MF 21	C. alb.	0,0625	0,125	128	128	16	16	16	16
MF 21	C. alb.	0,0625	0,125	1	2	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 21	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 21	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 22	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 22	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,5	0,015625	16	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 22	C. alb.	0,125	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 22	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 23	C. alb.	0,125	0,125	0,25	1	0,03125	0,125	0,03125	0,03125
MF 23	C. alb.	0,0625	0,125	1	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 23	C. alb.	0,0625	0,0625	0,5	0,5	8	8	4	4
MF 23	C. alb.	0,0625	0,125	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 23	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 23	C. alb.	0,0625	0,125	0,0625	0,25	0,007813	0,015625	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,0625	0,0625	128	0,007813	16	0,007813	16
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,0625	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,007813
MF 24	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,5	0,015625	0,25	0,007813	0,015625
MF 25	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 25	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 25	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 25	C. alb.	0,0625	0,0625	64	64	0,125	0,125	0,125	0,125
MF 25	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 25	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,5	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 25	C. alb.	0,0625	0,0625	0,125	0,125	0,015625	0,015625	0,007813	0,007813
MF 25	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/Spezies	APH 24h	APH 48h	ANF 24h	ANF 48h
ATCC 22019	C. para.	0,25	0,25	0,25	1
ATCC 22019	C. para.	0,5	0,5	0,5	0,5
ATCC 6258	C.krusei	0,5	0,5	0,0625	0,25
ATCC 6258	C.krusei	1	1	0,0625	0,25
ATCC 90028	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
ATCC 90028	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 01	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 01	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 01	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 02	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,125
MF 02	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,03125
MF 02	C. alb.	0,5	2	0,03125	0,0625
MF 03	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 03	C. alb.	0,5	0,5	0,0625	0,0625
MF 03	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,0625
MF 04	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 04	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 04	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,0625
MF 05	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 05	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,03125
MF 05	C. alb.	0,5	1	0,125	0,25
MF 06	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 06	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,03125
MF 06	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 07	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 07	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 07	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,125
MF 08	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 08	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 08	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 09	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 09	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 09	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,0625
MF 10	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 10	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,03125
MF 10	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 11	C. alb.	0,25	0,5	0,0625	0,0625
MF 11	C. alb.	0,5	0,5	0,0625	0,0625
MF 11	C. alb.	0,5	0,5	0,0625	0,0625
MF 12	C. alb.	0,25	0,5	0,0625	0,0625
MF 12	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 12	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,0625
MF 13	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 13	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 13	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,0625
MF 14	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 14	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 14	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,0625
MF 15	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,0625
MF 15	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 15	C. alb.	0,5	1	0,0625	0,0625
MF 16	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,03125
MF 16	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,0625
MF 16	C. alb.	0,25	1	0,03125	0,03125
MF 17	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 17	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 17	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 18	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,0625
MF 18	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 18	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125

Forts.: Tab. 6.1 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in RPMI 1640

STAMM-NR I	Genus/Spezies	APH 24h	APH 48h	ANF 24h	ANF 48h
MF 19	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,0625
MF 19	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 19	C. alb.	1	1	0,03125	0,03125
MF 20	C. alb.	0,125	0,25	0,03125	0,03125
MF 20	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,125
MF 20	C. alb.	0,5	1	/	/
MF 21	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,03125
MF 21	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,0625
MF 21	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125
MF 22	C. alb.	0,25	0,5	0,03125	0,03125
MF 22	C. alb.	0,5	0,5	0,03125	0,03125
MF 22	C. alb.	1	1	0,03125	0,03125
MF 23	C. alb.	0,25	0,25	0,03125	0,03125
MF 23	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,0625
MF 23	C. alb.	0,5	1	0,03125	8
MF 24	C. alb.	0,25	0,25	0,0625	0,0625
MF 24	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,0625
MF 24	C. alb.	1	1	0,03125	0,125
MF 25	C. alb.	0,25	0,25	0,0625	0,125
MF 25	C. alb.	0,5	0,5	0,0625	0,0625
MF 25	C. alb.	0,5	1	0,03125	0,03125

Tab. 6.2 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in RPMI+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
ATCC 22019	C. para.	1	4	0,5	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,5	0,0625	4	0,007813	0,0625	0,007813	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,25	0,25	4	4	0,0625	0,0625	0,5	0,5
ATCC 22019	C. para.	0,5	1	2	4	0,0625	0,0625	0,03125	0,25
ATCC 22019	C. para.	0,25	1	2	4	0,0625	0,125	0,0625	0,25
ATCC 22019	C. para.	0,125	1	2	4	0,0625	0,125	0,015625	0,25
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	32	0,5	1	0,25	0,5
ATCC 6258	C. krusei	8	8	8	8	0,25	8	0,015625	0,5
ATCC 6258	C. krusei	32	32	16	32	0,25	0,5	0,0625	0,5
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	64	0,25	1	0,03125	0,25
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	64	0,5	1	0,5	1
ATCC 90028	C. alb.	2	4	1	2	0,0625	0,0625	0,03125	0,0625
DSM 11224	C. para.	0,0625	0,25	0,0625	4	0,007813	0,125	0,007813	0,0625
ATCC 90028	C. alb.	0,25	2	0,5	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
DSM 11226	C. glab.	0,0625	0,25	4	4	0,125	0,25	0,0625	0,25
DSM 11943	C. alb.	0,0625	8	0,25	0,5	0,007813	0,03125	0,007813	0,015625
DSM 11944	C. alb.	0,25	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
DSM 11945	C. alb.	0,25	0,25	0,5	1	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
DSM 11946	C. alb.	0,5	1	1	1	0,03125	0,03125	0,125	0,125
DSM 11948	C. alb.	0,5	2	0,5	1	0,03125	0,125	0,015625	0,03125
DSM 11948	C. alb.	0,5	2	0,5	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
DSM 11949	C. alb.	0,5	2	32	32	0,5	2	0,5	1
DSM 11949	C. alb.	0,125	1	32	32	1	1	0,5	1
DSM 11950	C. glab.	0,125	0,25	2	4	0,125	0,5	0,0625	0,5
DSM 11951	C. trop.	32	128	2	2	0,125	0,125	0,0625	0,125
DSM 11951	C. trop.	64	128	2	4	0,25	0,25	0,125	0,5
DSM 11952	C. trop.	0,0625	0,25	128	128	16	16	0,125	16
DSM 11953	C. trop.	0,0625	0,125	2	4	0,5	1	0,25	0,5
DSM 11955	C. para.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,125	0,125	0,007813	0,03125
DSM 11955	C. para.	0,125	1	2	4	0,25	0,5	0,125	0,5
DSM 11956	C. krusei	32	32	32	64	0,25	1	0,125	0,5
DSM 11956	C. krusei	16	32	32	64	0,5	2	0,125	0,25
DSM 11957	C. krusei	32	32	4	16	0,0625	0,25	0,015625	0,125

Forts.: Tab. 6.2 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in RPMI+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 01	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 01	C. alb.	0,125	0,5	0,25	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	0,125	0,125	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,007813
MF 02	C. alb.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 02	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 02	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 02	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,25	0,007813	0,03125	0,007813	0,03125
MF 02	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 03	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 03	C. alb.	0,0625	0,5	1	1	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 03	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,125	0,125	0,015625	0,015625
MF 03	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	1	0,03125	0,125	0,015625	0,0625
MF 03	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 04	C. alb.	0,125	0,5	0,5	4	0,0625	2	0,0625	0,5
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,03125	0,125	0,03125	0,03125
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,007813	0,03125	0,007813	0,0625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 04	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 05	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,03125	0,0625	0,03125	0,5
MF 05	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 05	C. alb.	0,125	0,5	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 06	C. alb.	0,25	0,25	0,5	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,125
MF 06	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 06	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,03125	0,015625	16
MF 06	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 06	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,007813	0,03125	0,015625	0,03125
MF 07	C. alb.	0,5	1	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 07	C. alb.	0,125	1	0,5	2	0,015625	0,125	0,007813	0,03125
MF 07	C. alb.	0,25	1	0,5	2	0,0625	0,25	0,03125	0,0625
MF 07	C. alb.	0,125	0,5	0,25	2	0,015625	0,25	0,007813	16
MF 07	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 08	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 08	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	1	0,015625	0,03125	0,03125	0,0625
MF 08	C. alb.	0,125	0,25	0,0625	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,0625
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 09	C. alb.	0,25	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,125	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,03125	0,03125
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	0,0625	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 10	C. alb.	0,5	0,5	4	16	0,5	8	0,5	8
MF 10	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 10	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,0625
MF 10	C. alb.	0,25	0,5	0,5	64	0,015625	16	0,015625	16
MF 10	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625

Forts.: Tab. 6.2 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in RPMI+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 11	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 11	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 11	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 11	C. alb.	0,125	0,25	0,25	128	0,015625	16	0,015625	16
MF 11	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,125	0,0625	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 12	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,25	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 12	C. alb.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 13	C. alb.	0,25	0,25	4	4	4	4	4	8
MF 13	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,03125	0,0625	0,007813	0,03125
MF 13	C. alb.	0,25	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,125	0,015625	0,015625
MF 13	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
MF 13	C. alb.	0,25	0,25	0,5	1	0,03125	0,125	0,015625	0,03125
MF 14	C. alb.	0,125	0,25	1	8	4	4	4	8
MF 14	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,125	0,125	0,015625	0,03125
MF 14	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,125	0,007813	0,03125
MF 14	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 14	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,007813	0,015625
MF 15	C. alb.	0,125	0,25	1	8	0,125	0,25	0,0625	0,125
MF 15	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,007813	0,0625
MF 15	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,125	0,015625	0,125
MF 15	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 16	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 16	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 16	C. alb.	0,125	0,25	0,25	1	0,015625	0,03125	0,03125	0,03125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,0625	0,5	0,0625	0,0625
MF 17	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,125	0,25
MF 17	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625
MF 17	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,125	0,25	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,125	0,25	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,125	0,007813	0,015625
MF 19	C. alb.	0,5	0,5	1	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 19	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 19	C. alb.	0,125	0,25	8	0,5	0,03125	0,0625	0,03125	0,03125
MF 19	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,03125
MF 19	C. alb.	0,25	0,5	0,5	2	0,007813	0,0625	0,007813	0,015625
MF 20	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 20	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,03125	0,125	0,03125	0,125
MF 20	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,25	0,5	0,25	0,5	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 21	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,007813	0,007813
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,25	0,25	0,25	0,25

Forts.: Tab. 6.2 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in RPMI+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 21	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,007813	0,007813
MF 21	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,25	0,25	0,25	0,25
MF 22	C. alb.	0,125	0,25	1	2	0,125	0,25	0,03125	0,0625
MF 22	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 22	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	0,125	0,25	0,5	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 23	C. alb.	0,0625	0,25	0,0625	0,5	0,007813	0,03125	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	0,25	0,25	0,5	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 23	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,125	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	0,125	0,25	0,125	1	0,015625	0,125	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,25	0,015625	0,03125
MF 24	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 24	C. alb.	0,125	0,25	0,0625	0,5	0,015625	0,125	0,007813	0,007813
MF 24	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,25	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,25	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625

Tab.: 6.3 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in YST

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
ATCC 22019	C. para.	1	4	1	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,25
ATCC 22019	C. para.	0,0625	0,125	0,0625	8	0,007813	0,125	0,015625	0,015625
ATCC 22019	C. para.	0,5	0,5	2	4	0,0625	0,0625	0,03125	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,5	2	4	0,125	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
ATCC 22019	C. para.	0,5	4	8	16	0,125	0,125	0,015625	0,0625
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	64	0,5	1	0,5	4
ATCC 6258	C. krusei	16	32	32	32	0,25	1	0,125	2
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	64	0,25	1	0,125	1
ATCC 6258	C. krusei	32	64	32	64	0,25	1	0,0625	0,5
ATCC 6258	C. krusei	128	128	128	128	16	16	16	16
ATCC 6258	C. krusei	32	64	64	64	1	8	1	4
ATCC 90028	C. alb.	2	4	2	2	0,0625	0,0625	0,03125	0,125
ATCC 90028	C. alb.	0,25	4	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,125
DSM 11224	C. para.	0,125	0,25	2	4	0,0625	0,0625	0,007813	0,03125
DSM 11226	C. glab.	0,0625	0,25	8	16	0,25	0,5	0,125	1
DSM 11943	C. alb.	0,125	4	1	2	0,015625	0,0625	0,007813	0,0625
DSM 11944	C. alb.	0,5	0,5	0,5	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,03125
DSM 11945	C. alb.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,0625
DSM 11946	C. alb.	0,5	4	2	2	0,03125	0,03125	0,0625	0,5
DSM 11948	C. alb.	1	4	2	4	0,0625	0,25	0,125	0,25
DSM 11948	C. alb.	0,25	4	2	4	0,0625	0,0625	0,0625	0,125
DSM 11949	C. alb.	0,25	4	32	32	1	1	1	2
DSM 11949	C. alb.	0,125	1	32	32	1	2	1	2
DSM 11950	C. glab.	0,125	0,5	8	8	0,25	0,5	0,5	1
DSM 11951	C. trop.	32	128	1	2	0,0625	0,125	0,03125	0,125
DSM 11951	C. trop.	64	64	2	4	0,125	0,25	0,0625	0,25
DSM 11952	C. trop.	0,0625	0,25	128	128	16	16	0,5	2
DSM 11953	C. trop.	0,0625	0,25	2	8	0,5	1	0,25	1
DSM 11955	C. para.	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,007813	0,015625	0,007813	0,0625
DSM 11955	C. para.	0,25	2	16	16	0,5	0,5	0,25	0,25
DSM 11956	C. krusei	32	32	32	64	0,5	1	0,125	0,5
DSM 11956	C. krusei	32	32	64	64	0,5	2	0,25	1
DSM 11957	C. krusei	16	32	8	32	0,125	0,25	0,25	4

Forts.: Tab. 6.3 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in YST

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 01	C. alb.	0,5	0,5	0,5	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,03125
MF 01	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,0625
MF 01	C. alb.	0,25	128	0,5	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 01	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 01	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 02	C. alb.	0,5	0,5	1	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 02	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 02	C. alb.	0,0625	128	0,5	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 02	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 02	C. alb.	0,25	0,5	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 03	C. alb.	0,25	0,5	2	64	0,03125	16	0,03125	16
MF 03	C. alb.	0,0625	0,5	2	2	0,03125	0,125	0,03125	2
MF 03	C. alb.	0,0625	128	2	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 03	C. alb.	0,0625	0,5	2	4	0,0625	0,0625	0,015625	0,25
MF 03	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,125	0,03125	2
MF 04	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,5
MF 04	C. alb.	0,0625	128	1	128	0,015625	16	0,015625	16
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,125
MF 04	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	0,5	1	0,5	1	0,015625	0,0625	0,007813	0,03125
MF 05	C. alb.	0,125	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 05	C. alb.	0,25	128	0,5	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 05	C. alb.	0,125	0,5	0,5	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 05	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 06	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,125
MF 06	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,007813	0,125
MF 06	C. alb.	0,0625	128	0,5	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 06	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	1	0,007813	0,03125	0,007813	0,0625
MF 06	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 07	C. alb.	0,25	1	0,5	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,25
MF 07	C. alb.	0,0625	0,5	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 07	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 07	C. alb.	0,0625	0,5	0,0625	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 07	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 08	C. alb.	0,125	0,25	1	2	0,015625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 08	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,25
MF 08	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,03125	0,0625	0,03125	0,25
MF 08	C. alb.	0,0625	0,25	0,0625	1	0,03125	0,03125	0,03125	0,125
MF 08	C. alb.	0,0625	0,125	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 09	C. alb.	0,5	2	4	4	0,5	1	0,5	8
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,03125
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	0,0625	0,5	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 09	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 10	C. alb.	0,125	0,25	2	4	0,03125	0,0625	0,03125	0,125
MF 10	C. alb.	0,0625	1	1	8	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 10	C. alb.	0,0625	0,5	1	4	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 10	C. alb.	0,25	0,5	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,125
MF 10	C. alb.	0,125	0,5	2	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625

Forts.: Tab. 6.3 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in YST

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 11	C. alb.	0,0625	0,5	1	4	0,015625	0,03125	0,015625	0,125
MF 11	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 11	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 11	C. alb.	0,25	0,5	1	2	0,03125	0,0625	0,0625	0,0625
MF 12	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,03125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,5	0,007813	0,125
MF 12	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	4	0,015625	0,125	0,015625	0,25
MF 12	C. alb.	0,125	0,25	0,0625	2	0,015625	0,125	0,015625	16
MF 12	C. alb.	0,25	0,5	1	1	0,03125	0,03125	0,03125	0,0625
MF 13	C. alb.	0,25	1	2	4	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 13	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,125
MF 13	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,015625	0,015625	0,015625
MF 13	C. alb.	0,125	0,5	2	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 14	C. alb.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,25	0,015625	0,03125
MF 14	C. alb.	0,0625	0,5	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 14	C. alb.	0,125	0,25	0,5	4	0,015625	0,125	0,007813	1
MF 14	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,125
MF 14	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 15	C. alb.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,25
MF 15	C. alb.	0,0625	0,5	1	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 15	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	0,125	0,5	1	2	0,015625	0,03125	0,03125	0,0625
MF 16	C. alb.	0,125	0,5	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,25	4	4	0,125	0,125	0,0625	0,0625
MF 16	C. alb.	0,0625	0,25	0,5	0,5	0,007813	0,015625	0,007813	0,015625
MF 16	C. alb.	0,125	0,5	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,007813	0,03125	0,007813	0,125
MF 17	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 17	C. alb.	0,0625	0,25	4	4	0,0625	0,0625	0,0625	0,5
MF 17	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	0,125	0,25	1	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 18	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 18	C. alb.	0,0625	1	2	2	0,03125	0,125	0,015625	0,0625
MF 18	C. alb.	0,0625	0,25	0,0625	4	0,015625	0,125	0,015625	0,5
MF 18	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,03125	0,03125	0,007813	0,0625
MF 18	C. alb.	0,125	0,25	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 19	C. alb.	0,25	1	1	2	0,015625	0,03125	0,015625	0,0625
MF 19	C. alb.	0,125	0,5	2	4	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 19	C. alb.	0,0625	0,5	4	4	0,125	0,125	0,25	0,25
MF 19	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,0625
MF 19	C. alb.	0,25	1	0,5	4	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 20	C. alb.	0,125	0,5	1	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	0,0625	2	1	4	0,015625	0,015625	0,015625	0,0625
MF 20	C. alb.	0,125	0,5	2	2	0,0625	0,0625	0,125	0,25
MF 20	C. alb.	0,0625	0,5	0,5	2	0,015625	0,0625	0,007813	0,0625
MF 20	C. alb.	0,25	0,5	1	16	0,015625	0,125	0,015625	0,0625
MF 21	C. alb.	0,25	0,5	1	1	0,015625	0,125	0,015625	0,03125
MF 21	C. alb.	0,0625	0,5	1	8	0,015625	0,125	0,007813	0,125
MF 21	C. alb.	0,125	0,5	2	4	0,03125	0,0625	0,03125	0,0625
MF 21	C. alb.	0,0625	0,5	2	4	0,015625	0,0625	0,007813	0,03125

Forts.: Tab. 6.3 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in YST

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 22	C. alb.	0,125	0,5	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 22	C. alb.	0,0625	0,25	1	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,0625
MF 22	C. alb.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 22	C. alb.	0,25	0,5	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 23	C. alb.	0,25	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 23	C. alb.	0,25	0,25	1	1	0,015625	0,015625	0,015625	0,0625
MF 23	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	0,25	0,5	0,5	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,007813
MF 24	C. alb.	0,0625	0,25	1	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,03125
MF 24	C. alb.	0,125	0,25	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 24	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,03125	0,03125	0,03125	0,25
MF 24	C. alb.	0,25	0,5	0,5	0,5	0,007813	0,007813	0,007813	0,007813
MF 24	C. alb.	0,125	0,25	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,015625
MF 25	C. alb.	0,25	0,5	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,125
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	0,5	1	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 25	C. alb.	0,125	0,25	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 25	C. alb.	0,125	0,5	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,0625

Tab.: 6.4 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung in MH+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
ATCC 22019	C. para.	128	128	128	128	16	16	16	16
ATCC 22019	C. para.	64	64	4	4	0,0625	0,125	0,03125	0,5
ATCC 22019	C. para.	64	128	4	4	0,125	0,125	0,03125	0,03125
ATCC 22019	C. para.	64	64	4	4	0,125	0,125	0,03125	0,0625
ATCC 22019	C. para.	64	64	2	4	0,25	0,5	0,03125	0,125
ATCC 6258	C. krusei	32	32	32	64	0,5	0,5	0,25	0,25
ATCC 6258	C. krusei	0,125	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25	0,0625	0,25
ATCC 6258	C. krusei	32	64	32	64	0,25	1	0,0625	0,25
ATCC 6258	C. krusei	0,0625	64	0,0625	64	0,007813	2	0,007813	2
ATCC 6258	C. krusei	0,0625	64	0,0625	64	0,007813	2	0,007813	2
ATCC 90028	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
ATCC 90028	C. alb.	128	128	2	8	0,015625	0,125	0,015625	0,03125
DSM 11224	C. para.	64	64	2	2	0,0625	0,0625	0,03125	0,25
DSM 11226	C. glab.	4	32	8	32	0,5	1	0,5	2
DSM 11943	C. alb.	128	128	1	4	0,015625	0,5	0,015625	0,0625
DSM 11944	C. alb.	64	64	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
DSM 11945	C. alb.	128	128	2	8	0,125	1	0,25	0,25
DSM 11946	C. alb.	128	128	2	4	0,03125	1	0,015625	0,0625
DSM 11948	C. alb.	0,0625	4	0,0625	4	0,007813	0,5	0,007813	0,0625
DSM 11948	C. alb.	32	128	2	128	0,0625	16	0,007813	16
DSM 11949	C. alb.	32	32	32	32	1	1	1	1
DSM 11949	C. alb.	64	64	32	32	4	4	8	8
DSM 11950	C. glab.	2	2	8	8	0,25	0,5	0,5	0,5
DSM 11951	C. trop.	128	128	2	128	0,125	16	0,0625	16
DSM 11951	C. trop.	128	128	8	32	0,25	8	0,25	4
DSM 11952	C. trop.	0,0625	4	0,0625	128	0,007813	16	0,007813	0,5
DSM 11953	C. trop.	1	32	4	16	0,125	4	0,5	2
DSM 11955	C. para.	64	128	4	4	0,125	0,125	0,0625	0,0625
DSM 11955	C. para.	64	64	16	32	0,5	1	0,5	1
DSM 11956	C. krusei	32	64	32	64	0,5	1	0,25	1
DSM 11956	C. krusei	128	128	32	64	0,5	1	0,25	8
DSM 11957	C. krusei	16	32	8	16	0,125	0,25	0,03125	0,125

Forts.: Tab. 6.4 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in MH+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 01	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 01	C. alb.	16	0,25	1	1	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 01	C. alb.	128	128	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 01	C. alb.	128	128	0,0625	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 01	C. alb.	128	128	0,5	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 02	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 02	C. alb.	128	128	1	2	0,03125	0,0625	0,03125	0,0625
MF 02	C. alb.	128	128	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 02	C. alb.	128	128	1	2	0,03125	0,25	0,015625	0,0625
MF 02	C. alb.	128	128	1	4	0,015625	0,125	0,015625	0,125
MF 03	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 03	C. alb.	4	16	2	2	0,0625	0,0625	0,03125	0,0625
MF 03	C. alb.	128	128	2	4	0,0625	0,5	0,015625	16
MF 03	C. alb.	128	128	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 03	C. alb.	128	128	2	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 04	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 04	C. alb.	128	128	0,5	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 04	C. alb.	128	128	0,5	1	0,03125	0,125	0,015625	16
MF 04	C. alb.	128	128	2	4	0,0125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 04	C. alb.	128	128	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	64	128	64	128	8	16	8	16
MF 05	C. alb.	8	32	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,007813	0,0625
MF 05	C. alb.	128	128	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 05	C. alb.	32	128	1	1	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 05	C. alb.	128	128	0,5	1	0,03125	0,125	0,015625	0,03125
MF 05	C. alb.	32	128	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,007813	0,015625
MF 06	C. alb.	16	16	64	64	8	8	8	8
MF 06	C. alb.	8	8	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 06	C. alb.	16	16	0,5	2	0,015625	0,25	0,007813	16
MF 06	C. alb.	8	16	0,5	0,5	0,015625	0,03125	0,007813	0,03125
MF 06	C. alb.	8	64	0,5	0,5	0,015625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 07	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 07	C. alb.	128	128	0,5	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 07	C. alb.	128	128	1	1	0,015625	0,03125	0,007813	0,015625
MF 07	C. alb.	128	128	1	1	0,03125	0,03125	0,007813	0,015625
MF 08	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 08	C. alb.	2	16	128	128	16	16	16	16
MF 08	C. alb.	8	8	2	2	0,03125	0,125	0,015625	0,03125
MF 08	C. alb.	8	32	1	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,0625
MF 08	C. alb.	8	128	4	128	0,03125	16	0,03125	16
MF 08	C. alb.	128	128	1	2	0,015625	0,015625	0,007813	0,015625
MF 09	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 09	C. alb.	128	128	0,5	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 09	C. alb.	128	128	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 09	C. alb.	128	128	0,5	2	0,015625	0,03125	0,007813	0,007813
MF 09	C. alb.	32	64	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 10	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 10	C. alb.	128	128	1	2	0,03125	0,0625	0,03125	0,25
MF 10	C. alb.	128	128	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
MF 10	C. alb.	128	128	1	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 10	C. alb.	64	64	1	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625

Forts.: Tab. 6.4 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in MH+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 11	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 11	C. alb.	128	128	1	1	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 11	C. alb.	128	128	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 11	C. alb.	128	128	1	128	0,03125	16	0,015625	16
MF 11	C. alb.	64	64	1	1	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 12	C. alb.	4	128	128	128	16	16	16	16
MF 12	C. alb.	0,0625	0,5	1	2	0,015625	0,5	0,007813	0,125
MF 12	C. alb.	128	128	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,007813	0,015625
MF 12	C. alb.	128	128	0,5	128	0,015625	16	0,007813	16
MF 12	C. alb.	64	64	0,5	0,5	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 13	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 13	C. alb.	32	32	1	1	0,125	0,125	0,03125	0,03125
MF 13	C. alb.	8	64	1	1	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 13	C. alb.	64	64	64	64	8	8	1	2
MF 14	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 14	C. alb.	32	32	1	1	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 14	C. alb.	128	128	0,5	1	0,015625	0,0625	0,007813	0,03125
MF 14	C. alb.	64	64	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 15	C. alb.	8	64	2	2	0,0625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	128	128	1	2	0,015625	0,0625	0,015625	0,03125
MF 15	C. alb.	64	64	1	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 16	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 16	C. alb.	2	64	2	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 16	C. alb.	8	32	1	1	0,03125	0,03125	0,007813	0,007813
MF 16	C. alb.	64	64	0,5	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 17	C. alb.	4	4	1	2	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 17	C. alb.	1	64	2	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 17	C. alb.	32	64	1	2	0,03125	0,25	0,03125	0,0625
MF 17	C. alb.	64	64	1	64	8	8	0,5	1
MF 17	C. alb.	16	128	128	128	16	16	16	16
MF 18	C. alb.	4	16	2	4	0,125	0,125	0,03125	0,03125
MF 18	C. alb.	4	8	1	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 18	C. alb.	4	8	2	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 19	C. alb.	16	128	1	128	8	16	8	16
MF 19	C. alb.	8	8	1	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,0625
MF 19	C. alb.	4	64	4	4	0,0625	0,125	0,03125	0,25
MF 19	C. alb.	8	64	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,03125
MF 19	C. alb.	64	64	1	2	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	8	128	128	128	16	16	16	16
MF 20	C. alb.	64	64	64	64	8	8	8	8
MF 20	C. alb.	4	64	2	2	0,0625	0,0625	0,03125	0,0625
MF 20	C. alb.	16	32	0,5	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,03125
MF 20	C. alb.	64	64	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625

Forts.: Tab. 6.4 MHK-Ergebnisse der Empfindlichkeitstesting in MH+M

STAMM-NR I	Genus/ Spezies	FCY 24h	FCY 48h	FLC 24h	FLC 48h	VOR 24h	VOR 48h	ITR 24h	ITR 48h
MF 21	C. alb.	128	128	128	128	16	16	16	16
MF 21	C. alb.	64	64	64	64	8	8	8	8
MF 21	C. alb.	64	64	0,5	0,5	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
MF 21	C. alb.	64	64	0,5	2	0,03125	0,125	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	4	4	2	2	0,03125	0,125	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	16	64	1	1	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625
MF 22	C. alb.	64	64	1	1	0,03125	0,03125	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	64	64	1	1	0,03125	0,03125	0,015625	0,015625
MF 23	C. alb.	64	64	0,25	1	0,03125	0,0625	0,007813	0,007813
MF 23	C. alb.	64	64	0,5	1	0,03125	0,0625	0,015625	0,015625
MF 24	C. alb.	32	64	2	8	0,125	0,125	0,5	0,5
MF 24	C. alb.	16	128	1	1	0,03125	0,03125	0,0625	0,0625
MF 24	C. alb.	32	64	0,25	0,5	0,03125	0,125	0,007813	0,007813
MF 24	C. alb.	32	64	1	2	0,03125	0,03125	0,03125	0,03125
MF 25	C. alb.	64	64	1	2	0,0625	0,125	0,03125	0,125
MF 25	C. alb.	64	128	1	1	0,125	0,125	0,0625	0,0625
MF 25	C. alb.	64	64	1	1	0,0625	0,0625	0,03125	0,03125
MF 25	C. alb.	64	64	1	1	0,0625	0,0625	0,015625	0,015625

Tab. 6.5 Empfindlichkeitspattern-Verteilung der *C. albicans*-MF-Stämme (N=192)

STAMM-NR I	N	SS			II	RR			SI			SR			IR
		FLC	VOR	ITR	ITR	FLC	VOR	ITR	FLC	VOR	ITR	FLC	VOR	ITR	ITR
MF 01	8	7	8	8	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MF 02	8	8	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
MF 03	8	4	4	4	0	3	4	4	0	0	0	1	0	0	0
MF 04	8	8	8	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
MF 05	8	8	8	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
MF 06	8	7	7	6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0
MF 07	8	6	6	6	0	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0
MF 08	8	7	6	6	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	0
MF 09	8	7	8	7	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
MF 10	8	6	6	5	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
MF 11	8	4	4	3	0	4	4	4	0	0	1	0	0	0	0
MF 12	8	4	4	4	0	3	3	3	0	0	0	1	1	1	0
MF 13	8	4	3	1	0	1	1	1	0	0	1	3	4	5	0
MF 14	7	4	3	2	0	1	1	1	0	0	1	2	3	3	0
MF 15	8	6	5	3	0	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0
MF 16	7	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
MF 17	8	6	6	6	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
MF 18	8	8	7	7	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
MF 19	8	8	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF 20	7	6	6	6	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
MF 21	6	5	5	4	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
MF 22	6	6	5	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
MF 23	7	6	5	5	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0
MF 24	8	7	7	7	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
MF 25	8	6	7	7	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0

Tab. 6.6 Trailing der *Candida albicans*-MF-Stämme nach 24h und 48h gegenüber Flucytosin (FCY), Voriconazol (VOR), Fluconazol (FLC) und Itraconazol (ITR) in den unterschiedlichen Medien

Stamm-Nr	RPMI							RPMI+M								
	n(N)	FCY	n(N)	VOR	n(N)	FLC	n(N)	ITR	n(N)	FCY	n(N)	VOR	n(N)	FLC	n(N)	ITR
MF 01	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 01	0(8)		3(8)	o	3(8)	o	4(8)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 02	0(8)		2(8)	x	2(8)	x	2(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 02	0(8)		4(8)	o	5(8)	o	3(8)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 03	0(8)		4(8)	x	4(8)	x	3(8)	x	0(5)		1(5)	x	1(5)	x	1(5)	x
MF 03	0(8)		2(8)	o	2(8)	o	3(8)	o	0(5)		2(5)	o	2(5)	o	2(5)	o
MF 04	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x
MF 04	0(8)		4(8)	o	5(8)	o	4(8)	o	0(5)		2(5)	o	1(5)	o	1(5)	o
MF 05	0(8)		2(8)	x	3(8)	x	2(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x
MF 05	0(8)		4(8)	o	4(8)	o	2(8)	o	0(5)		1(5)	o	0(5)		0(5)	
MF 06	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	2(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 06	0(8)		2(8)	o	3(8)	o	3(8)	o	0(5)		1(5)	o	1(5)	o	1(5)	o
MF 07	1(8)	x	5(8)	x	5(8)	x	4(8)	x	0(5)		1(5)	x	0(5)		1(5)	x
MF 07	0(8)		4(8)	o	4(8)	o	4(8)	o	0(5)		3(5)	o	2(5)	o	2(5)	o
MF 08	0(8)		2(8)	x	2(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 08	0(8)		4(8)	o	5(8)	o	5(8)	o	0(5)		1(5)	o	0(5)		2(5)	o
MF 09	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 09	0(8)		3(8)	o	3(8)	o	4(8)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 10	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	3(8)	x	0(5)		2(5)	x	3(5)	x	2(5)	x
MF 10	0(8)		4(8)	o	4(8)	o	4(8)	o	0(5)		1(5)	o	0(5)		1(5)	o
MF 11	0(8)		2(8)	x	2(8)	x	2(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 11	0(8)		2(8)	o	2(8)	o	2(8)	o	0(5)		2(5)	o	1(5)	o	2(5)	o
MF 12	0(8)		3(8)	x	4(8)	x	3(8)	x	0(5)		1(5)	x	0(5)		0(5)	
MF 12	0(8)		2(8)	o	2(8)	o	3(8)	o	0(5)		0(5)		1(5)	o	1(5)	o
MF 13	0(8)		4(8)	x	5(8)	x	5(8)	x	0(5)		0(5)		1(5)	x	0(5)	
MF 13	0(8)		3(8)	o	2(8)	o	2(8)	o	0(5)		2(5)	o	1(5)	o	1(5)	o
MF 14	0(7)		4(7)	x	5(7)	x	3(7)	x	0(5)		1(5)	x	1(5)	x	0(5)	
MF 14	0(7)		3(7)	o	2(7)	o	3(7)	o	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	o
MF 15	0(8)		4(8)	x	4(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		1(5)	x	0(5)	
MF 15	0(8)		2(8)	o	2(8)	o	3(8)	o	0(5)		1(5)	o	0(5)		1(5)	o
MF 16	0(8)		5(8)	x	6(7)	x	5(7)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 16	0(7)		3(7)	o	3(7)	o	3(7)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 17	0(8)		3(8)	x	3(8)	x	3(8)	x	0(5)		2(5)	x	3(5)	x	2(5)	x
MF 17	0(8)		5(8)	o	4(8)	o	3(8)	o	0(5)		1(5)	o	1(5)	o	2(5)	o
MF 18	0(8)		2(8)	x	2(8)	x	2(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 18	0(8)		6(8)	o	6(8)	o	6(8)	o	0(5)		1(5)	o	1(5)	o	1(5)	o
MF 19	0(8)		5(8)	x	5(8)	x	3(8)	x	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 19	0(8)		4(8)	o	4(8)	o	6(8)	o	0(5)		1(5)	o	0(5)		1(5)	o
MF 20	0(7)		2(7)	x	3(7)	x	2(7)	x	0(4)		1(4)	x	2(4)	x	2(4)	x
MF 20	0(7)		5(7)	o	4(7)	o	4(7)	o	0(4)		1(4)	o	1(4)	o	0(4)	
MF 21	0(6)		4(6)	x	2(6)	x	3(6)	x	0(3)		2(3)	x	2(3)	x	2(3)	x
MF 21	0(6)		3(6)	o	5(6)	o	3(6)	o	0(3)		0(3)		0(3)		0(3)	
MF 22	0(6)		4(6)	x	6(6)	x	4(6)	x	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 22	0(6)		3(6)	o	3(6)	o	3(6)	o	0(4)		1(4)	o	0(4)		1(4)	o
MF 23	0(7)		3(7)	x	4(7)	x	4(7)	x	0(4)		1(4)	x	0(4)		1(4)	x
MF 23	0(7)		3(7)	o	3(7)	o	2(7)	o	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 24	0(8)		6(8)	x	5(8)	x	6(8)	x	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 24	0(8)		3(8)	o	4(8)	o	3(8)	o	0(4)		0(4)		0(4)		1(4)	o
MF 25	0(8)		6(8)	x	5(8)	x	7(8)	x	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 25	0(8)		3(8)	o	4(8)	o	3(8)	o	0(4)		0(4)		0(4)		1(4)	o

Anzahl der Isolate mit Trailingphänomen (Gesamtanzahl der Isolate)

X= Trailing nach 24h; o= Trailing nach 48h

Fortsetzung Tab. 6.6 Trailing der *Candida albicans*-MF-Stämme nach 24h und 48h gegenüber Flucytosin (FCY), Voriconazol (VOR), Fluconazol (FLC) und Itraconazol (ITR) in den unterschiedlichen Medien

Stamm -Nr	YST							MH+M								
	n(N)	FCY	n(N)	VOR	n(N)	FLC	n(N)	ITR	n(N)	FCY	n(N)	VOR	n(N)	FLC	n(N)	ITR
MF 01	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 01	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 02	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 02	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 03	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 03	0(5)		1(5)	o	1(5)	o	1(5)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 04	0(6)		0(6)		0(6)		0(6)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 04	0(6)		2(6)	o	1(6)	o	2(6)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 05	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(6)	x	0(6)		0(6)		0(6)	
MF 05	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(6)		0(6)		0(6)		0(6)	
MF 06	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		3(5)	x	0(5)		0(5)		0(5)	
MF 06	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 07	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 07	1(5)	o	2(5)	o	3(5)	o	2(5)	o	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 08	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(6)	x	1(6)		1(6)		1(6)	
MF 08	1(5)	o	1(5)	o	1(5)	o	2(5)	o	1(6)		1(6)		1(6)		1(6)	
MF 09	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 09	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 10	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 10	0(5)		2(5)	o	1(5)	o	1(5)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 11	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 11	0(4)		2(4)	o	3(4)	o	3(4)	o	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 12	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x	0(5)		0(5)		0(5)	
MF 12	0(5)		2(5)	o	1(5)	o	2(5)	o	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	o
MF 13	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 13	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 14	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 14	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 15	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 15	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 16	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		1(4)	x	0(4)		0(4)		0(4)	
MF 16	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 17	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x	0(5)		0(5)		0(5)	
MF 17	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 18	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(3)		0(3)		0(3)		0(3)	
MF 18	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(3)		0(3)		0(3)		0(3)	
MF 19	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x	0(5)		0(5)		0(5)	
MF 19	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 20	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		0(5)	
MF 20	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	o	0(5)		0(5)		0(5)	
MF 21	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		1(4)	x
MF 21	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		1(4)	o	1(4)	o	0(4)	
MF 22	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		1(3)	x	0(3)		0(3)		0(3)	
MF 22	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(3)		0(3)		0(3)		0(3)	
MF 23	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(3)		1(3)	x	0(3)		1(3)	x
MF 23	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)		0(3)		1(3)	o	0(3)		0(3)	
MF 24	0(5)		0(5)		0(5)		0(5)		2(4)	x	1(4)	x	1(4)	x	3(4)	x
MF 24	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	o	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	
MF 25	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	x	0(4)		1(4)	x	1(4)	x	2(4)	x
MF 25	0(5)		0(5)		0(5)		1(5)	o	0(4)		0(4)		0(4)		0(4)	

Anzahl der Isolate mit Trailingphänomen (Gesamtanzahl der Isolate)

X= Trailing nach 24h; o= Trailing nach 48h

Tab.: 6.7 Trailing-MHK der *C. albicans*-MF-Stämme gegenüber den Azolantimykotika Fluconazol (FLC), Voriconazol (VOR) und Itraconazol (ITR) nach 48h Inkubationszeit (N=Anzahl der Testungen)

STAMM-NR I	FLC 48h											VOR 48h						ITR 48h											N			
	0,0625	0,25	0,5	1	2	8	16	32	64	128	0,008	0,016	0,031	0,0625	0,125	0,25	2	8	16	0,008	0,016	0,031	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2		4	8	16
MF 01		3	1						1	3		2	2			1			3	1	1	1	1								4	8
MF 02		1	2							5		1	1	1				1	4		1	2								1	4	8
MF 03			2						1	5				1	1			1	5			1								1	6	8
MF 04			3				1			4		1	1	1		1			4		1	2					1				4	8
MF 05		1	3			1			1	2		1		2	1			1	3		2	2		1					1	2	8	
MF 06		1	2	1					1	3		2	1	1	1				3			2	1								5	8
MF 07		1			1			1	2	3	1			1					6	1	1										6	8
MF 08	1		1							6	1		1				1		5	1								1			6	8
MF 09	1	3					1			3	1		2	1	1				3	2	1	1									4	8
MF 10	1				1					6	1				1				6	1						1					6	8
MF 11		1				1				6			2						6		1	1									6	8
MF 12			1	1					1	5				2					1	5			1							1	6	8
MF 13			2						3	3									4	4								1		4	3	8
MF 14			1		1				1	4									2	5			1						2	1	3	7
MF 15			3		1					4			2		1		1		4			1			2					1	4	8
MF 16		1	2							4		1	1	1					4		2	1						1			3	7
MF 17		2							1	5		1	1						6		1	1	1		1						4	8
MF 18		1				1				6			1						7			1									7	8
MF 19		2	2							4	1	2	1						4	1	1										6	8
MF 20			2							5				1					6			2									5	7
MF 21										6			1	1					4				1							1	4	6
MF 22		1	2							3		1	1						4		2	1									3	6
MF 23			2	1						4				2				1	4			3						1			3	7
MF 24		1	1		1					5		2	2						4		4										4	8
MF 25		1	1						1	5		2	1		1				4		2	1		1							4	8

7 Abkürzungen und Erklärungen

MHK	= minimale Hemmkonzentration = MIC = <u>M</u> inimum <u>I</u> nhibitory <u>C</u> oncentration: niedrigste Konzentration eines Antimykotikums, das die Vermehrung eines Hefestammes unter bestimmten Bedingungen vermindert
Trailing	kontinuierliche Abnahme der Trübung bzw. der Zelldichte bei gleichzeitiger Zunahme der Antimykotika-Konzentration („trailing endpoint“ = „partial growth over an extended range of concentration“)
RPMI	= <u>R</u> oswell- <u>P</u> ark- <u>M</u> emorial- <u>I</u> nstitut- <u>M</u> edium entwickelt für Knochenmarks- und Hybridomzellen sowie zur Kultivierung von normalen und neoplastischen Leukozyten
MOPS-Puffer	= 3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure
McFarland	standardisierte Skala als Referenz zur Einteilung von Trübungen bei Bakteriensuspensionen: der originale McFarland Standard wird durch Mischen von 1.0% Bariumchlorid und 1% Schwefelsäure erstellt. Dabei fallen Bariumsulfat-Prezipitate aus, die eine Trübung der Lösung verursachen. McFarland Standard 0.5 = 0,05ml ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) + 9,95ml (H_2SO_4) = ca. $1,5 \cdot 10^8$ ml Zelldichte; „Vaccination and Antivaccination“ Joseph McFarland, The Monthly Cyclopaedia of Practical Medicine, Phil., Vol. XX, new series, Vol. IX, No. 10, p 438 1900
KBE	= Koloniebildende Einheit = CFU = colony forming unit

8 Literaturverzeichnis

1. ALMIRANTE, B.; RODRÍGUEZ, D.; PARK, B. J.; CUENCA-ESTRELLA, M.; PLANES, A. M.; ALMELA, M.; MENSA, J.; SANCHEZ, F.; AYATS, J.; GIMENEZ, M.; SABALLS, P.; FRIDKIN, S. K.; MORGAN, J.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; WARNOCK, D. W.; PAHISSA, A. (2005)
Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003.
Journal of Clinical Microbiology 43: 1829–1835.
2. AMSTERDAM, D. (2005)
Susceptibility Testing of Antimicrobials in Liquid Media. In: V. Lorian (ed.),
Antibiotics in laboratory medicine, 5th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md; p.
61 - 143.
3. ARENDRUP, M. C.; FUURSTED, K.; GAHRN-HANSEN, B; MØLLER
JENSEN, I.; KNUDSEN, J. D.; LUNDGREN, B.; SCHØNHEYDER,
HENRIK C.; TVEDE, M. (2005)
Seminal Surveillance of Fungemia in Denmark: Notably High
Rates of Fungemia and Numbers of Isolates with Reduced Azole Susceptibility
Journal of Clinical Microbiology 43: 4434–4440
4. ARTHINGTON-SKAGGS, BETH A.; WARNOCK, DAVID W.;
MORRISON, CHRISTINE J. (2000)
Quantitation of *Candida albicans* Ergosterol Content Improves the Correlation
between In Vitro Antifungal Susceptibility Test Results and In Vivo Outcome
after Fluconazole
Treatment in a Murine Model of Invasive Candidiasis
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 44: 2081–2085

5. ARTHINGTON-SKAGGS, B. A.; LEE-YANG, W.; CIBLAK, M. A.; FRADE, J. P.; BRANDT, M. E.; HAJJEH, R. A.; HARRISON, L. H.; SOFAIR, A. N.; WARNOCK, D. W. (2002)
Comparison of Visual and Spectrophotometric Methods of Broth Microdilution MIC End Point Determination and Evaluation of a Sterol Quantitation Method for In Vitro Susceptibility Testing of Fluconazole and Itraconazole against Trailing and Nontrailing *Candida* Isolates
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 2477–2481
6. BACHMANN, ST. P. ; RAMAGE, G.; VANDEWALLE, K.; PATTERSON, T. F.; WICKES, B. L.; LO´PEZ-RIBOT, J. L. (2003)
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 47: 3657–3659
7. BARCHIESI, F.; MARACCI, M.; RAD, B.; ARZENI, D.; BALDASSARRI, J.; GIACOMETTI, A.; SCALISE, G. (2002)
Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the oral cavities of HIVinfected patients in the era of highly active antiretroviral therapy.
Journal of Antimicrobial Chemotherapy 50:999–1002.
8. BARCHIESI, F.; SPREGHINI, E.; MARACI, M.; FOTHERGILL, A. W.; BALDASSARRI, I.; RINALDI, M. G.; SCALISE, G. (2004)
In Vitro Activity of Voriconazol in Combination with Three Other Antifungal Agents against *Candida glabrata*
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 48: 3317-3322
9. BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. (1983)
Yeasts: characteristics and identification
Cambridge University Press, Cambridge
10. BERENBAUM, M. C. (1978)
A method for testing for synergy with any number of agents.
J. Infect. Dis. 137:122–130.

11. BUSTAMANTE, C. I. (2005)
Treatment of *Candida* infection: a view from the trenches!
Curr. Opin. Infect. Dis. 18:490–495

12. CUENCA-ESTRELLA, M. (2004)
Combinations of antifungal agents in therapy-what value are they?
Journal of Antimicrobial Chemotherapy 54: 854-869 (Review)

13. DENNING, D. W. (2003)
Echinocandin antifungal drugs
Lancet 362: 1142-51

14. DIN 58940-81 (2002)
Medizinische Mikrobiologie – Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Teil 84: Mikrodilution – Spezielle Anforderungen an die Testung von Pilzen gegen Antimykotika
Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN Deutschen Institut für Normung e.V., Berlin

15. EDMOND, M. B.; WALLACE, S. E.; MCCLISH, D. K.; PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; WENZEL, R. P. (1999)
Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis.
Clin. Infect. Dis. 29: 239–244

16. ELIOPOULOS, G. M.; MOELLERING, R. C., JR. (1991)
Antimicrobial combinations. In: V. Lorian (ed.), Antibiotics in laboratory medicine, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md; p. 432–492.

17. ESPINEL-INGROFF, A.; BARCHIESI, F.; CUENCA-ESTRELLA, M.; PFALLER, M. A.; RINALDI, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; VERWEIJ, P. E. (2005)
International and Multicenter Comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 Broth Microdilution Methods for Testing Susceptibilities of *Candida* spp. to Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole and Voriconazole
Journal of Clinical Microbiology 43: 3884–3889

18. ESPINEL-INGROFF, A.; BARCHIESI, F.; CUENCA-ESTRELLA, M.; FOTHERGILL, A.; PFALLER, M. A.; RINALDI, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; VERWEIJ, P. E. (2005)
Comparison of Visual 24-Hour and Spectrophotometric 48-Hour MICs to CLSI Reference Microdilution MICs of Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole for *Candida* spp.: a Collaborative Study
Journal of Clinical Microbiology 43: 4535-4540

19. EUROPEAN COMMITTEE OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY (2002)
Method of determination of minimal inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts.
Discussion document E. Dis. 7.1 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Taufkirchen Deutschland

20. FEGELER, W.; BECKER, K.; SCHMALRECK, A. F. (2003)
Influence of Culture Media on the Susceptibility of *Candida* Species to Flucytosine (5FC), Amphotericin (AmB), Fluconazole (FLC), Voriconazole (VOR) and Itraconazole (ITR)
15th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, P193

21. GHANNOUM, M. A.; RICE, V. L. (1999)
Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance.
Clin. Microbiol. Rev. 12:501–517.

22. GOTTFREDSSON, M.; COX, G. M.; INDRIDASON, O. S.; DE ALMEIDA, G. M. D.; HEALD, A. E.; PERFECT, J. R. (1999)
Association of plasma levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA and oropharyngeal *Candida* colonization.
J. Infect. Dis. 180: 534–537
23. GIRMENIA, C.; TUCCINARDI, C.; SANTILLI, ST.; MONDELLO, F.; MONACO, M.; CASSONE, A.; MARTINO, P. (2000)
In vitro activity of fluconazole and voriconazole against isolates of *Candida albicans* from patients haematological malignancies.
Journal of Antimicrobial Chemotherapy 46: 479-483
24. HEYN, K.; TREDUP, A.; SALVENMOSER, S.; MULLER, F.M. (2005)
Effekt of voriconazol combined with micafungin against *Candida*, *Aspergillus* and *Scedosporium* spp. And *Fusarium solani*
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 49: 5157-9
25. HOF, H. (2003)
Systemische Mykosen. In: Hof H. Mykologie für Mediziner, Georg Thieme Verlag Stuttgart; S. 43-100
26. KAYSER, F.H.; BÖTTGER, E. C. (2005)
Allgemeine Mykologie. In: F. H. Kayser, E. C. Böttger, R. M. Zinkernagel, O. Haller, J. Eckert, P. Deplazes; Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie, 11. Auflage ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart; 360-369
27. LODDER, J. (1971)
The Yeasts- taxonomic study.
North-Holland Publishing Company, Amsterdam, London

28. MANJUNATH, P. PAI; TURPIN, R. S.; GAREY, K. W. (2007)
Association of Fluconazole Area under the Concentration-Time
Curve/MIC and Dose/MIC Ratios with Mortality in Nonneutropenic Patients with
Candidemia
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51: 35–39
29. MARTIN, G. S.; MANNINO, D. M.; EATON, S.; MOSS, M. (2003)
The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000.
N. Engl. J. Med. 348:1546–1554
30. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS
(2002)
Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.
Approved standard M27-A2, 2nd ed. National Committee for Clinical Laboratory
Standards, Wayne, PA, USA
31. NGUYEN, M. H., BARCHIESI, F., YU, V. L. ; RINALDI, M. G. (1995)
In vitro evaluation of combination of fluconazole and flucytosine against
Cryptococcus neoformans var. neoformans.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 39:1691–1695
32. OSTROSKY-ZEICHNER, L.; REX, J.H.; PAPPAS, P. G.; HAMILL, R. J.;
LARSEN, R. A.; HOROWITZ, H. W.; POWDERLY, W. G.; HYSLOP, N.;
KAUFFMAN, C. A.; CLEARY, J.; MANGINO, J. E.; LEE, J. (2003)
Antifungal Susceptibility Survey of 2,000 Bloodstream *Candida* Isolates in the
United States
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 47, 3149-3154

33. PFALLER, M. A.; BOYKEN, L.; HOLLIS, R. J.; MESSER, S. A.;
TENDOLKAR, S.; DIEKEMA, D. J. (2005)
In Vitro Activities of Anidulafungin against More than 2,500 Clinical
Isolates of *Candida* spp., Including 315 Isolates Resistant to Fluconazole
Journal of Clinical Microbiology 43: 5425–5427
34. PILLAI, S.K., MOELLERING, Jr., R.C., ELIOPOULOS, G.M. (2005)
Antimicrobial Combinations. In: V. Lorian (ed.), Antibiotics in laboratory
medicine, 5th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md; p. 365 - 440.
35. POIKONEN, E.; LYYTIKAINEN, O.; ANTTILA, V. J.; RUUTU, P. (2003)
Candidemia in Finland, 1995–1999.
Emerg. Infect. Dis. 9:985–990
36. REBOLI, A.C.; ROTSTEIN, C.; PAPPAS, P. G.; CHAPMAN, S. W.; KETT,
D. H.; KUMAR, D.; BETTS, R.; WIBLE, M.; GOLDSTEIN, B. P.;
SCHRANZ, J.; KRAUSE, D. S.; WALSH, T. J. (2007)
Anidulafungin versus Fluconazole for invasive candidiasis
N. Engl. J. Med. 356 (24): 2472-82
37. REES, J. R.; PINNER, R. W.; HAJJEH, R. A.; BRANDT, M. E.;
REINGOLD, A. L. (1998)
The epidemiological features of invasive mycotic infections in San Francisco
Bay area, 1992-1993: results of population-based laboratory active surveillance.
Cli. Infect. Dis. 27: 1138-1147
38. REX, J. H.; NELSON, P. W.; PAETZNICK, V. L.; LOZANO-CHIU, M.;
ESPINEL-INGROFF, A.; ANAISSIE, J. (1998)
Optimizing the correlation between results of testing in vitro and therapeutic
outcome in vivo for fluconazole by testing critical isolates in a murine model of
invasive candidiasis.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 42: 129–134

39. REX, J. H.; PFALLER, M. A.; RINALDI, M. G.; POLAK, A.; GALGANI, J. N. (1993)
Antifungal susceptibility testing.
Clinical Microbiology Reviews 6: 367-81
40. SA´NCHEZ-VARGAS, L. O.; ORTIZ-LO´PEZ, N. G.; VILLAR, M.; MORAGUES, M. D.; AGUIRRE, J. M.; CASHAT-CRUZ, M.; LOPEZ-RIBOT, J. L.; GAITA´N-CEPEDA, L. A.; GUILLERMO QUINDO´S, G. (2005)
Oral *Candida* Isolates Colonizing or Infecting Human Immunodeficiency Virus-Infected and Healthy Persons in Mexico
Journal of Clinical Microbiology 43: 4159–4162
41. SANDVEN, P. (2000)
Epidemiology of candidemia.
Rev. Iberoam. Micol. 17: 73–81.
42. SANDVEN, P.; BEVANGER, L.; DIGRANES, A.; GAUSTAD, P.; HAUKLAND, H. H.; STEINBAKK, M. (1998)
Constant low rate of fungemia in Norway, 1991 to 1996.
Journal of Clinical Microbiology 36:3455–3459
43. SANGUINETI, A.; CARMICHAEL, J. K.; CAMPBELL, K. (1993)
Fluconazol-resistant *Candida albicans* after long-term suppressive therapy
Arch. Intern. Med. 153: 1122-1124
44. SCHMALRECK, A. F.; PFRUENDER, D.; FEGELER, W. (2003)
In vitro Suseptibility of Voriconazole and Fluconazole: "Trailing"
Phenomenonand effects of Incubation time and culture medium
13th European Congress of Clinical Microbiology and Infetcious Diseases, P1497

45. SEIFERT, H.; AURBACH, U.; STEFANIK, D.; CORNELLY, O. (2007)
In Vitro Activities of Isavuconazole and Other Antifungal
Agents against *Candida* Bloodstream Isolates
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51: 1818–1821
46. SUCHER, A. J.; CHAHINE, E. B.; BALCER, H. E. (2009)
Echinocandins: the newest class of antifungals
The Annals of Pharmacotherapy 43 (10): 1647-57
47. TAKAKURA, S.; FUJIHARA, N.; SAITO, T.; KUDO, T.; IINUMA, Y.;
ICHIYAMA, S. (2004)
National surveillance of species distribution in blood isolates of
Candida species in Japan and their susceptibility to six antifungal
agents including voriconazole and micafungin
Journal of Antimicrobial Chemotherapy 53: 283–289
48. TE DORSTHORST, D. T. A.; VERWEIJ, P.E.; MELETIADIS, J.;
BERGERVOET, M.; PUNT, N. C.; MEIS, J. F. G. M.; MOUTON, J. W.
(2002)
In Vitro Interaction of Flucytosin Combined with Amphotericin B or Fluconazol
against Thirty-Five Yeast Isolates Determined by both the Fractional Inhibitory
Concentration Index and the Response Surface Approach
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 2982-2989
49. TORTORANO, A. M.; PEMAN, J.; BERNHARDT, H.; KLINGSPOR, L.;
KIBBLER, C. C.; FAURE, O.; BIRAGHI, E.; CANTON, E.;
ZIMMERMANN, K.; SEATON, S.; GRILLOT, R. (2004)
Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European
Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23:317–322

50. TURNIDGE, J.D.; BELL, J.M. (2005)
Antimicrobial Susceptibility on Solid Media. In: V. Lorian (ed.), Antibiotics in laboratory medicine, 5th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md; p. 8 - 60.
51. VARGAS, K. G.; JOLY, S. (2002)
Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of oral yeast species vary in the progression to oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive individuals.
Journal of Clinical Microbiology 40: 341–350
52. WALSH, T. J.; PETER, J.; MCGOUGH, D. A.; FOTHERGILL, A. W.; RINALDI, M. G.; PIZZO, P. A.; (1995)
Activities of amphotericin B and antifungal azoles alone and in combination against *Pseudallescheria boydii*.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 39:1361–1364.
53. WALSH, T. J.; FINBERG, R. W.; ARNDT, C.; ET AL (1999)
Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia.
N. Engl. Med 340: 764-771
54. WEIG, MICHAEL; MÜLLER, FRANK-MICHAEL C. (2001)
Synergism of Voriconazol and Terbinafine against *Candida albicans* Isolates from Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 45: 966-968
55. WHITE, R. L.; BURGESS, D. S.; MANDURU, M.; BOSSO, J. A. (1996)
Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard and E test.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 40:1914–1918.

56. WISPLINGHOFF, H.; BISCHOFF, T.; TALLENT, S. M.; SEIFERT, H.; WENZEL, R. P.; EDMOND, M. B. (2004)
Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin. Infect. Dis. 39:309–317.
57. VANDEN BOSSCHE, H.; DORMER, F.; IMPROVISI, I.; LOZANO-CHIU, M.; REX, J. H.; SANGLARD, D. (1998)
Antifungal drug resistance in pathogenic fungi. Med. Mycol. 36 (Suppl. 1): 119-121

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.3 Erstellen des Inoculums – Abbildung der Primärkultur

- KAYSER, F.H.; BÖTTGER, E. C. (2005)
Pilze als Krankheitserreger. In: F. H. Kayser, E. C. Böttger, R. M. Zinkernagel, O. Haller, J. Eckert, P. Deplazes; Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie, 11. Auflage ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart; p. 377

9 Danksagung

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. med. G. Peters für die Möglichkeit, im Institut für Medizinische Mikrobiologie der Westfälischen Wilhelms-Universität arbeiten und diese Dissertation schreiben zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. W. Fegeler für das Überlassen des Themas und die umfassende und freundliche Betreuung während dieser Arbeit.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. M. Ruhnke für das Überlassen der 25 *Candida albicans*-MF-Stämme.

Ebenso danke ich den medizinisch-technischen Assistentinnen der mykologischen Abteilung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Westfälischen Wilhelms-Universität, Frau Elke Kruse und Frau Doris Dogru, für die gute Einarbeitung und Unterstützung in der experimentellen Phase meiner Arbeit, sowie den Mitarbeitern der Nährbodenküche für die Bereitstellung der Kulturmedien.

