



Diagnostik invasiver Candida-Infektionen

Autor:
Dr. med. Jürgen Held (Dipl. Biochem.)
Oberarzt
Universitätsklinikum Erlangen

Hintergrund

Pilze der Gattung *Candida* gehören zu den Sprosspilzen und kommen bei einem Teil der gesunden Bevölkerung als Kommensalen im Oropharynx sowie dem Gastrointestinal- und dem Urogenitaltrakt vor. *Candida*-Spezies (*Candida* spp.) sind typische Opportunisten, d.h. sie können unter bestimmten Umständen Krankheitsbilder hervorrufen, die von oberflächlichen Haut- und Schleimhautinfektionen bis hin zu lebensbedrohlichen disseminierten Infektionen reichen.

Innerhalb der letzten 10 Jahre hat die Prävalenz invasiver *Candida*-Infektionen deutlich zugenommen, da immer mehr Patienten intensivmedizinisch betreut und/oder immer mehr Menschen mit beeinträchtigtem Immunstatus behandelt werden. In einer großen Punktprävalenzstudie (EPIC II, International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units) auf 676 westeuropäischen Intensivstationen konnte gezeigt werden, dass 18,5% aller Infektionen auf *Candida* spp. zurückzuführen waren. *Candida* spp. waren damit der dritthäufigste Infektionserreger auf Intensivstationen.¹

Invasive *Candida*-Infektionen gehen bei prädisponierten Patienten mit hoher Morbidität und Mortalität einher und sind verantwortlich für längere Klinikaufenthalte und höhere Kosten im Gesundheitswesen.^{2,3} Aktuelle Studien beschreiben Mortalitätsraten von 25–40% bei Candidämie, und konservativen Schätzungen zufolge sterben jährlich über 50 000 Menschen an *Candida*-Infektionen.^{4,5}

Um das Überleben bei schweren *Candida*-Infektionen verbessern zu können, muss eine antimykotische Therapie zum frühestmöglichen Zeitpunkt begonnen werden. Da sich Infektionen durch Sprosspilze und Bakterien klinisch nicht voneinander unterscheiden lassen, ist eine effiziente Diagnostik eine unbedingte Voraussetzung für eine frühzeitige antimykotische Therapie.

Im Folgenden sollen die Grundlagen invasiver Candidosen und die diagnostischen Methoden mit ihren Stärken und Schwächen erläutert werden.

Erreger, Epidemiologie und Krankheitsbilder

Candida spp. gehören bei einem Teil der Bevölkerung zur Normalflora des Oropharynx sowie des Gastrointestinal- und des Urogenitaltrakts. Man geht davon aus, dass 2–37% der gesunden Bevölkerung und bis zu 80% der Klinikpatienten eine Kolonisation mit *Candida* spp. aufweisen. Von den über 350 *Candida* spp. verursachen nur ca. 15 Spezies Infektionen beim Menschen. *C. albicans* ist die häufigste pathogene Spezies (ca. 60%), gefolgt von *C. glabrata* (20%), *C. parapsilosis* (8%), *C. tropicalis* (8%) und *C. krusei*.⁶ Damit sind diese fünf Spezies für mehr als 95% der Infektionen verantwortlich (Abb. 1).^{6a}

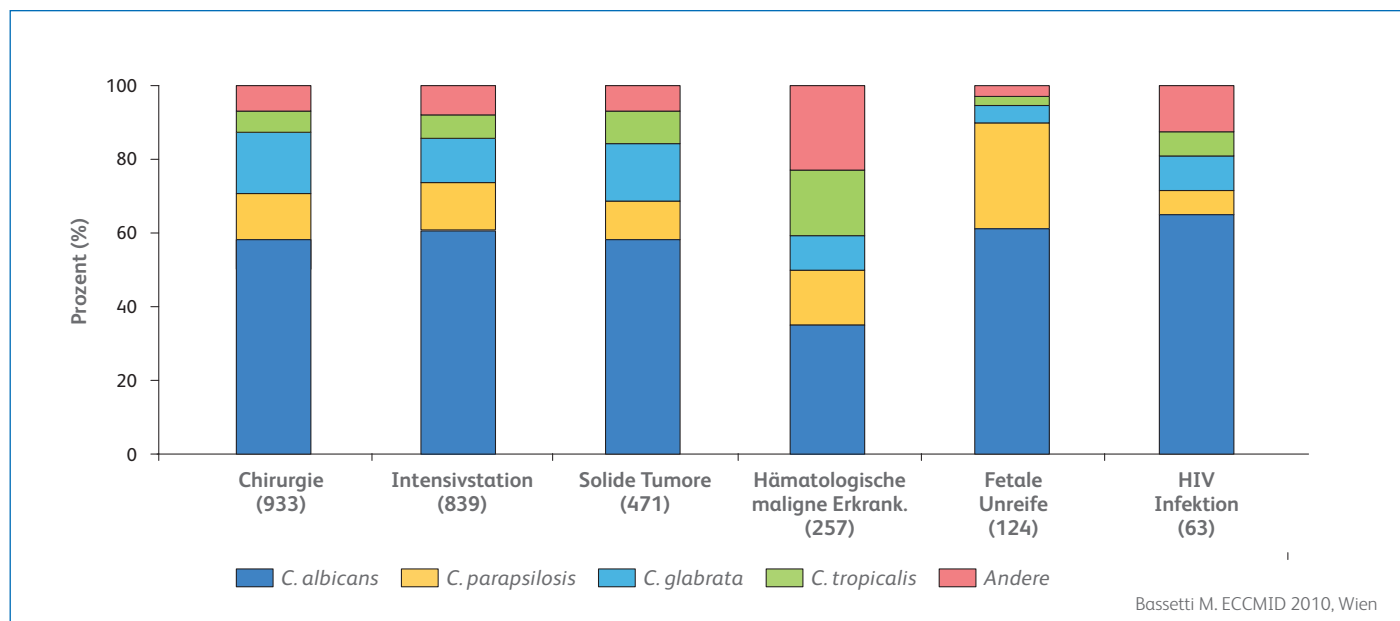


Abbildung 1: Verteilung von *Candida*-Spezies* in Abhängigkeit zu Grunderkrankungen/medizinischer Versorgung.^{6a}

Die Virulenz der verschiedenen Candida-Spezies ist sehr unterschiedlich. *C. parapsilosis* und *C. krusei* sind deutlich weniger virulent als *C. albicans*, *C. glabrata* und *C. tropicalis*. Aus diesem Grund weisen Candidämien mit *C. parapsilosis* meist niedrigere Mortalitätsraten auf und Infektionen mit *C. krusei* kommen fast ausschließlich bei schwer immunsupprimierten Patienten vor.⁵

Während *C. albicans* und *C. tropicalis* gegenüber allen gängigen Antimykotika empfindlich sind, weist *C. glabrata* eine verminderte Sensibilität und *C. krusei* eine Resistenz gegenüber Fluconazol auf. *C. parapsilosis* hingegen besitzt eine erhöhte minimale Hemmkonzentration (MHK) bei den Echinocandinen (z.B. Caspofungin und Anidulafungin). Aus diesem Grund ist für die optimale Auswahl des Antimykotikums die Differenzierung der Candida-Spezies obligat.

Die relative Häufigkeit der verschiedenen Spezies ist u.a. abhängig vom Patientenkollektiv. Insbesondere bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien ist häufiger mit Non-albicans-Spezies zu rechnen als bei Patienten mit soliden Tumoren oder auf chirurgischen Intensivstationen.^{6,7} Auch eine vorangegangene Behandlung mit Fluconazol, die Therapie mit Breitspektrumantibiotika, eine schwere Grunderkrankung sowie ein hohes Lebensalter konnten als Faktoren identifiziert werden, die die Selektion von Non-albicans-Spezies, vor allem *C. glabrata*, begünstigen.^{6,8} *C. parapsilosis* hingegen wird häufiger bei neonatologischen Patienten und bei Fremdkörper-assoziierten Candidämien (z.B. Infektionen zentralvenöser Katheter) nachgewiesen.

Candida spp. kolonisieren den Oropharynx sowie den Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt von 2–37 % der gesunden Bevölkerung und von bis zu 80 % der Klinikpatienten. Bei Intensivpatienten ist *C. albicans* mit einem Anteil von über 50 % die häufigste Spezies. Danach folgen *C. glabrata* mit 15–20 %, *C. tropicalis* und *C. parapsilosis* mit jeweils 10 % und *C. krusei* mit etwa 5 %. Diese fünf Candida-Spezies verursachen zusammen etwa 95 % aller Candida-Infektionen.⁹

Candida spp. sind opportunistische Krankheitserreger. Kommt es zu einer Störung der Normalflora (z.B. durch Antibiose), einer Beeinträchtigung der Haut- bzw. Schleimhautintegrität (z.B. durch intravenöse Katheter, Operation, Mukositis) oder einer verminderten T-Zell-Immunität (z.B. bei HIV-Infektion oder medikamentöser Immunsuppression), so sind *Candida* spp. in der Lage, eine Vielzahl von Krankheitsbildern hervorzurufen. Zu diesen gehören:

1. lokale Haut- und Schleimhautinfektionen
 - oropharyngeale Candidose (Soor)
 - Candida-Ösophagitis
 - Candida-Vulvovaginitis oder -Balinitis
2. fokal-invasive Infektionen
 - Peritonitis
 - Pankreasabszess
 - Chorioretinitis/Endophthalmitis
 - Meningitis
 - Endokarditis
 - osteoartikuläre Infektionen
 - Zystitis und Nephritis
 - Mediastinitis
 - Empyem
3. systemisch-invasive Infektionen
 - Candidämie
 - hepatolienale (sog. chronisch-disseminierte) Candidose

Die fokal-invasiven Infektionen entstehen meist hämatogen, d.h. es ging der Organmanifestation eine Candidämie voraus. Beispielsweise entwickeln bis zu 20 % der Patienten mit Candidämie eine Candida-Infektion des Auges (Chorioretinitis oder Endophthalmitis), daher gehört eine Fundoskopie zum festen Bestandteil der diagnostischen Abklärung solcher Patienten.^{10,11} Alternativ können die Krankheitserreger auf direktem Wege in die Organe eingebracht werden (z.B. im Rahmen operativer Eingriffe, über Katheter oder nach Trauma).^{6,12}

Die Candidämie nimmt daher eine zentrale Rolle in der Pathogenese der invasiven Candida-Infektionen ein. Candidämien treten bevorzugt bei Patienten mit schwerer Immunsuppression und bei Patienten mit längerem Intensivaufenthalt (≥ 7 Tage) auf. Bei Patienten auf Intensivstationen sind Candidämien beispielsweise 5- bis 10-mal häufiger als auf internistischen und chirurgischen Normalstationen.¹³

Wichtige Risikofaktoren für die Entstehung von Candidämien sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Risikofaktoren für die Entstehung von Candidämien.

Patienten mit Immunsuppression	Hämato-onkologische Erkrankungen
	Organtransplantation
	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
	Chemotherapie
	Neutropenie
	Glukokortikoidtherapie
	Gastrointestinale Mukositis (z. B. bei GvHD)
	Breitspektrumantibiose
Zentralvenöse Katheter	
Patienten mit Intensivaufenthalt	Vorhergegangene Operation, v. a. abdominalchirurgisch
	Perforation des Gastrointestinaltrakts
	Zentralvenöse oder arterielle Katheter
	Total parenterale Ernährung
	Breitspektrumantibiose
	Hoher APACHE-Score
	Akutes Nierenversagen, v. a. mit Hämodialyse
	Frühgeborene mit Geburtsgewicht ≤ 1000 g
Kolonisierung mit Candida-Spezies ≥ 2 Körperregionen	

Das klinische Bild einer Candidämie kann von Fieber mit einem minimal reduzierten Allgemeinzustand bis zum Vollbild des septischen Schocks mit Multiorganversagen reichen. Um das Überleben bei schweren Pilzinfektionen zu verbessern, muss eine antimykotische Therapie zum frühestmöglichen Zeitpunkt begonnen werden.¹⁴ Morell et al. konnten zeigen, dass die Mortalität der Candidämie bei 10 % liegt, wenn eine adäquate Therapie innerhalb der ersten 10 Stunden nach Symptombeginn gestartet wird. Vergehen bis zum Therapiebeginn jedoch mehr als 48 Stunden, so beträgt die Mortalität 35 %.¹⁵

Eine rein klinische Unterscheidung zwischen einer bakteriellen Blutstrominfektion und einer Candidämie ist nicht möglich. Aus diesem Grund stellt die rasche Diagnosestellung eine große Herausforderung dar. Verschiedene diagnostische Verfahren sind vorhanden, um den klinisch tätigen Arzt bei der Diagnosestellung zu unterstützen.

Die fokal-invasiven Infektionen entstehen meist hämatogen, d. h. es geht der Organmanifestation eine Candidämie voraus. Alternativ können die Krankheitserreger auf direktem Wege in die Organe eingebracht werden (z. B. im Rahmen operativer Eingriffe, über Katheter oder nach Trauma).

Nach wie vor ist es schwierig, eine Candida-Infektion vorherzusehen, und eine frühe Diagnosestellung bleibt eine große Herausforderung. Andererseits ist ein verzögerter Beginn einer adäquaten Therapie mit einer erhöhten Letalität assoziiert.¹⁴

Aktuelle Daten belegen Letalitätsraten bei invasiven Candida-Infektionen von 25–60 %.^{16–18}

Diagnostik der invasiven Candida-Infektion

Es existieren verschiedene diagnostische Methoden, um eine invasive Candida-Infektion nachzuweisen. Diese umfassen einfache Score-Systeme zur Risikostratifizierung, die direkte Mikroskopie, Methoden zum Nachweis von Pilzantigenen, -antikörpern und -DNA sowie die klassische kulturelle Anzucht. Die verschiedenen Methoden unterscheiden sich in Sensitivität und Spezifität sowie der Schnelligkeit, mit der die Ergebnisse verfügbar sind (Abb. 2).

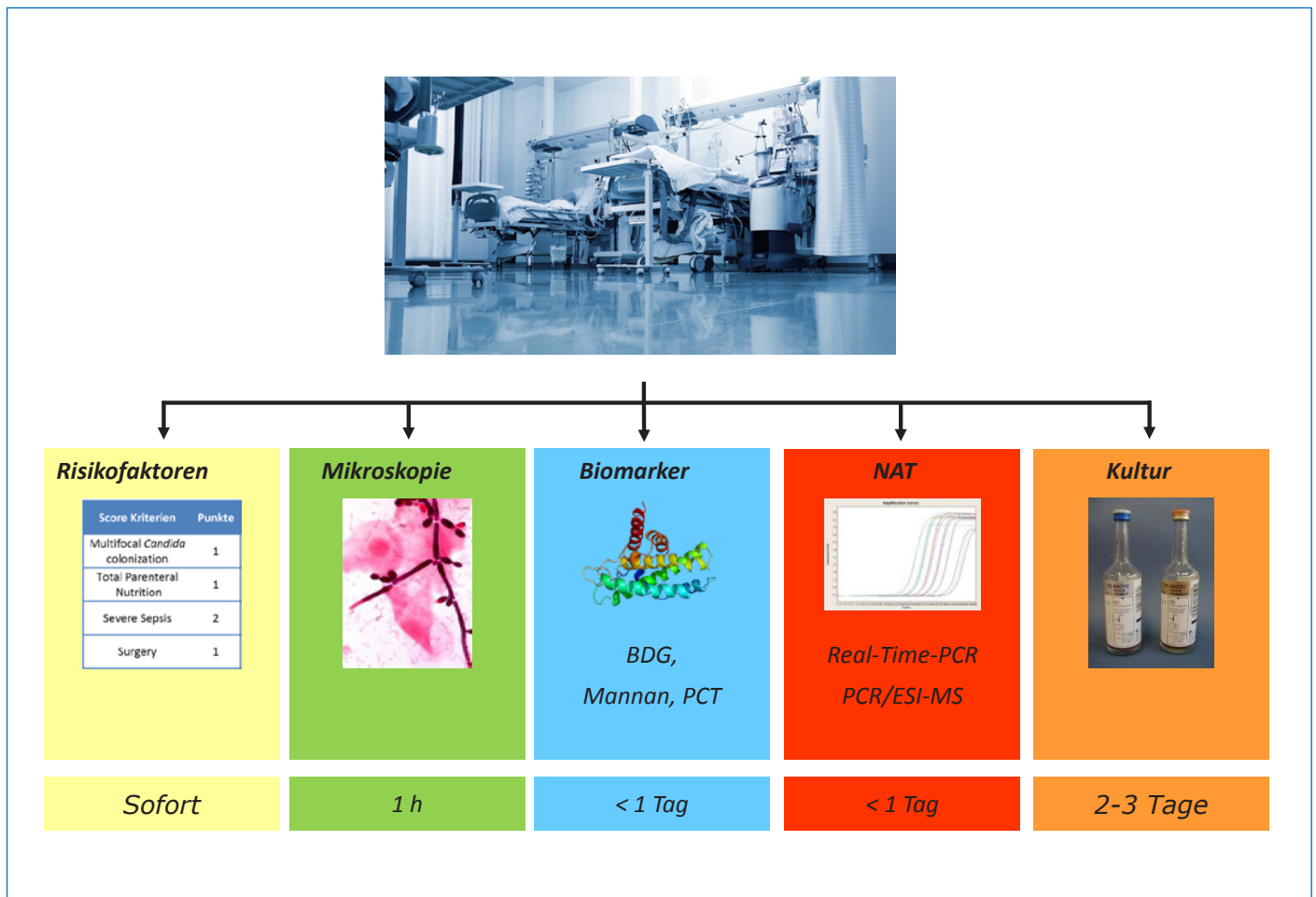


Abbildung 1: Verteilung von Candida-Spezies* in Abhängigkeit zu Grunderkrankungen/medizinischer Versorgung.^{6a}

Risikostratifizierung über Score-Systeme

Wie bereits besprochen existieren eine Reihe von Faktoren, die das Risiko, an einer invasiven Candida-Infektion zu erkranken, erhöhen (Tab. 1). Das einfachste System zur Identifizierung solcher Patienten ist der Candida-Kolonisations-Index (CCI). Mehrere Publikationen aus dem Bereich der Intensivmedizin konnten zeigen, dass eine invasive Candida-Infektion umso wahrscheinlicher ist, je mehr Körperregionen mit *Candida* spp. kolonisiert sind. Den Quotienten aus der Anzahl der Candida-kolonisierten Körperregionen und der Gesamtzahl der untersuchten Körperregionen bezeichnet man als Candida-Kolonisations-Index. Die Berechnung des Candida-Kolonisations-Index setzt voraus, dass regelmäßig verschiedene Körperregionen kulturell auf das Vorhandensein von *Candida* spp. überprüft werden (z. B. durch Rachenabstrich/respiratorische Materialien, Urin, Analabstrich). In einer Studie an 1107 Patienten auf chirurgischen und internistischen Intensivstationen sagte ein Candida-Kolonisations-Index $\geq 0,5$ eine systemische Candida-Infektion mit einer Sensitivität von 72% und einer Spezifität von 47% voraus.¹⁹ Der positiv-prädiktive Wert in dieser Studie lag bei nur 9% und man hätte 20,8 Patienten mit einem Candida-Kolonisations-Index $\geq 0,5$ behandeln müssen, um 1 invasive Candida-Infektion zu verhindern. Demgegenüber lag der negativ-prädiktive Wert bei 96%, d. h. Patienten mit einem Candida-Kolonisations-Index $< 0,5$ entwickeln nur äußerst selten eine invasive Candida-Infektion. Die Kolonisierung mit *Candida* spp. geht im Median einer systemischen Infektion um etwa 7 Tage voraus.²⁰

$$\text{Candida-Kolonisations-Index} = \frac{\text{Anzahl der kolonisierten Körperregionen}}{\text{Anzahl der untersuchten Körperregionen}}$$

Ein anderes System zur Risikostratifizierung ist der **Candida-Score**. Dieser berücksichtigt 4 Hauptrisikofaktoren für die invasive Candidose und vergibt Punkte: für eine Candida-Kolonisierung an ≥ 2 Körperregionen (1 Punkt), für die total parenterale Ernährung (1 Punkt), für einen vorausgegangenen chirurgischen Eingriff (1 Punkt) und für das Vorliegen einer schweren Sepsis (2 Punkte). Beträgt der Candida-Score ≥ 3 Punkte, so ist das Risiko für eine Candidämie 6-fach erhöht,

und diese wird mit einer Sensitivität von 81% detektiert. Die Spezifität liegt bei 74%, der positiv-prädiktive Wert bei 23% und der negativ-prädiktive Wert bei 99%.¹⁹ Der Candida-Score stellt zwar eine deutliche Verbesserung des Candida-Kolonisations-Index dar, jedoch zeichnet auch er sich durch einen schlechten positiv-prädiktiven Wert aus, d. h. ein Großteil der Patienten mit einem Candida-Score ≥ 3 Punkte entwickelt keine Candidämie.

Tabelle 2: Candida-Score nach León (2009). Ein Score von ≥ 3 korreliert mit dem Auftreten einer invasiven Candida-Infektion.

Multifokale Candida-Kolonisierung	1 Punkt
Total parenterale Ernährung	1 Punkt
Vorausgegangene Operation	1 Punkt
Schwere Sepsis	2 Punkt

Mikroskopie

Die direkte Mikroskopie des Probenmaterials stellt eine einfache, günstige und schnelle Möglichkeit zur Diagnose invasiver Mykosen dar. Verschiedene Färbemethoden kommen zum Einsatz. In der Histologie ist vor allem die Grocott-Methenamin-Silber-Färbung gebräuchlich, während in der Mikrobiologie v.a. die Gram-Färbung und die Fluoreszenzfärbung mit optischen Aufhellern (z.B. Calcofluor White) verwendet werden (siehe Abb. 3a, 3b).

Der mikroskopische Nachweis aus primär sterilen Proben (z.B. Organbiopsien) oder der Nachweis invasiv in das Gewebe einwachsender Pilzelemente ist beweisend für das Vorliegen einer invasiven Mykose. Die Ergebnisse der Mikroskopie sind teilweise die einzigen richtungsweisenden Befunde, wenn die kulturelle Anzucht, z. B. aufgrund bereits eingeleiteter Antimykotikatherapie, misslingt.

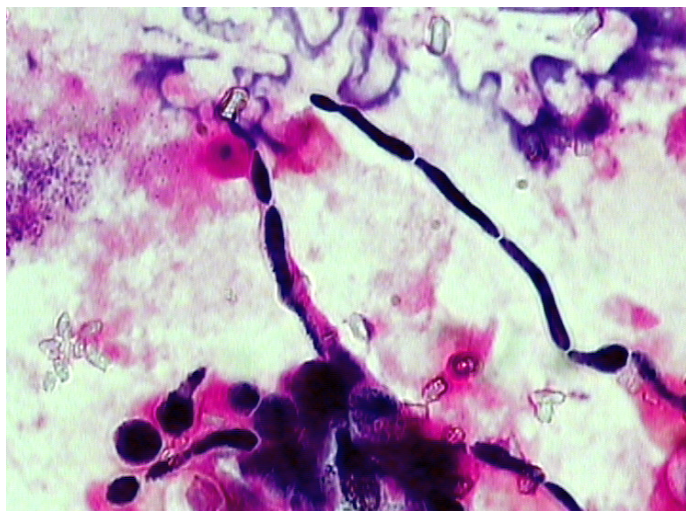


Abbildung 3a: Sprosspilze mit Pseudomyzelbildung im Gram-Präparat aus Glaskörperpunktat. Der Patient erkrankte nach Katarakt-OP an einer Candida-Endophthalmitis.

Ein großer Nachteil der Mikroskopie ist die geringe Sensitivität. In flüssigen Proben müssen ca. 10 000–100 000 Candida-Zellen pro ml Probe vorhanden sein, damit man sie mikroskopisch zuverlässig detektieren kann. Im Gegensatz dazu lassen sich unter optimalen kulturellen Bedingungen bereits 10–100 Candida-Zellen pro ml Probe nachweisen, d.h. die Kultur ist bis zu 1000-mal sensitiver als die Mikroskopie. Ein weiterer Nachteil ist die fehlende Möglichkeit zur Differenzierung der Sprosspilzzellen. Unter bestimmten Umständen können zwar einzelne *Candida* spp. ausgeschlossen werden (z.B. schließt die Bildung eines sogenannten Pseudomyzels *C. glabrata* aus), aber eine sichere Speziesbestimmung ist in der Direktmikroskopie nicht möglich.



Abbildung 3b: Nicht septierte Hyphen in der Calcofluor-White-Färbung aus Hirnabszesspunktat. Der Patient litt an einer zerebralen Zygomycose.

Die direkte Mikroskopie des Probenmaterials stellte eine einfache, günstige und schnelle Möglichkeit zur Diagnose invasiver Mykosen dar.

Der mikroskopische Nachweis aus primär sterilen Proben (z.B. Organbiopsien) oder der Nachweis invasiv in das Gewebe einwachsender Pilzelemente ist beweisend für das Vorliegen einer invasiven Mykose. Ein großer Nachteil der Mikroskopie ist die geringe Sensitivität. In flüssigen Proben müssen ca. 10 000–100 000 Candida-Zellen pro ml Probe vorhanden sein, damit man sie mikroskopisch zuverlässig detektieren kann. Trotzdem sollte die Direktmikroskopie fester Bestandteil jeder Untersuchung auf Pilze sein.

Serologische Nachweismethoden (PCT, Antigene und Antikörper)

Die meisten klinischen Materialien, die einfach zu gewinnen sind, z. B. respiratorische Proben, Urin, stammen aus Bereichen, die von *Candida* spp. kolonisiert sein können. Der kulturelle Nachweis von Sprosspilzen aus diesen Materialien bedeutet daher nicht, dass diese Patienten zwangsweise an einer invasiven Mykose leiden. Beispielsweise gibt es keine Korrelation zwischen dem Nachweis von *Candida* spp. in respiratorischen Materialien (z. B. Trachealsekret, BAL) und dem Vorliegen einer Candida-Pneumonie. Im Gegensatz zu Bakterien entsteht die Candida-Pneumonie meist hämatogen und nur äußerst selten absteigend aus den Atemwegen.²¹ Der Nachweis von Pilzbestandteilen im Serum oder von pilzspezifischen Antikörpern wäre hingegen ein Hinweis auf eine invasive Erkrankung bzw. die Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Erreger.

Eine Reihe von Studien hat die Eignung des **Procalcitonins (PCT)** zur Unterscheidung zwischen bakterieller Sepsis und Candida-Sepsis untersucht. Martini et al. (2010) beispielsweise untersuchten 48 Intensivpatienten mit schwerer Sepsis. Patienten mit einer Candidämie (n = 19) hatten im Median ein PCT von 0,71 ng/ml, während solche mit einer bakteriellen Sepsis (n = 29) ein PCT von 12,9 ng/ml hatten. Kein Candidämie-Patient hatte ein PCT über 2,1 ng/ml, und die Autoren schlugen daher einen Grenzwert von 2,0 ng/ml für die Unterscheidung zwischen bakterieller Sepsis und Candida-Sepsis vor.²² Eigene Untersuchungen konnten diese Daten jedoch nicht bestätigen.²³ Die retrospektive Analyse von 56 Patienten mit Candidämie zeigte, dass 55 % der Patienten ein PCT über 2,0 ng/ml hatten, und unserer Meinung nach besitzt das PCT nur einen eingeschränkten Nutzen für die Diagnose der Candidämie.²³

Spezifischer als das PCT sollte die Bestimmung von **Pilzantigenen** im Serum sein. Pilzantigene zirkulieren bei invasiven Mykosen im Blut und können dort nachgewiesen werden. Die in Deutschland am häufigsten verwendeten Candida-Antigene sind das **Cand-TEC-Antigen** (Cand-TEC-Test, Ramco, USA), das **Mannan** (Platelia Candida-Ag Plus-Assay, Bio-Rad, Frankreich) und das **(1→3)-β-D-Glucan** (Fungitell-Assay, Associates of Cape Cod, USA). Während das Cand-TEC-Antigen ein nur schlecht charakterisiertes Neoantigen ist, das offenbar bei der Interaktion von Leukozyten mit *Candida* spp. entsteht, sind das Mannan und das (1→3)-β-D-Glucan Hauptbestandteile der Candida-Zellwand. Im Gegensatz zu Mannan, welches Candida-spezifisch ist, kann man (1→3)-β-D-Glucan bei fast allen medizinisch-relevanten Pilzen, mit Ausnahme der Zygomyceten (z. B. *Mucor* spp., *Rhizopus* spp.), finden. (1→3)-

β-D-Glucan ist daher bei unterschiedlichen Mykosen, z. B. der invasiven Aspergillose oder der *Pneumocystis-jirovecii*-Pneumonie (PCP), erhöht.

In einer Fall-Kontroll-Studie an 56 Patienten mit Candidämie und 200 Kontrollpatienten lagen Sensitivität und Spezifität der (1→3)-β-D-Glucan-Bestimmung bei 87,5 % und 85,5 %, der Mannan-Bestimmung bei 58,9 % und 97,5 % sowie des Cand-TEC-Antigens bei 13,0 % und 93,9 %.²³ Mithilfe der (1→3)-β-D-Glucan-Bestimmung konnten daher beinahe 9 von 10 Candidämie-Patienten identifiziert werden. Allerdings war der Test auch bei 15 % der Patienten ohne Candidämie positiv. Wichtige Gründe für ein falsch-positives (1→3)-β-D-Glucan sind beispielsweise die Verabreichung von intravenösen Immunglobulinen oder Albumin und eine vorangegangene größere Operation.²³

Im Gegensatz dazu detektierte der Mannan-Test nur 6 von 10 Candidämie-Patienten. Aber ein positives Mannan war so gut wie immer beweisend für eine Candidämie, da es kaum falsch-positive Ergebnisse gab. Es existieren verschiedene Ursachen, die für die geringere Sensitivität der Mannan-Bestimmung verantwortlich sind. Zum einen wird zur Detektion des Mannans ein Enzymimmunoassay (EIA) verwendet, der den monoklonalen Anti-Mannan-Antikörper EB-CA1 verwendet. EB-CA1 wurde durch Immunisierung von Ratten mit *Candida-albicans*-Mannan gewonnen. Die Mannane der verschiedenen *Candida* spp. sind jedoch nicht vollständig identisch, und der EB-CA1-Antikörper ist beispielsweise nicht in der Lage, das Mannan von *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii* zu detektieren. Zum anderen produziert der Körper nach 1–2 Wochen **Anti-Mannan-Antikörper**. Diese Antikörper neutralisieren das Mannan, welches dann nicht mehr vom Test erkannt werden kann. Aus diesem Grund wird empfohlen, den Mannan-Nachweis immer mit der Bestimmung von Anti-Mannan-Antikörpern (Platelia Candida-Ab Plus-Assay, Bio-Rad, Frankreich) zu kombinieren. Die Sensitivität der alleinigen Anti-Mannan-Antikörper-Bestimmung bei der Candidämie liegt bei 62,5 %, aber in Kombination mit dem Mannan-Nachweis bei sehr guten 89,3 %. Die Sensitivität der Kombination ist damit sogar geringfügig höher als die der (1→3)-β-D-Glucan-Bestimmung (85,5 %).²³ Allerdings hat die Integration der Antikörperkomponente einen Nachteil: Die Anti-Mannan-Antikörper sind nach einer Infektion noch wochen- bis monatelang erhöht. Hatte sich das Immunsystem des Patienten bereits in der näheren Vergangenheit mit *Candida* spp. auseinandergesetzt, so sind die Anti-Mannan-Antikörper als Residuum der früheren Infektion noch erhöht,

unabhängig davon, ob aktuell eine invasive Candidose vorliegt oder nicht. Zudem können Anti-Mannan-Antikörper auch bei mukokutanen Infektionen oder Kolonisationen gebildet werden. Dies erklärt die schlechte Spezifität der Kombination aus Mannan und Anti-Mannan-Antikörpern von 63,0%.²³ Zu beachten ist weiterhin, dass immunsupprimierte Patienten eventuell weniger oder keine Antikörper bilden können und falsch-negative Ergebnisse daher ebenfalls vorkommen können.

Zusammenfassend ist (1→3)-β-D-Glucan der Biomarker der Wahl, wenn eine hohe Sensitivität gewünscht wird. Mannan hingegen ist zu bevorzugen, wenn möglichst wenige falsch-positive Patienten auftreten sollen. Das Cand-TEC-Antigen kann aufgrund seiner unzureichenden Sensitivität nicht für die Diagnostik invasiver Candidosen empfohlen werden. Die Kombination aus (1→3)-β-D-Glucan und Mannan war mit einer Sensitivität von 89,3% und 85,0% der Kombination aus Mannan und Anti-Mannan-Antikörper überlegen.²³

Candida spp. lassen sich ohne weitere Schwierigkeiten innerhalb von 1–3 Tagen mit hoher Sensitivität anzüchten. Voraussetzung ist, dass vor der Probenahme kein Antimykotikum verabreicht wurde. Von der Kultur gelingt eine Differenzierung mittels Massenspektroskopie in weniger als einer Minute. Nur mithilfe der Kultur kann eine zuverlässige Resistenztestung durchgeführt werden.

Ein entscheidender Nachteil der kulturellen Diagnostik ist die zeitliche Verzögerung von 2–3 Tagen, die bis zum Nachweis der Erreger vergeht.

Trotzdem stellt die Kultur, unabhängig vom Probenmaterial, eines der wichtigsten diagnostischen Verfahren dar und gilt zum Nachweis einer Candidämie immer noch als Goldstandard. Zur Steigerung der Sensitivität sollten mindestens zwei, besser drei separate Blutkulturpaare abgenommen werden.

Interessanterweise scheint es, dass die Bestimmung von Pilzantigenen im Verlauf auch zur Überprüfung des Therapieerfolgs und zur Identifizierung von Rezidivinfektionen herangezogen werden kann.

Ein weiterer großer Vorteil der Bestimmung von Pilzantigen ist, dass die Durchführung der Tests lediglich ca. 2 Stunden in Anspruch nimmt. Unter optimalen Bedingungen könnte deren Ergebnis also zur initialen Therapieentscheidung beitragen. Allerdings muss zu den 2 Stunden der Testdurchführung noch die Transportzeit addiert werden und es ist zu berücksichtigen, dass die meisten Labore die Tests nicht täglich durchführen. Aus diesem Grund ist das Ergebnis in der Realität meist erst innerhalb von 1–2 Tagen verfügbar.

Der alleinige Nachweis von Candida-Antigenen und Antikörpern ist nicht beweisend für eine invasive Candidose, und die Ergebnisse müssen immer in Kombination mit der Klinik und den weiteren Testergebnissen bewertet werden.

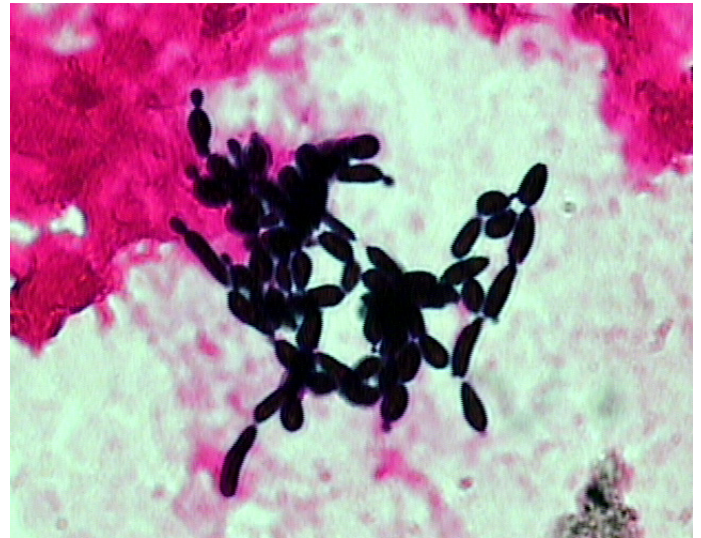


Abbildung 4: Candida-Zellen aus der Blutkultur eines Patienten mit Candidämie. Gram-Präparat, 1000 fache Vergrößerung.

Zusammenfassung

Die Diagnose einer invasiven Candida-Infektion beruht auf der Synopse von Risikofaktoren, klinischer Symptomatik sowie radiologischer und mikrobiologischer Untersuchungsergebnisse. Die mikrobiologische Diagnostik ist zwar nur ein Teil des diagnostischen Puzzles, macht aber den Unterschied zwischen einer wahrscheinlichen und einer gesicherten Diagnose aus. Letztere setzt den Nachweis des Pilzerregers in einer primär sterilen Körperflüssigkeit (Ausnahme Urin) oder der Gewebeanvasion des Pilzerregers am Ort einer Entzündung voraus. Dieser hohe Grad der Diagnosesicherheit ist aber im klinischen Alltag oft nicht erreichbar.

Verschiedene Methoden für die Diagnose einer Candida-Infektion stehen zur Verfügung, wobei keine – alleine angewendet – perfekt ist. Es gibt Score-Systeme zur Risikoabschätzung und

verschiedene Labormethoden, um den Erreger oder seine Bestandteile nachzuweisen. Zu diesen gehören die direkte Mikroskopie, die Immunserologie (Antigen- und Antikörpernachweis), Nukleinsäureamplifikationstechniken und die Kultur. Die direkte Mikroskopie und die Kultur sollten immer Bestandteil der Diagnostik sein. Diese Basisdiagnostik kann bei Verdacht auf Candidämie durch Antigen- und Antikörperuntersuchungen ergänzt werden. Nukleinsäureamplifikationstechniken (z. B. PCR) werden zwar offiziell nicht empfohlen, können aber aufgrund ihrer hohen Spezifität und der Möglichkeit, die Erreger auch unter antimykotischer Therapie nachzuweisen, von großem Vorteil sein.

Tabelle 3 fasst die Indikationen der verschiedenen diagnostischen Methoden nochmals zusammen.

Tabelle 3: Empfehlungen der Europäischen Gesellschaft für Klinische Mikrobiologie und Infektiologie (ESCMID) zur Diagnostik von Candida-Infektionen.³²

Krankheit	Proben	Test	Empfehlung	Evidenzgrad
Candidämie	Blut	Blutkultur	essenzielle Untersuchung	NA
	Serum/Plasma	(1→3)-β-D-Glucan	empfohlen	II
		Mannan/Anti-Mannan-AK	empfohlen	II
		andere Candida-Antikörper	keine Empfehlung	keine Daten
		SeptiFast-PCR-Kit	keine Empfehlung	keine Daten
		„In-house“-PCR	keine Empfehlun	keine Daten
Fokal invasive Candidose	Blut	Blutkultur	essenzielle Untersuchung	NA
	Serum	(1→3)-β-D-Glucan	empfohlen	II
		Mannan/Anti-Mannan-AK	keine Empfehlung	keine Daten
		SeptiFast-PCR-Kit	keine Empfehlung	keine Daten
		„In-house“-PCR	keine Empfehlung	keine Daten
	Gewebe und sterile Körperflüssigkeiten	direkte Mikroskopie und Histopathologie Kultur	essenzielle Untersuchung	NA
		Immunhistochemie	essenzielle Untersuchung	NA
		„In-house“-PCR	keine Empfehlung	keine Daten
		In-situ-Hybridisierung	keine Empfehlung	keine Daten

NA = nicht anwendbar

Fazit

Das Ziel der Diagnostik invasiver Candida-Infektionen ist klar: durch möglichst wenig invasive Testverfahren mit hoher Sensitivität und Spezifität entweder eine frühzeitige spezifische Therapie zu initiieren und damit die Prognose des Patienten zu verbessern oder ihm eine unnötige Behandlung zu ersparen.⁹

Kein einzelnes diagnostisches Verfahren erfüllt alle diese Voraussetzungen. Durch einen sinnvollen kombinierten Einsatz der verfügbaren Methoden kann man dem geforderten Ziel jedoch nahe kommen.

Korrespondenz

Dr. med. Jürgen Held (Dipl. Biochem.)
Oberarzt
Universitätsklinikum Erlangen
Mikrobiologisches Institut
Wasserturmstraße 3/5
91054 Erlangen
Tel: +49-(0)9131-85-22845
Fax: +49-(0)9131-85-22117
Juergen.held@uk-erlangen.de
<http://www.mikrobiologie.uk-erlangen.de/>



Literatur

1. Vincent JL, Rello J, Marshall J et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302(21):2323–9
2. Morace G, Borghi E. Fungal infections in ICU patients: epidemiology and the role of diagnostics. *Minerva Anestesiol* 2010;76(11):950–6
3. Concia E, Azzini AM, Conti M. Epidemiology, incidence and risk factors for invasive candidiasis in high-risk patients. *Drugs* 2009;69(Suppl 1):5–14
4. Glöckner A, Cornely OA. [Invasive candidiasis in non-neutropenic adults: Guideline-based management in the intensive care unit]. *Anaesthesist* 2013;62(12):1003–9
5. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med* 2015;373(15):1445–56
6. Ruhnke M, Rickerts V, Cornely OA et al. Diagnosis and therapy of Candida infections: joint recommendations of the German Speaking Mycological Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. *Mycoses* 2011;54(4):279–310
- 6a. Bassetti M. Management of invasive fungal infections in ICU. 20. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2010, Wien, Österreich, Satelliten-Symposium Pfizer "For new Consultants"
7. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H et al. 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* 2004;23(4):317–22
8. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007;20(1):133–63
9. Lichtenstern C, Swoboda S, Hirschburger M et al. [Update: invasive fungal infections: Diagnosis and treatment in surgical intensive care medicine]. *Anaesthesist* 2010;59(1):30–52
10. Oude Lashof AM, Rothova A, Sobel JD et al. Ocular manifestations of candidemia. *Clin Infect Dis* 2011;53(3):262–8
11. Blennow O, Tallstedt L, Hedquist B et al. Duration of treatment for candidemia and risk for late-onset ocular candidiasis. *Infection* 2013;41(1):129–34
12. Thorn JL, Gilchrist KB, Sobonya RE et al. Postmortem candidaemia: marker of disseminated disease. *J Clin Pathol* 2010;63(4):337–40
13. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence* 2014;5(1):161–9
14. León C, Ostrosky-Zeichner L, Schuster M. What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2014;40(6):808–19
15. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(9):3640–5
16. Guery BP, Arendrup MC, Auzinger G et al. Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive Care Med* 2009;35(1):55–62
17. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). *Crit Care Med* 2009;37(5):1612–8
18. Falagas ME, Apostolou KE, Pappas VD. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006;25(7):419–25
19. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P et al. Usefulness of the "Candida score" for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Crit Care Med* 2009;37(5):1624–33
20. Lau AF, Kabir M, Chen SC et al. Candida colonization as a risk marker for invasive candidiasis in mixed medical-surgical intensive care units: development and evaluation of a simple, standard protocol. *J Clin Microbiol* 2015;53(4):1324–30
21. Meersseman W, Lagrou K, Spriet I et al. Significance of the isolation of Candida species from airway samples in critically ill patients: a prospective, autopsy study. *Intensive Care Med* 2009;35(9):1526–31
22. Martini A, Gottin L, Menestrina N et al. Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J Infect* 2010;60(6):425–30
23. Held J, Kohlberger I, Rappold E et al. Comparison of (1->3)-beta-D-glucan, mannan/anti-mannan antibodies, and Cand-Tec Candida antigen as serum biomarkers for candidemia. *J Clin Microbiol* 2013;51(4):1158–64
- 23a. Buchman TG, Rossier M, Merz WG, Charache P. Detection of surgical pathogens by in vitro DNA amplification. Part I. Rapid identification of Candida albicans by in vitro amplification of a fungus-specific gene. *Surgery* 1990;108:338–46.
24. Calandra T, Roberts JA, Antonelli M et al. Diagnosis and management of invasive candidiasis in the ICU: an updated approach to an old enemy. *Crit Care* 2016;20(1):125

25. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - a systemic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013;8(5):e62323
26. Pfaller MA, Wolk DM, Lowery TJ. T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future Microbiol* 2016;11(1):103–17
27. Jordana-Lluch E, Giménez M, Quesada MD et al. Evaluation of the Broad-Range PCR/ESI-MS Technology in Blood Specimens for the Molecular Diagnosis of Bloodstream Infections. *PLoS One* 2015;10(10):e0140865
28. Eggimann P, Bille J, Marchetti O. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care* 2011;1:37
29. Horvath LL, George BJ, Hospenthal DR. Detection of fifteen species of *Candida* in an automated blood culture system. *J Clin Microbiol* 2007;45(9):3062–4
30. Raad I, Hanna HA, Alakech B et al. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann Intern Med* 2004;140(1):18–25
31. Ben-Ami R, Weinberger M, Orni-Wasserlauff R et al. Time to blood culture positivity as a marker for catheter-related candidemia. *J Clin Microbiol* 2008;46(7):2222–6
32. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC et al. ESC-MID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl 7):9–18